

## Artículo original

## Estudio comparativo en modelo animal con ruptura aguda de tendón calcáneo con tratamiento quirúrgico aplicando plasma rico en plaquetas

Hernández-Martínez JC,\* Vásquez-CR,\*\* Ceja-CB,\* Fuentes-CCE,\*\*\* Sesma-JF,\*\*\*\* Benítez-AG\*\*\*\*\*

Hospital General «Eduardo Vázquez Navarro» SSA Puebla, México

**RESUMEN.** *Objetivo:* Comparar la evolución funcional e histológica entre 2 grupos de modelo animal con rupturas agudas del tendón calcáneo con el uso de plasma rico en plaquetas. *Material y métodos:* Se realizó ensayo clínico abierto en perros donados por el Bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP), divididos en 2 grupos, un grupo control y un grupo problema, a los cuales se les realizó ruptura quirúrgica intencional del tendón calcáneo; se utilizó para reparación del tendón técnica de Krackow y se aplicó al grupo control plasma rico en plaquetas (PRP) en forma de coágulo, al otro no. Se valoraron a las 4 semanas para observar funcionalidad, utilizándose escala de valoración del grado de cojera de Farell y Schwarz. A las 5 semanas se sacrificaron, se obtuvieron los tendones y se enviaron a su estudio histopatológico. *Resultados:* La funcionalidad según escala de Farell y Schwarz, se encontró para el grupo problema en un grado I y II y el grupo control en un grado IV y V. Histológicamente el grupo problema mostró proliferación vascular moderada y fibroblástica abundante. El grupo testigo mostró proliferación vascular de leve a moderada y fibroblástica moderada. *Conclusiones:* El PRP mejora la cicatrización tendinosa y esto repercute en la recuperación funcional.

**Palabras clave:** calcáneo, tendón, ruptura, plaquetas, plasma, modelo animal.

**ABSTRACT.** *Objective:* To compare the functional and histological course of two animal model groups with acute Achilles tendon tears using platelet rich plasma. *Material and methods:* An open clinical trial was conducted with dogs donated by the animal facility of the Autonomous University of Puebla (BUAP, for its acronym in Spanish). Dogs were divided into 2 groups: a control group and a problem group. Intentional surgical Achilles tendon tear was performed to them. The Krackow technique was used to repair the tendon and the control group received platelet rich plasma (PRP) as a clot; the other group did not receive PRP. The dogs were seen at 4 weeks to check functionality using the Farell and Schwarz scale to assess the degree of limping. They were sacrificed at week 5; the tendons were removed and sent to the histopathology lab. *Results:* Functionality results according to the Farell and Schwarz scale showed grades I and II in the problem group, and grades IV and V in the control group. Histologically, the problem group showed moderate vascular proliferation and abundant fibroblastic proliferation. The control group had mild to moderate vascular proliferation and moderate fibroblastic proliferation. *Conclusions:* PRP improves tendon healing and this has repercussions on functional recovery.

**Key words:** calcaneous, tendon, rupture, platelet, plasma, animal model.

### Nivel de evidencia: IV (Act Ortop Mex, 2012)

\* Médico residente de 4to. año. Traumatología y Ortopedia, Hospital General «Eduardo Vázquez Navarro» SSA Puebla, México.

\*\* Médico adscrito. Traumatología y Ortopedia, Hospital General «Eduardo Vázquez Navarro» SSA Puebla, México.

\*\*\* Médico residente de 3er. año. Traumatología y Ortopedia, Hospital General «Eduardo Vázquez Navarro» SSA Puebla, México.

\*\*\*\* Médico residente de 2do. año. Traumatología y Ortopedia, Hospital Universitario «Clementino Fraga Filho», Río de Janeiro Brasil.

\*\*\*\*\* Médico adscrito. Banco de Sangre, IMSS Centro Médico «La Raza» México, D.F.

Dirección para correspondencia:

Dr. Juan Carlos Hernández Martínez

Calle Río Lerma Manzana 331 Lote 1 Colonia La Presita Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, México.

E-mail: jcarlosmtez@hotmail.com

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medigraphic.com/actaortopedica>

## Introducción

Los factores de crecimiento (FC) son mediadores biológicos naturales que intervienen en la regeneración y la reparación de todos los tejidos. Estos polipéptidos regulan diversos fenómenos celulares como la síntesis de ADN, la quimiotaxis, la diferenciación celular, la síntesis de matriz extracelular y generan angiogénesis estimulando además, la síntesis y diferenciación de las células precursoras, provocando mitogenia y regulando la formación y liberación de los factores de crecimiento de otras formas celulares.<sup>1</sup>

En resumen se puede decir que estas moléculas son iniciadoras universales de todo proceso cicatrizal (Marx, 1996).<sup>1</sup>

Los factores de crecimiento se han utilizado frecuentemente con excelentes resultados en diversos campos como la odontología, traumatología y cirugía maxilofacial cuando se ha intentado encontrar un material biológico que sirviera para modelar los injertos óseos.<sup>1</sup>

Las plaquetas son portadoras de ciertos tipos de proteínas, que en respuesta a determinados estímulos, son liberadas actuando como señalizadores de específicas funciones biológicas fundamentales.<sup>2</sup>

El plasma rico en plaquetas (PRP) es una preparación autóloga, atóxica y no inmunógena; por lo tanto, no transmite enfermedades o causa reacciones inmunogenéticas. Fue descrito en 1989 por Lynch como un producto derivado de la sangre, rico en FC originarios de los gránulos alfa plaquetarios. Posteriormente recibió varios nombres como plasma autógeno rico en plaquetas, plasma enriquecido en plaquetas, plasma rico en factores de crecimiento, gel de plaquetas, etcétera, que al unirse con CaCl a 10% desencadena la cascada de coagulación.<sup>1</sup>

Otra aplicación del PRP es para la proliferación y diferenciación de células del tejido óseo. En un estudio realizado en la Escuela de Medicina de Nagoya Japón por M. Kawasumi y cols. observaron que la proliferación celular se reforzaba en el hueso de ratón con el uso de PRP, aunque no se vio una diferencia significativa en la producción de RNA mensajero ni de fosfatasa alcalina, encontraron que la concentración alta de PRP en combinación con células osteogénicas era necesaria para acelerar la formación de hueso nuevo.<sup>3</sup>

## Material y métodos

Se realizó ensayo comparativo, longitudinal, prolectivo en modelo animal se utilizaron 12 especímenes de raza criollo, entre 15 y 20 kg. Con un promedio de edad de 2 a 2.5 años, proporcionados por el bioterio de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP). Seleccionados y revisados por el mismo bioterio de la universidad. Éstos fueron mantenidos en una habitación con una temperatura de entre 20 y 22 °C, con ciclos de luz-oscuridad de 12 horas en jaulas de malla de acero inoxidable individuales con cama de aserrín y alimentados con una dieta comercial estandarizada para perros y agua purificada.

Y cuyo manejo se realizó con estricto apego a la Norma Oficial Mexicana NOM 062-ZOO-1999 para aplicar el principio de las 3R en el manejo de animales de laboratorio las cuales consisten en: **Reemplazar** (utilización de alternativas que produzcan los mismos resultados, tales como experimentos *in vitro*, cultivos celulares, modelos inanimados, modelos por computadora), **reducir** (utilizar un número mínimo de animales) y **refinar** (Utilizar técnicas adecuadas para evitar al máximo el sufrimiento).

Actividad quirúrgica. En quirófanos de la Facultad de Medicina de la BUAP se realizó el ensayo. Se utilizó anestesia profunda con ketamina (60 mg/kg) y xilocaína (12 mg/kg). Se intubaron y se procedió a realizar acto quirúrgico consistente en rasurado de la extremidad posterior derecha, antisepsia con isodine espuma, colocación de campos estériles y se les extrajo a cada perro 60 cc de sangre, a la que se le realizó centrifugación a 3,500 rpm (revoluciones por minuto) para obtener de 3 a 5 ml de PRP. El cual se preparó en la forma de coágulo. Se realiza incisión posteromedial y disección por planos hasta localizar en su totalidad el tendón calcáneo al cual se le realiza rotura completa en la unión de tercio medio con distal. Se repararon con técnica quirúrgica término-terminal la cual consiste en: disecar con instrumentos cortantes la piel, los tejidos subcutáneos y la vaina tendinosa. Esta última se separó con el tejido subcutáneo para reducir al mínimo la disección subcutánea, se aproximan los extremos rotos del tendón con suturas no reabsorbibles 2-0, utilizando puntos de Bunnel. Se comprueba la estabilidad de la reparación después de atar las suturas, Se cierra la vaina peritendinosa y se procede a la colocación de PRP en la forma descrita anteriormente sobre el tendón, sólo al grupo problema y por último se cierra piel con suturas dermalon 3-0 y se coloca vendaje estéril tanto a grupo control como grupo problema.

Terminado el acto quirúrgico los perros son nuevamente enviados al bioterio para su cuidado durante 4 semanas, posterior a éstas se observó un estado de recuperación funcional, lo cual fue evaluado por 3 observadores utilizando la escala de valoración del grado de cojera de Farell y Schwarz (Tabla 1). A la 5ª semana postquirúrgica son sacrificados en quirófanos de BUAP, en donde se les retira el tendón calcáneo los cuales son mandados al Servicio de Patología para su estudio histológico, este estudio fue realizado por 3 médicos patólogos de distintas instituciones. Se tomaron fo-

**Tabla 1. Escala de valoración del grado de cojera. Farell y Schwarz (1993).**

Grado de cojera	Signos clínicos
Grado 0	Clínicamente normal
Grado I	Ligera cojera sólo visible tras el ejercicio
Grado II	Ligera cojera visible sin ejercicio
Grado III	Cojera moderada con apoyo
Grado IV	Cojera severa con apoyo intermitente
Grado V	Cojera sin apoyo

tografías de tendones tanto de grupo control como de grupo problema transquirúrgicas, así como de extracción de tendones de ambos grupos. Para análisis estadístico se utilizó t de Student.

## Resultados

Se evaluaron la edad, el peso, el grado de funcionalidad, en los reportes de patología la presencia de proliferación vascular, cantidad de fibroblastos en los tejidos estudiados encontrándose lo siguiente (*Tabla 2*).

No hay diferencia significativa entre los dos grupos de la edad y el peso de los especímenes estudiados (t de Student para edad  $p = 0.483$ , para peso  $p = 0.185$ ) (*Tablas 3 y 4*) por lo que esto influye en el resultado de nuestro estudio.

El grado de funcionalidad se muestra en la *tabla 5*.

## Discusión

No se han encontrado estudios realizados hasta el momento en roturas agudas del tendón calcáneo y aplicación de PRP en modelo animal. Lo más cercano hasta el momento es el estudio realizado por Vanesa Couto de Magallanes Ferraz y cols. en Sao Paulo Brasil sobre la concentración

plaquetaria de PRP obtenido en perros mediante velocidades rápidas de centrifugación, el cual lo realizan en 3 velocidades y obteniendo diferentes porcentajes de concentración plaquetaria: a 1,300 rpm se obtuvo 183%, a 1,600 rpm se obtuvo 210% y a 3,200 rpm se obtuvo 222%. Lo que demostró este estudio fue que a mayor velocidad mayor porcentaje, a su vez se observó que a 3,200 rpm se presentaban alteraciones morfológicas de la celularidad.<sup>4</sup> En nuestro estudio la centrifugación se llevó a cabo a 3,600 rpm y no se observaron alteraciones en la morfología celular.<sup>5</sup>

Otro estudio realizado fue el del Maestro Fernández A. y cols. en 2007 en San Sebastián, España. El cual titularon cirugía abierta y plasma rico en plaquetas en roturas agudas del tendón de Aquiles; este estudio, no comparativo en dos centros de atención diferentes, fue realizado con una muestra de 11 pacientes con aplicación de PRP, el resultado que obtuvieron fue la curación en 11 y 15 semanas. Por lo que concluyen que el uso de PRP acorta considerablemente el período de curación.<sup>2</sup>

Un empleo de importancia es el que se le da al PRP en tratamiento de la tendinosis crónica del codo como lo reportó en su estudio Allan Mishra y cols. en Mayo de 2006. La tendinosis del epicóndilo es un problema común que generalmente se resuelve con tratamientos no quirúrgicos, sin embargo, los pacientes están interesados en una alternativa no quirúrgica. Ciento cuarenta pacientes con dolor en epicóndilo se evaluaron en este estudio. Todos estos pacientes recibieron un protocolo estandarizado de terapia física previamente 20 de estos pacientes persistieron con el dolor en una media de 15 meses, todos los pacientes estaban considerando la cirugía. Estos 20 pacientes fueron divididos en 2 grupos; el grupo activo ( $n = 15$ ) recibió una sola inyección de plasma rico en plaquetas y el grupo control ( $n = 5$ ) recibió una de bupivacaína.

A las 8 semanas después del tratamiento el grupo activo observó 60% de mejoría en su dolor de acuerdo a la escala visual análoga, frente a 16% de mejoría en el grupo control. Setenta por ciento (3 de 5) de los sujetos del grupo control se retiró buscando otros tratamientos. Sólo el grupo activo estaba disponible para la evaluación continua, a los 6 meses

**Tabla 2. Variables a estudiar.**

Variable	Escala	Medición
Edad	Dimensional	Años
Criterios diagnósticos clínicos (funcionalidad)	Escala de grado de cojera de Farell y Schwarz	Grados
Proliferación vascular	Ordinal	Leve/Moderado/Abundantes
Cantidad de fibroblastos	Ordinal	+ /++ /+++

**Tabla 3. Edad y peso de especímenes manejados con PRP.**

	Promedio (x)	Desviación est.	Mín./Máx.
Edad (años)	2.13	0.21	2-2.5
Peso (kg)	17.16	1.72	15-20

**Tabla 4. Edad y peso de especímenes sin PRP.**

	Promedio (x)	Desviación est.	Mín./Máx.
Edad (años)	2.23	0.25	2-2.5
Peso (kg)	18.5	1.57	16-20
t de student: Edad $P = 0.483$ , Peso $= 0.185$			

**Tabla 5. Grado de funcionalidad de especímenes.**

Grado de funcionalidad	Con PRP n	Con PRP (%)	Sin PRP n	Sin PRP (%)
I	4	80	—	—
II	2	20	—	—
III	—	—	—	—
IV	—	—	4	80
V	—	—	2	20

En el reporte de patología se encuentra la proliferación vascular:  
 Con PRP 100% reporte moderado.  
 Sin PRP 80% ( $n = 4$ ) reporte de leve a moderado. 20% ( $n = 2$ ) reporte leve.  
 En la cantidad de fibroblastos observados en la muestra fue:  
 Con PRP 100% reportó abundante (+++)  
 Sin PRP 100% reportó moderado (++)

el grupo activo observó 81% de mejoría y al final (12-38 meses) el grupo mostró una mejoría de 93% de acuerdo a la escala visual análoga del dolor. Por lo tanto, nosotros consideramos que el plasma rico en plaquetas se debe de considerar antes de la intervención quirúrgica en el tratamiento de tendinopatías.<sup>6</sup>

En otro estudio realizado por Mazzucco y cols., el cual consistió en utilizar gel de plasma rico en plaquetas para el tratamiento de úlceras crónicas, se observó que este gel proporciona tejido de regeneración e induce la formación de factores de crecimiento. Así mismo, observaron que el tiempo de curación de heridas es significativamente menor en cuestión de semanas.<sup>7</sup>

Andris J. Kaneps y cols. realizaron una investigación para buscar nuevas técnicas de tratamiento para las lesiones de tendones y ligamentos en caballos. Este estudio fue realizado en *Parrott Equinos Associates* y *The Ohio State University College of Veterinary Medicine*. Las lesiones de tendones y ligamentos son una causa frecuente de cojera en los caballos. Más de 30% de la cojera de caballos de carreras se debe a la lesión del tendón o ligamento. El tratamiento tradicional de estas lesiones a menudo requiere de 6 a 12 meses de rehabilitación. La curación puede ser incompleta resultando en un tendón más débil. Además, los tratamientos tradicionales tienen una falla de 30 a 50%, en este sentido, el plasma rico en plaquetas para el tendón de terapia equina y lesiones de los ligamentos se ha investigado.

Este estudio incluyó 35 caballos con lesiones de tendón y ligamentos a los cuales se les aplicó una sola inyección de PRP. La inyección de PRP se recomienda para lesiones de tendón y ligamento recientes y para aquellas lesiones que no han sanado con tratamientos tradicionales y ejercicio controlado, en este estudio los autores recomiendan la inyección de una lesión en los últimos 30 días después de ocurrir ésta. Un ultrasonido fue realizado cada 30 días durante los 2 primeros meses y luego cada 60 a 90 días durante el período de curación restante, el tratamiento ha dado lugar a una rápida curación de las lesiones y el regreso a la solidez y la función. La evaluación de los casos clínicos está en curso, pero los resultados iniciales indican que el tratamiento con PRP en lesiones de tendón y ligamentos muestra una enorme mejoría respecto a otras técnicas actuales.<sup>4</sup>

Otro reporte sobre el uso de plasma rico en plaquetas es el informado por Pietro Maniscalco y colaboradores. Estudio el cual se llevó a cabo en el Hospital de la Universidad de Siena, Italia en el año 2008. En este estudio fue utilizado el plasma rico en plaquetas en roturas de tendón del mango rotador del hombro. Reportan el caso de un paciente de 53 años de edad que acude a consulta por referir dolor severo y disminución de la rotación de hombro, la historia clínica fue negativa para fracturas o traumatismo, el uso de esteroides y terapias físicas fue fallido, en la exploración física se encontró atrofia

del músculo deltoides, reducción severa de la rotación de la articulación glenohumeral con limitación de la elevación del hombro, las pruebas clínicas de Job y Neer fueron positivas. En Noviembre de 2006 la resonancia magnética mostró una rotura del tendón supraespinoso con retracción del músculo. En Noviembre de 2007 se realizó intervención quirúrgica con artroscopía y abordaje mínimamente invasivo y aplicación de plasma rico en plaquetas. Se inmovilizó al paciente por cuatro semanas y se inició protocolo de rehabilitación. El examen clínico después de 6 meses mostró alivio del dolor con la mejoría significativa de la rotación. Del mismo modo, la *resonancia magnética* después de 6 meses de la intervención quirúrgica mostró la integridad completa del mango rotador bajo el coagulo de PRP.<sup>8</sup>

## Conclusiones

El PRP favorece la cicatrización tendinosa y la recuperación funcional.

El PRP acorta el tiempo de reparación de lesiones en tejidos blandos favoreciendo el rápido retorno a las actividades de la vida diaria.

El PRP es una preparación antológica, atóxica y no inmunogénica, por lo tanto no transmite enfermedades o causa reacciones inmunogenéticas.

## Agradecimiento

A la Dra. María Fabiola del Carmen Lara Hernández, por su apoyo en el estudio histopatológico de tendones del modelo animal de este trabajo.

## Bibliografía

1. Hernández I, Rossani G, et al: Plasma rico en plaquetas como inductor de reparación en la panculopatía edematofibroesclerótica. *Reingeniería de Tejidos*. 2005; 7: 18-24.
2. Maestro FA, Martínez RJ, Sánchez ZI, Rodríguez LL: Cirugía abierta y plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) en roturas del tendón de Aquiles. *Patología del aparato locomotor*. 2007; 5: 79-82.
3. Kawasumi M, Kitoh H, Siwicki KA, Ishiguro N: The effect of the platelet concentration in platelet-rich plasma gel on the regeneration of bone. *J Bone Joint Surg* 2008; 90-B: 966-73.
4. Kaneps AJ, Parrot BG: Platelet-Rich Plasma: A new treatment for tendon and ligament injuries in horses. Parrot Equine Associates. Ohio State University College of Veterinary Medicine; 2007.
5. Ferraz VCM, Ferrigno CRA, Schmaedecke A: Platelet concentration of platelet rich plasma from dogs, obtained through three centrifugation speeds. *Braz J Vet Res Anim Sci Sao Paulo* 2007; 44(6): 435-40.
6. Mishra A, Pavelko T: Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med* 2006; 10: 1-6.
7. Mazzucco L, et al: The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study. *Transfusion* 2004; 44: 1013-8.
8. Maniscalco P, Gambera D, Lunati A, Vox G, Fossombroni V, Beretta R, Crainz E: The "Cascade" membrane: a new PRP device for tendon ruptures. Description and case report on rotator cuff tendon. *Acta Biomed* 2008; 79: 223-6.