

Obtención y aplicación de PRFC en los procesos osteoarticulares y musculoesqueléticos

Estudio clínico con factores de crecimiento (II)

Existen todavía muchos aspectos sobre los factores de crecimiento que no se conocen en profundidad, pero la experiencia clínica nos indica que su aplicación en lesiones de tipo articular, óseo, tendinoso o muscular presenta efectos muy beneficiosos. A continuación se comenta el funcionamiento bioquímico de estos factores y sus principales aplicaciones terapéuticas.

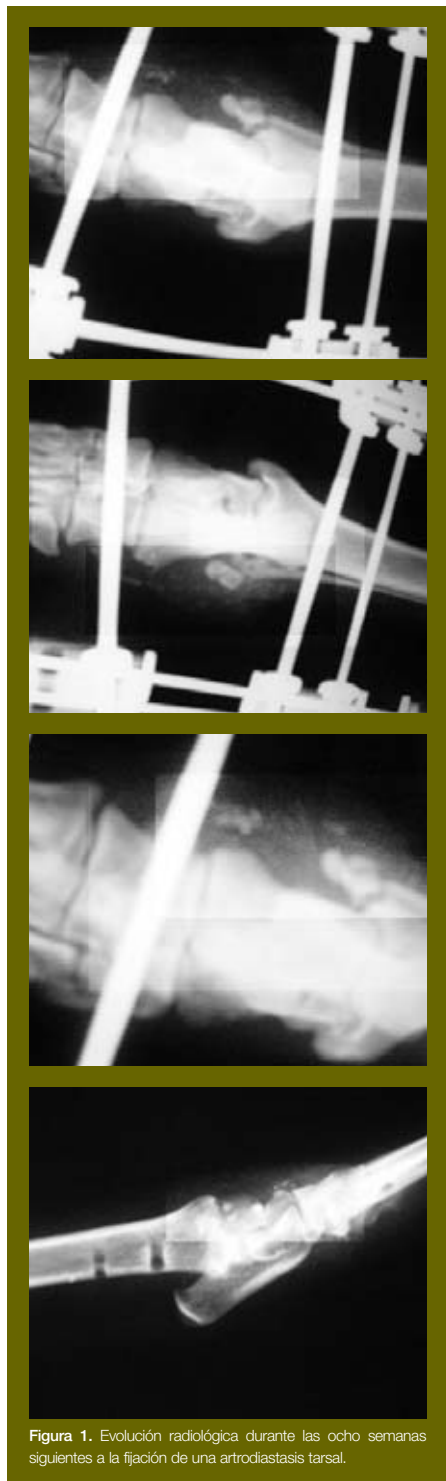


Figura 1. Evolución radiológica durante las ocho semanas siguientes a la fijación de una artrodiastasis tarsal.

En el número anterior de Argos se describieron los principales factores de crecimiento (FC) y su mecanismo de acción en la reparación de los tejidos. En esta segunda parte del trabajo se pasa a describir 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.

Biología de los factores de crecimiento

Quizás lo más complejo es entender el funcionamiento biológico de las sustancias que participan para que se produzcan los cambios bioquímicos necesarios para que actúen los diferentes factores de crecimiento. Para explicarlo nos hemos basado en el tratado de bioquímica: "Introducción a la biología celular" de Bruce Alberts (Ediciones Omega).

Comunicación celular

Las células han de ser capaces de reconocerse, se han de comunicar mediante señales para relacionarse y actuar en conjunto. Desde la formación del embrión las células se especializan y determinan su supervivencia y su actuación posterior.

La base del funcionamiento de una señal, es que una célula señalizadora produzca unas partículas moleculares que sean detectadas por la célula diana mediante una proteína receptora. La proteína receptora inicia entonces un meca-

nismo que desencadena que la señal pase de externa a la célula a intracelular.

Número limitado de señales

Cada célula responde a un número limitado de señales. Una célula se ve expuesta a un sinnúmero de moléculas señalizadoras por lo que ha de cribar y discernir cuáles son las que le interesan por su especificidad.

Para responder a una señal la célula ha de poseer un receptor a dicha señal. La proteína receptora inicia el primer paso de transducción. En la célula diana la señal puede provocar cantidad de efectos: de forma, movimiento, metabolismo, expres-

sión génica... esto explica que células diferentes respondan de forma diferente a estímulos iguales, especializándose las respuestas según la necesidad (p. ej.: musculatura cardíaca: contracción, glándulas salivares: secreción de saliva). Los receptores transmiten las señales mediante vías de señalización intracelular. Este fenómeno pasa de célula a célula hasta que se genera una respuesta global (citoesqueleto).

Un conjunto de señales actuando juntas pueden provocar un efecto superior a la suma de los efectos de cada señal. La presencia de una señal puede modificar la respuesta a otra.

Cómo actúan los factores de crecimiento en el cartilago articular

Estudios realizados en ingeniería tisular demuestran que la IGF-I, PDGF, TGF β , EGF y FGF son responsables de la proliferación de condrocitos.

También se ha comprobado cómo los factores de crecimiento intervienen en la regulación de las relaciones entre los condrocitos y la matriz extracelular. Esta reacción es antagonizada por unas sustancias llamadas citoquinas.

Los factores de crecimiento favorecen la síntesis de la matriz extracelular y de una serie de sustancias capaces de bloquear la acción de las proteasas responsables de la degradación del cartilago, aunque, para incrementar la controversia, también hay estudios que demuestran lo contrario.

Gueren en 1994 pudo observar en cultivos de condrocitos humanos que el TGF β , el PDGF, el IGF-I, y el FGF inducían a una proliferación de los condrocitos, mientras que la proteína morfogenética ósea 2B, la activita y la inhibina carecían de efectos a este nivel, al igual que la IL-1 y el TNF- α . Sin embargo la IL-1 es capaz de inhibir la proliferación inducida por el TGF β .

Se ha podido observar el sinergismo que existe entre los factores de crecimiento: el TGF β , el IGF-I y el PDGF individualmente incrementan la síntesis de proteoglicanos en más de un 100%, pero si actúan combinados se multiplica el efecto.

Actualmente los estudios van enfocados a demostrar la capacidad de la aplicación del plasma rico en factores de crecimiento activado en la remodelación y cicatrización del cartilago articular.

Actualmente los estudios van enfocados a demostrar la capacidad de la aplicación del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) activado, en la remodelación y cicatrización del cartilago articular.

Hemos podido comprobar clínicamente los resultados de la aplicación de los factores de crecimiento en articulaciones en las que aparecía pérdida de superficie y/o lesiones en el cartilago. Lo hemos estudiado clínicamente, mediante visión macroscópica, con pruebas de estudio de anatomía patológica de muestras, radiología y por resonancia nuclear magnética.

Aspectos de la comunicación celular

En la comunicación celular las señales pueden actuar a largas o cortas distancias

Existen cuatro modalidades de señalización celular:

- 1 Señalización endocrina (hormonas). Las células endocrinas producen hormonas que por riego sanguíneo llegan a todo el organismo.
- 2 Señalización paracrina. La molécula señalizadora difunde localmente, a través del medio extracelular, permaneciendo cerca de la célula que la secreta. Son mediadores locales (inflamación, infección, cicatrización).
- 3 Señalización neuronal. Se produce a través de los axones neuronales, la transmisión es muy rápida (sinapsis). Son los neurotransmisores los que transforman las señales eléctricas de las células, transmitiendo así sus mensajes.
- 4 Comunicación célula-célula. Las células realizan un contacto directo mediante una sustancia que las une membrana con membrana, durante el periodo embrionario dicha unión es muy habitual.

Las cadenas de transmisión o cascadas de señalización presentan funciones cruciales

- 1 Transfieren físicamente la señal desde el primer punto en que se recibe hasta la maquinaria celular que ha de llevar a cabo la respuesta.
- 2 Transforman la señal en una forma molecular capaz de estimular esta respuesta.
- 3 En la mayoría de los casos la cascada de señalización también amplifica la señal recibida, haciéndola más intensa. Pocas moléculas extracelulares provocan una gran respuesta.
- 4 La cascada de señalización puede distribuir la señal, para poder influir en varios procesos en paralelo. La señal puede ser divergente y avisar a varias células diana dando respuestas complejas.
- 5 La transmisión de la señal puede ser modulada según las condiciones del interior y exterior de la célula. (factores que pueden modificar la información).



Figura 2. Estado radiológico de la articulación al año de la aplicación de los factores de crecimiento.



Figura 3. Aplicación de factores de crecimiento en una fractura mandibular.



Figura 4. Aplicación de factores en una artrodiastasis.



Figura 5. Aplicación de factores de crecimiento al finalizar la artroscopia.

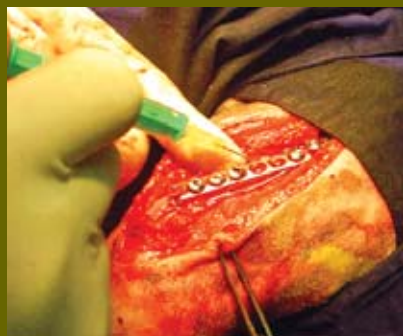


Figura 6. Aplicación de factores en una fractura intraquirúrgicamente.

► Otras aplicaciones de los factores de crecimiento

Se están realizando estudios paralelos en: aplicación en las roturas y lesiones musculares, lesiones tendinosas, cicatrizaciones difíciles, fracturas no consolidadas (pseudartrosis, no uniones...), úlceras corneales, defectos epiteliales, úlceras en piel, quemaduras... Creemos que su conocimiento específico y unitario hará que se devengan un sinfín de aplicaciones que de momento desconocemos.

Los FC más utilizados

Se ha estudiado e identificado una serie de sustancias promotoras del crecimiento que se localizan en las zonas donde se ha producido una lesión en el esqueleto. Estas sustancias juegan un papel importante en la reparación ósea. Las que más se conocen y se utilizan son:

- El factor β , transformador del crecimiento (TGF β).
- Las proteínas óseas morfogenéticas.
- Los factores de crecimiento de los fibroblastos (FGF).
- Los factores de crecimiento tipo insulina (IGF).
- Los factores de crecimiento derivados de las plaquetas (PDGF).

También podemos encontrar estas sustancias en las líneas celulares clónicas en sarcomas osteogénicos.

Mediante la acción de ciertos factores de crecimiento se reduce el proceso inflamatorio y se acorta el periodo de reparación y/o regeneración del tejido tendinoso.

Estrategias de implantación de los FC

Son tres las estrategias que se utilizan para implantar los factores de crecimiento.

1. Descrita por Urist, consiste en la extracción y purificación de una mezcla de proteínas que incluyen la proteína ósea morfogenética del hueso cortical de procedencia animal o humana.
2. Utilización de proteína ósea morfogenética recombinante tipo-2 mediante clonación y secuenciación genética.
3. Implantación del ácido desoxirribonucleico que codifica un factor de crecimiento en lugar de la implantación de la propia proteína.

Factores de crecimiento de fibroblastos

Su presencia es frecuente en la reparación normal de una fractura. Tienen actividad promotora de mitogénesis, de angiogénesis y de diferenciación celular tanto *in vitro* como *in vivo*.

Están ligados a la proliferación y actividad sintética de osteoblastos y condrocitos, aunque su efecto sobre la síntesis de colágeno todavía no está demasiado claro.

No está establecida tampoco cuál ha de ser la cantidad que hay que colocar en el

callo, puede inhibir o acelerar la cicatrización dependiendo de la dosis administrada. Sigue en estudio.

Factores de crecimiento derivados de las plaquetas

Su actividad principal es la mitogénica. En las experiencias realizadas en conejos se ha demostrado un efecto reparador en osteotomías, incrementando la calidad y cantidad de callo óseo.

En ratones, la inyección produce un efecto concomitante en la reabsorción ósea, lo que puede condicionar su utilidad como agente terapéutico.

Factores de crecimiento tipo insulina (somatomedinas) y hormonas del crecimiento

Sus acciones son: mitogénica, anabólica y mediadora de algunas acciones de la hormona de crecimiento.

La tipo I desempeña un papel fundamental en la osificación de tipo endocondral, característica del cartilago de crecimiento, se entiende que actúa de forma positiva en la osificación y reparación de fracturas.

La tipo II es el factor más abundante en el hueso, y presenta acciones similares al tipo I.

La hormona de crecimiento y los FC tipo insulina actúan más en el crecimiento que en la reparación.

Estos factores parecen estar ligados y regulados por la parathormona.

Factores β transformadores del crecimiento

Es el factor de crecimiento más estudiado en la biología ósea. Actúa principalmente sobre el sistema musculoesquelético, estimula a las células mesenquimales a dividirse.

Su actuación exógena es capaz de estimular significativamente la reparación ósea, mejora sus propiedades mecánicas, y puede potenciar la capacidad osteoinductiva de las proteínas óseas morfogenéticas actuando mediante un mecanismo sinérgico.

Proteínas óseas morfogenéticas

Para denominar a una sustancia proteína ósea morfogenética ha de ser capaz de inducir formación ectópica de hueso en un sistema de ensayo estandarizado *in vivo* en roedores.

Las proteínas óseas morfogenéticas son capaces de inducir la transformación de células mesenquimales indiferenciadas en osteoblastos y condroblastos durante la embriogénesis, el crecimiento, la edad adulta y en los procesos de reparación ósea.

Reddi, establece la cadena de funcionamiento:

- Quimiotaxis de células progenitoras.
- Proliferación de células mesenquimales.
- Diferenciación de condrocitos.
- Calcificación de la matriz cartilaginosa.
- Angiogénesis e invasión vascular.
- Diferenciación ósea y mineralización.
- Remodelación ósea.
- Diferenciación medular.

Se han utilizado en medicina humana y veterinaria en la reconstrucción de defectos óseos y en defectos de consolidación, mediante su vehiculación en aloinjertos óseos liofilizados, consiguiéndose así la consolidación y remodelación.

Los estudios realizados en cirugía oral han desencadenado los estudios que se han proyectado después a la regeneración y reparación en otros tejidos del aparato locomotor.

Los factores de crecimiento son proteínas con un efecto reconocido en la formación de tejido nuevo. En este sentido es evidente que los FC liberados tras la desgranulación de las plaquetas en el lugar de la lesión proporcionan los mecanismos necesarios para que se produzcan las necesarias síntesis biológicas. A esto se le conoce como fenómeno de activación celular. Estos mecanismos biológicos que participan en la reparación de los tejidos son los que se han utilizado para demostrar su acción como ya hemos comentado.

Aplicación en lesiones tendinosas y musculares

Además de la aplicación de los factores de crecimiento en las lesiones articulares, directamente con la idea de regenerar, restaurar, reconstruir o "enyesar" los defectos condrales, a lo largo de estos años se ha podido comprobar su beneficio en la restauración de otros tejidos.

Aplicación del PRGF en las lesiones tendinosas

A consecuencia del poco aporte sanguíneo y el poco aporte fisiológico de sus células, la regeneración de una rotura tendinosa es un proceso muy lento.

Estudios preliminares muestran que la reparación del tendón se ve beneficiado principalmente por la actuación de los factores: IGF-I, TGF β , VEGF, PDGF, y bFGF. Estos cinco factores se encuentran en proporciones elevadas en las lesiones tendinosas y actúan activamente en el proceso de reparación. Con su acción se reduce el proceso inflamatorio y se acorta el periodo de reparación y/o regeneración.

En el tratamiento quirúrgico de una rotura tendinosa

La utilización de los factores de crecimiento no evita la necesidad de la intervención, pero intraquirúrgicamente la aplicación en el momento de la cirugía disminuye el proceso inflamatorio iatrogénico.

Factores de crecimiento-mediadores locales y otras sustancias

Molécula señalizadora	Lugar de origen	Naturaleza química	Algunas acciones
Factor de crecimiento epidérmico (EGF)	Varias células	Proteína	Estimula a células epidérmicas y a otros muchos tipos celulares a proliferar
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas	Varias células incluyendo las plaquetas	Proteína	Estimula a muchos tipos celulares a proliferar
Factor de crecimiento nervioso	Varios tejidos inervados	Proteína	Aumenta la supervivencia de ciertas clases de neuronas y el crecimiento de sus axones
Histamina	Mastocitos	Derivado del aminoácido histidina	Dilata y permeabiliza los vasos sanguíneos contribuyendo a causar la inflamación
Oxido nítrico (NO)	Células nerviosas; células endoteliales que tapizan los vasos sanguíneos	Gas disuelto	Hace que las células musculares lisas se relajen; regula la actividad de las células nerviosas

nico y aumenta la capacidad de reparación. Acorta el periodo de inmovilización con lo que se puede empezar antes la fisioterapia y alcanzar la funcionalidad óptima en menos tiempo.

La extracción hay que realizarla antes de la cirugía, a fin de que se forme el coágulo y se espese para su aplicación.

Tanto en su aplicación quirúrgica como posquirúrgica realizaremos controles ecográficos para valorar la regeneración de la lesión. Se llevarán a cabo entre tres o cuatro aplicaciones acompañadas de fisioterapia a fin de conseguir lo antes posible una buena orientación de las fibras.

Aplicación del PRGF en las lesiones musculares

El tejido muscular se adapta muy bien a demandas fisiológicas, como problemas de crecimiento.

El proceso de cicatrización, regeneración y/o remodelación, se realiza a partir de la actuación de una serie de células satélite, que se encuentran en la periferia de las células musculares.

La lesión muscular se produce siguiendo unos pasos:

- Degeneración de las miofibras que se necrosan.
- Actúan las proteínas de lisis que se liberan durante la lesión.
- Se forma un hematoma rápidamente que contribuye a la degeneración del tejido.
- Se produce un proceso inflamatorio con infiltración típica de neutrófilos y leucocitos.

El tratamiento consiste en la aplicación de factores de crecimiento enriquecidos con calcio.

Después de cada aplicación del PRGF recomendamos la aplicación de hielo en la zona para evitar la inflamación.

• Sustitución del coágulo inicial por los factores de crecimiento en el mismo lugar de la lesión.

• La presencia de los factores de crecimiento se asocia a la activación de las células satélite.

• La acción de los factores hace proliferar la aparición de marcadores específicos miogénicos.

• Se forman los mioblastos, se fusionan y forman miotubos que darán lugar a fibras musculares y, por tanto, a la regeneración del músculo.

Cómo aplicar los factores

• Diagnóstico ecográfico y/o resonancia magnética, para definir exactamente la localización de la lesión y el tamaño. Se determina la existencia o no de hematoma en la lesión.

• Aplicación in situ de una cantidad correspondiente al tamaño de la lesión.

• Nuevo control ecográfico a la semana, si persiste el hematoma se evacúa y se vuelven a aplicar los factores.

• Repetimos 4-5 veces la operación hasta ver la cicatrización ecográficamente.

• Después de cada aplicación recomendamos la aplicación de hielo en la zona para evitar la inflamación. □

Alexandre Tarragó

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