

Obtención y aplicación de PRFC en los procesos osteoarticulares y musculoesqueléticos

Estudio clínico con factores de crecimiento (y III)

La aplicación de factores de crecimiento conlleva numerosos beneficios, tal y como demuestra la experiencia clínica, tanto en el campo de la medicina humana como veterinaria. Para concluir el monográfico, en esta tercera entrega, se comentan algunos de los casos clínicos más relevantes del autor y se describe la preparación y aplicación del plasma rico en factores de crecimiento.

En los números anteriores de Argos se describieron los principales factores de crecimiento (FC) y su mecanismo de acción en la reparación de los tejidos (nº 87, abril 2007), y la bioquímica y el funcionamiento biológico de los FC, aspectos básicos para comprender su efecto clínico terapéutico tras su aplicación en lesiones de origen osteoarticular y musculoesquelético (nº 88, mayo 2007).

En esta última parte se dan las pautas para la preparación y aplicación del plasma rico en factores de crecimiento (PRFC), y se comentan algunos de los casos clínicos más destacados de los 80 pacientes a los que el autor ha aplicado este tratamiento.

Preparación del PRFC

La extracción de sangre del paciente se efectúa por punción venosa. Si el paciente se va a someter a una operación, debe llevarse a cabo antes de la sedación y/o la anestesia. El volumen de sangre se adaptará a las necesidades de cada caso.

La sangre se coloca en tubos con citrato sódico al 3,8% como anticoagulante. El plasma se separa mediante centrifugación a 1.800 rpm, durante ocho minutos (PRFC System III, BTT, Vitoria). Tras la centrifugación, el volumen de plasma por tubo de 4,5 ml que se obtiene será de unos 2 ml, cuando el hematocrito este dentro de los parámetros normales.

La fracción plasmática de 0,5 ml situada inmediatamente por encima de la serie roja y la serie blanca es lo que denominamos PRFC. Se trata de una porción de plasma con un alto contenido en plaquetas, unas tres veces el número de plaquetas presentes en la sangre periférica. Estas plaquetas se caracterizan por tener una mayor densidad comparándolas con las de las otras fracciones que por el centrifugado quedan más abajo. Esta mayor densidad se debe a que son plaquetas jóvenes, llevan pocos días en el torrente sanguíneo y no han sufrido desgaste ni activación.

La fracción plasmática de 0,5 ml situada inmediatamente por encima de la serie roja y la serie blanca es lo que denominamos PRFC.

La concentración de factores de crecimiento en estas plaquetas es significativamente superior al resto de las plaquetas de las otras fracciones plasmáticas. Por esta razón este plasma es muy rico en factores de crecimiento.

Para activar estas plaquetas y coagular el fibrinógeno se añaden 50 µl de cloruro cálcico por cada ml de plasma. Al añadir el cloruro cálcico el plasma inicia un proceso dinámico de coagulación, que finaliza con la retracción del coágulo. En este coágulo de fibrina están los factores de crecimiento plaquetarios.

Se puede controlar el proceso in vitro para su posterior aplicación, o bien in situ, aplicando el plasma en fase líquida para que coagule en el lugar de la lesión.

Desarrollo de las fichas clínicas de los casos estudiados

Hemos querido describir alguno de los casos tratados para que se pueda valorar dónde, cómo y por qué hemos aplicado esta terapia.

De los resultados obtenidos se desprende que en ningún caso el beneficio

ha sido nulo y que en la mayoría de los casos el resultado ha sido muy satisfactorio a corto y largo plazo.

Es una terapia que podemos repetir periódicamente y que, posiblemente, cuando finalicen las investigaciones en las que se está trabajando se podrá potenciar su aplicación. En la actualidad estamos aprovechando un tanto por ciento ínfimo de las posibilidades del plasma rico en proteínas. El futuro está en conocer qué es lo que tenemos, obtenerlo, transformarlo y reapplicarlo.

Caso clínico 1: "Floc"

Se trata de un perro de raza Samoyedo, nacido en 1990, macho. Durante su vida ha presentado constantemente problemas en la articulación de la cadera. Nace con una displasia severa que obliga a realizarle una pectinectomía y un *forage* bilateral a los siete meses de edad. A los seis años se le repite el *forage* para descomprimir y aligerar la articulación.

En 2003, se le realiza de nuevo un *forage* bilateral, una limpieza articular por vía artroscópica y se le aplican factores de crecimiento.

La evolución del animal fue muy positiva adquiriendo rápidamente una muy buena funcionalidad y pérdida de la sensación de dolor.

En 2004 se eutanasió a consecuencia de problemas graves de incontinencia y continuas infecciones urinarias.

La necropsia autorizada de las cabezas de fémur, nos mostraron con sorpresa cuál era el estado de las superficies de las mismas, ya que pudimos observar el recubrimiento de los procesos condrales en su totalidad. Esta era la causa por la cual la funcionalidad era perfecta e indolora.

Este tejido de recubrimiento no es radiopaco por lo que radiológicamente no se puede valorar perfectamente la restitución o recubrimiento de los defectos condrales. Desde el principio, hemos defendido la teoría de que lo que se produce con la aplicación de PRFC es un efecto similar al de enyesado de una pared.

Caso clínico 2: "Guppy"

Perro macho de raza Chow-Chow, nacido en 1991. En 2003 sufrió una fractura de mandíbula y, dada la edad del animal y la complejidad de la fractura, decidimos corregirla empleando un fijador externo de OMS y la aplicación de factores de crecimiento.

Los resultados fueron muy buenos en cuanto a la rapidez de la osteogénesis de la fractura, consiguiendo una osificación total a las seis semanas.

Caso clínico 3: "Laika"

Perra Pastor Alemán nacida en 1990. En 2002 presenta claudicación y problemas funcionales del tercio posterior, un proceso degenerativo articular y cauda equina. El animal muestra ligeros problemas en la deambulación, dolor e inflamación de la zona. Se mantiene a "Laika" con vitaminas y antiinflamatorios.

En 2003 se le realiza una limpieza articular por vía artroscópica, *forage* bilateral y aplicación de factores de crecimiento. Desaparece al sensación de dolor y la funcionalidad del animal mejora ostensiblemente, desapareciendo los déficit de propiocepción que dificultaban la deambulación del animal.

El animal fue eutanasiado a causa de la incontinencia urinaria en 2004. Hasta este momento la funcionalidad y movimiento del animal fueron muy buenos.

Caso clínico 4: "Fosca"

Perro Boyero de Flandes nacido en 1990, hembra. Presentaba una pseudoartritis aséptica en la zona de las falanges de la extremidad posterior derecha, a consecuencia de un accidente. Mostraba una úlcera de apoyo por rozamiento de la ortesis. Se le aplicaron factores de crecimiento y el resultado fue la cicatrización de la úlcera y desaparición del proceso inflamatorio.

Caso clínico 5: "Drac"

Perro cruce de Pastor Alemán nacido en 1994, macho. En 2004 acude a consulta ▶

Protocolo de extracción-activación del PRFC

Material Necesario

- Sangre venosa no bemolizada ni coagulada.
- Tubos de citrato estériles de 4 ml.
- Tubos de suero estériles (sin ningún acelerador de la coagulación, es decir vacíos).
- Micropipetas de 1.000 y 200 µl.
- Puntas de micropipetas estériles o que se puedan esterilizar en autoclave.
- Cloruro cálcico al 10%.

Protocolo

- Volumen sanguíneo extraído:
 - Peso < 10 kg: 1 tubo (4 ml).
 - Peso 10-20 kg: 2 tubos (8 ml).
 - Peso > 20 kg: 3 tubos (12 ml).
- La sangre será extraída inmediatamente antes de la aplicación del PRFC.
- Se centrifuga a una velocidad de 1.800 rpm durante 8 minutos.
- Por cada tubo sanguíneo dispondremos de dos tubos de suero estériles, en el primero depositaremos las tres primeras fracciones de plasma y en el segundo la cuarta fracción (plasma rico en plaquetas). Importante no coger la fase blanca. Recomendamos emplear la micropipeta de 1.000 µl para las dos primeras fracciones y la de 200 µl para la tercera y cuarta.
 - Los volúmenes por fracción son:
 - 1ª fracción: 600 µl
 - 2ª fracción: 600 µl
 - 3ª fracción: 400 µl
 - 4ª fracción: 400 µl
 - Una vez tengamos la 4ª fracción extraída en el tubo y justo antes de la aplicación, se procede a la activación del PRFC añadiendo 20 µl de cloruro cálcico por cada 400 µl de plasma rico en plaquetas.

Volúmenes a infiltrar*

Volúmenes (ml)	0-10 kg	10-20 kg	20-40 kg	> 40 kg
Rodilla	0,5	1	1,5	2
Hombro	0,5	1	1,5	2
Cadera	0,5	1	1,5	2
Codo	0,3	0,5	0,7	1
Carpometacarpiano	0,2	0,3	0,5	0,7

*Estos valores son siempre aproximados, pero nos sirven para establecer un criterio de mínimos al establecer el tratamiento. La presión en el momento de la aplicación sirve para valorar la cantidad a introducir.

► por claudicación e incluso déficit de propiocepción del tercio posterior. Radiológicamente muestra una ligera degeneración de las cabezas femorales, así como espón-dilo-artrosis lumbar. El diagnóstico mediante análisis del líquido sinovial es de proceso inflamatorio degenerativo.

Se decide aplicar factores de crecimiento, obteniéndose en la tercera aplicación una mejora sustancial en la marcha y la desaparición del dolor. El animal sigue bien en las posteriores revisiones.

Caso clínico 6: "Key"

Perro Boxer nacido en 1994, hembra. "Key" ha sido operada de dos exostosis proliferativas en ambas extremidades anteriores: falanges en la derecha y el cúbito distal en la izquierda.

En 2001 cojea y "puntea" con la extremidad posterior. El análisis del líquido sinovial indica la presencia de un proceso inflamatorio degenerativo. Se efectúa una limpieza articular mediante artroscopia y se aplica ácido hialurónico. El resultado es

bueno, la paciente únicamente presenta una ligera cojera en frío.

Cuatro meses después, el animal muestra dolor a la flexión y extensión. Radiológicamente podemos observar una degeneración, confirmada mediante análisis del líquido sinovial como artropatía degenerativa. Se procede a realizar una limpieza articular mediante artroscopia: afeitado de la sinovial, *forage* y aplicación de factores de crecimiento. Los resultados son buenos, con disminución del dolor y una funcionalidad correcta. En el último control llevado a cabo en 2003, la paciente seguía bien.

Caso clínico 7: "Kay"

Perro mestizo hembra de gran tamaño, nacido en 1993. "Kay" se operó de ligamentos cruzados en 1999, posteriormente se le rompió el implante y se sustituyó por uno de OMS. En 2001 presenta cojera de la extremidad operada. Mediante radiografía se observa una osteoartritis degenerativa, por lo que se procede a efectuar una artroscopia de limpieza con afeitado articular: limpieza artroscópica de la articulación derecha y limpieza y sustitución, por rotura parcial, del ligamento cruzado de la rodilla izquierda. Se aplican también factores de crecimiento. Los resultados indican una buena funcionalidad y una evolución con desaparición del dolor y la inestabilidad. En la última revisión efectuada en 2004 "Kay" seguía bien.

reducción de la misma se aplican factores de crecimiento con buen resultado. "Nina" sigue bien transcurridos seis meses.

Caso clínico 12: "Vito"

Perro Golden Retriever, macho, nacido en 1997. Cojea ostensiblemente de la pata posterior derecha. Padece artrosis tarsal a consecuencia de una reducción antigua de una luxación del tarso. Recomendamos una artrodiastasis a fin de reducir el rozamiento articular y aumentar la congruencia articular.

En 2005 se efectúa una limpieza articular vía artroscópica y artrodiastasis con fijador OMS. Se aplican factores de crecimiento. A las seis semanas retiramos el fijador con buenos resultados, el apoyo es continuo y no manifiesta inflamación ni dolor. "Vito" sigue bien a los seis meses.

Conclusiones

En los ochenta casos tratados hemos podido comprobar que los resultados obtenidos han sido muy satisfactorios, produciéndose en todos un triple efecto que hemos podido observar clínicamente desde el principio:

- analgésico,
- reconstructor o reparador
- y funcional

La acción de los factores produce una remodelación o enyesado en la zona afectada, lo que produce un rozamiento ade-

De los resultados obtenidos se desprende que en ningún caso el beneficio ha sido nulo y en la mayoría de los casos el resultado ha sido muy satisfactorio a corto y largo plazo.

Caso clínico 8: "Etna"

Perra Boxer nacida en 2000. En 2003 acude a consulta con una cojera de la extremidad posterior izquierda. Tras análisis radiológico se diagnostica un proceso degenerativo en la articulación de la rodilla. Presenta inestabilidad y cajón positivo. Se procede a la limpieza articular por artroscopia y a la sustitución del ligamento cruzado por un ligamento OMS, mediante técnica HTH. Se aplican factores de crecimiento con resultados satisfactorios. En la revisión de septiembre de 2004 se aprecia el enyesado radiológico.

Caso clínico 9: "Boss"

Perro Pastor Alemán, nacido en 1996, macho. En 1997 se le realizó un *forage* bilateral en la cadera ya que presentaba una ligera artrosis posiblemente por una displasia. En 2004 presenta cojera bilateral del tercio posterior. A la inspección radiológica muestra artrosis grave degenerativa por lo que se plantea una limpieza articular y *forage* bilateral. Se realiza la intervención y se procede a la aplicación de factores de crecimiento con un buen resultado. Desaparece la cojera y no hay dolor en las revisiones a los cuatro meses y al año.

Caso clínico 10: "Kina"

Perro Drahthaar, nacido en 1992, hembra. "Kina" fue sometida a una limpieza articular y *forage* en 2003. En octubre de 2005 aparece un proceso artrósico grave con periostitis e inflamación en la articulación carpo-radio-carpal derecha. Se efectúa un tratamiento con factores de crecimiento. En las revisiones periódicas posteriores no se observa dolor ni inflamación, y la perra muestra una buena funcionalidad.

Caso clínico 11: "Nina"

Perro Caniche, nacido en 2001, hembra. En diciembre de 2004 sufre una luxación traumática de la cabeza femoral. Tras la

cuado y una recuperación del compromiso articular y de la congruencia perdida.

Se ha visto que los resultados son a largo y corto plazo. Esto es importante ya que prácticamente de una forma inmediata a su aplicación empiezan a recuperar la funcionalidad y desaparece el dolor. En las figuras 4 y 5 podemos observar lo que ocurre de una forma macroscópica en una articulación. A pesar de que la imagen radiológica es de irregularidad articular, en la imagen macroscópica de la muestra anatómica se puede apreciar una esfera perfecta, lisa y remodelada, lo que hace evidente la buena funcionalidad del animal y la recuperación de la misma.

Coincide en muchos de los casos tratados se ha realizado una limpieza articular vía artroscópica y que hemos favorecido el proceso de remodelación, aplicando la técnica del *forage*, pero en los casos no operados los resultados han sido similares.

Los estudios biomecánicos, citobiológicos y experimentales que se están llevando a cabo esclarecerán la realidad biológica y biomecánica de los factores de crecimiento, en su labor de reestructurar reconstruir y/o regenerar los defectos del cartilago articular.

En esta presentación queremos sólo plasmar lo que es evidente: los resultados clínicos obtenidos a diario en estos últimos cuatro años. □

Bibliografía disponible en www.asisvet.com/bibliografias/factorescrecimiento89.com

Alexandre Tarragó
Veterinario
Clínica Veterinaria Sagrada Familia-CVSF
Instituto Veterinario de Ortopedia y Traumatología-IVOT
www.traumatologia-veterinaria.com
www.ivot.net
Imágenes cedidas por el autor

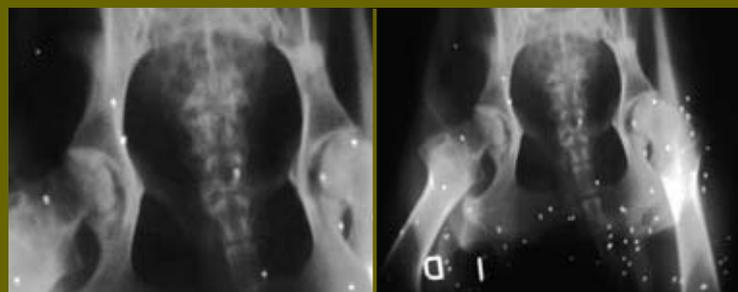


Figura 1. Imágenes radiológicas correspondientes al caso clínico 10 "Kina" (artrosis grave de cadera) antes de la aplicación de factores de crecimiento.

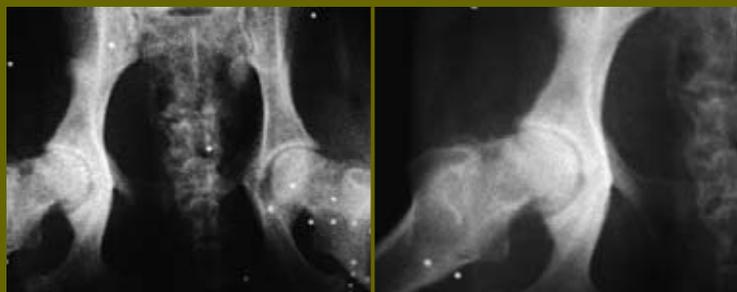


Figura 2. Imágenes radiológicas correspondientes al caso clínico 10 "Kina" tomadas al año de la aplicación de los factores.



Figura 3. Imágenes radiológicas correspondientes al caso clínico 11 "Nina" o 1 "Flo" (displasia grave) tomadas antes de la aplicación de los factores de crecimiento (a), al año de la aplicación (b) y transcurridos dos años (c).

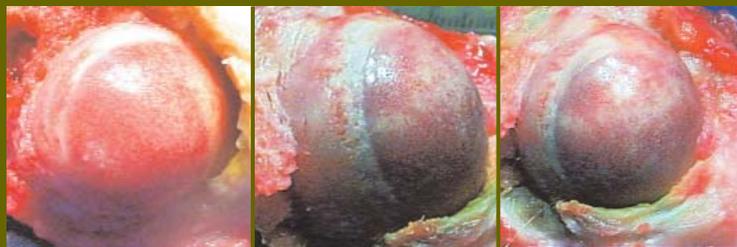


Figura 4. Muestras anatómicas correspondientes al caso clínico 10 "Kina".



Figura 5. Muestras anatómicas correspondientes al caso clínico 11 "Nina" o 1 "Flo". Tanto en el caso clínico 10 como en el 11/1, las muestras presentan un aspecto uniforme liso y esférico de las cabezas femorales, dichas piezas anatómicas están actualmente en estudio anatómopatológico y estudio exhaustivo de imagen por radiografía de alta definición y RMN.