

TERAPIA CELULAR AUTÓLOGA EN ORTOPEDIA EN EQUINOS

MVZ, MSc, D en C, DACVIM María Masri Daba

La terapia celular en ortopedia tiene mucho potencial para su uso en la reparación de tejidos blandos y en medicina regenerativa articular. Hay varias condiciones terapéuticas en el mercado que se anuncian como terapia celular como plasma rico en plaquetas, plasma rico en factores de crecimiento, células tallo, madre o troncales entre otros. Por lo tanto el entendimiento de los fundamentos y de la biología celular es importante para poder escoger el tratamiento y protocolo adecuado para nuestros pacientes.

➡ PLASMA RICO EN PLAQUETAS O EN FACTORES DE CRECIMIENTO (clínica y experimental)

Se trata de una técnica de autotrasplante que parece actuar favoreciendo los procesos de regeneración celular al aumentar el nivel de IGF-1 en la zona dañada.

Su aplicación hasta el momento ha conseguido reducir, en algunos pacientes, a la mitad el tiempo de recuperación de lesiones degenerativas, deportivas.

Lesiones del aparato locomotor como fracturas óseas, lesiones puntuales del cartílago, úlceras de origen vascular, tendinosis, como antiinflamatorio en cirugía ortopédica, etc. son algunas de las posibles aplicaciones del Plasma Rico en Factores de Crecimiento. Esta técnica reduce a casi la mitad el tiempo de recuperación de los tejidos lesionados mediante la aplicación en la zona a tratar de un plasma que se obtiene de la misma sangre del paciente sin utilizar medicamentos ni sustancias químicas ajenas a él.



La técnica estuvo pensada en un inicio para su aplicación en el campo de la Cirugía Maxilofacial aunque con el paso del tiempo ha consolidado su versatilidad y ha trascendido a otras disciplinas como la reumatología, cirugía ortopédica y traumatología, cirugía general y plástica y dermatología.

➡ ORTOQUINAS PROTEINA ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE INTERLEUKIN-1 (IRAP).

Esta proteína antagonista se pega al receptor de IL-1 previene su interacción. La IL-1 es el principal componente de la cascada de inflamación y causa sinovitis y dolor articular. Por medio de Jeringas de 60 ml y un incubador y perlas de vidrio para estimular la producción de monocitos de la proteína antagonista y su anticoagulante se logra obtener esta sustancia que es inyectada articularmente. Los resultados variables dependiendo del grado de artritis secundaria degenerativa (ASD). En condiciones de sinovitis es ideal o

cuando presentan ligera ASD. Es contraproducente su utilización cuando hay daño extenso de cartílago o exposición de hueso subcondral.

➔ **TÉCNICAS DE IMPLANTACIÓN DE CONDROCITOS AUTÓLOGOS (experimental)**

Las lesiones traumáticas del cartílago articular predisponen al desarrollo de osteoartritis (OA), conocida también como artrosis o enfermedad articular degenerativa (1-5). La enfermedad articular es la causa más importante de desecho del caballo de uso deportivo y una de las pérdidas económicas de más impacto en la industria equina (6, 7). Se ha calculado que el 60% de las claudicaciones de los caballos de uso deportivo están relacionadas con osteoartritis (8, 9), de donde se deriva la importancia del desarrollo de alternativas de tratamiento, tanto médico como quirúrgico. Actualmente la osteoartritis constituye un problema significativo no sólo en caballos, sino también en la medicina humana por lo que la investigación de mejores técnicas para la reparación del cartílago articular es prioritaria. (10, 11)

El cartílago articular tiene una limitada capacidad natural de reparación intrínseca, por lo que los defectos se reparan con tejido extrínseco de neoformación (12, 13). El tejido de reparación consiste en tejido fibroso o fibrocartílago, el cual es biomecánicamente inferior al cartílago hialino y se deteriora rápidamente cuando se somete a un ejercicio continuo (14). En México no existen datos epidemiológicos sobre la incidencia, prevalencia e impacto económico de las lesiones articulares y la osteoartritis; sin embargo es posible considerar que todos los caballos que están participando en las diferentes funciones deportivas como salto de obstáculos, adiestramiento, carreras o charrería, están predispuestos a padecer una enfermedad articular degenerativa.

El cultivo de condrocitos permite, de forma experimental, generar células que son capaces de sintetizar colágeno de tipo 2. Es una opción para reparar el cartílago dañado "in vitro", pero hoy por hoy esta técnica debe ser considerada experimental y en vías de evolución hasta su aplicación clínica seriada.

En 1994, Britberg *et al.* (77) describieron el uso de condrocitos autólogos cultivados *in vitro*, inyectados en defectos profundos del cartílago de la rodilla bajo un parche de periostio, obtenido de la tibia proximal durante el mismo procedimiento (88-90). Aún cuando algunos de los informes sobre el resultado clínico a corto y mediano plazo parecen ser satisfactorios, existen discrepancias con los resultados obtenidos previamente por investigadores del mismo grupo (91), así como con otros resultados recientes (92) y las evaluaciones clínicas de algunas series de casos con lesiones no experimentales (93).

El empleo de células mesenquimatosas o condrocitos suspendidos en fibrina ha recibido atención especial, ya que esta variante permite el uso de factores de crecimiento para estimular el proceso de reparación (94). El empleo de estas técnicas tiene diversas

limitaciones. La primera es la dificultad para mantener las células cultivadas del huésped en el sitio de la lesión, porque tienden a dispersarse, ya que se encuentran disueltas en un medio líquido. También se cuestiona el hecho de que el cartílago que se forma no sea producido por los condrocitos, sino por células provenientes del periostio utilizado para sellar el lecho de implantación (32, 48). Finalmente, existe el riesgo de que se pierdan las células empleadas, aun cuando hayan sido implantadas en algún tipo de sistema de soporte como el de las esponjas de colágena, debido a que se trata de un sistema imperfecto de fijación (59-61, 95).

La ingeniería de tejidos es un campo multidisciplinario de investigación, que combina los conocimientos de diferentes áreas de la ingeniería y de la biología celular y molecular. Una de las técnicas empleadas, y originalmente descrita por Langer (96) Cao, Vacanti y colaboradores (97, 98), combinan la utilización de materiales sintéticos biocompatibles y biodegradables como estructuras de sostén, o como transportadores de células aisladas de tejidos específicos, con la finalidad de regenerar tejidos que puedan ser empleados para reparar, reconstituir, o reemplazar la estructura o función de tejidos y órganos lesionados o ausentes. Vacanti *et al* (88) describieron la formación de cartílago mediante el empleo de condrocitos bovinos inmaduros, sembrados en suturas de ácido poliglicólico deshebradas, e implantadas en el espacio subcutáneo de ratones atímicos. Más tarde, describieron la reparación de defectos articulares creados experimentalmente en la rodilla de conejos, utilizando condrocitos autólogos y estructuras de ácido poliglicólico (88). Se han utilizado técnicas similares para la regeneración experimental de diferentes tejidos, tales como cartílago, hueso y estructuras compuestas de cartílago (99), ligamento (100), tendones (99) y menisco (101).

También se han obtenido resultados alentadores con el uso de bioreactores para intentar formar por completo el tejido *in vitro* antes de implantarlo (25, 28, 29, 32, 47, 59, 60, 62, 102). El potencial para la aplicación de diferentes técnicas de ingeniería de tejidos en el campo de la ortopedia es incalculable. En el área de tejidos blandos se han realizado avances impresionantes; en el campo clínico se inició la utilización de células en cultivo para la reparación de lesiones condrales profundas en la rodilla, a partir del estudio publicado en 1994 por Britberg *et al.* (90). Actualmente, se realizan múltiples estudios clínicos para evaluar la utilidad de diferentes estructuras de polímeros, empleados para sustitución parcial de meniscos, cartílago, ligamentos, tendones, etc. (103-105). Además, los factores de crecimiento para mejorar la consolidación ósea, estudiados tanto *in vitro* como *in vivo*, han demostrado que son capaces de inducir la diferenciación de células mesenquimatosas a condrocitos (106, 107).

La técnica consiste en obtener una muestra de condrocitos del animal (cuanto más joven mejor), el cultivo en monocapa de los condrocitos y la implantación posterior en la zona o zonas lesionadas. Actualmente, aunque el tejido de neo formación que se consigue es semejante al original, lo cierto es que la funcionalidad no es la misma, ofreciendo una menor resistencia y una mayor capacidad de dehiscencia.

Para solventar este problema, se añaden andamios de matriz degradables que en este caso son ácidos poliláctico (PLA) o poliglicólico (PGA), o colágena entre otros. Los condrocitos deben cultivarse en el seno de este biomaterial y una vez que se ha rellenado uniformemente se procede a la implantación.

➔ **MEDICINA REGENERATIVA (Terapia de células troncales autólogas)**

El crecimiento de células mesenquimales en el laboratorio obtenidas de sangre periférica, tejido adiposo o de aspirado medular, se pueden separar, clasificar, expandir y crecer para eventualmente ser implantadas en el paciente.

Esta técnica, que está considerada como un medicamento se está estudiando en series cortas de caballos con diversas patologías ortopédicas.

Básicamente, y gracias a la facilidad de la información que obtenemos a través de Internet y por los medios de comunicación, durante los últimos años nos hemos ido familiarizando con los términos “células madre” y “terapia celular”, entre otros, presentándolos como los tratamientos del futuro-presente y dando a entender que pueden tener una capacidad de curación ilimitada.

Dentro del ámbito médico, sabemos que esto no es así. Desde hace unos años las aportaciones dentro del campo de la ingeniería genética han sido remarcables, sobre todo la aplicación de estos nuevos descubrimientos en el tratamiento de diferentes enfermedades, o bien su aplicación en determinadas técnicas quirúrgicas. Así pues, los profesionales de la medicina hemos de estar constantemente informados de las novedades que van apareciendo, para poderlas explicar con rigor y criterio médico, y para aplicarlas con la intención de mejorar las patologías de nuestros pacientes. Pretendo pensar que dentro de 15 ó 20 años los implantes de células madre adultas sustituirán a las prótesis metálicas para reparar las lesiones de hueso y cartílago de humanos y en caballos la extracción de células madre adultas de la médula ósea para elaborar implantes de aplicación clínica que reproduzcan la estructura de tejidos dañados de hueso y cartílago.

Hasta ahora, se han implantado células directamente a través de una esponja o un andamio. El problema es que estos injertos no tienen las propiedades mecánicas del hueso o del cartílago y no se obtienen óptimos resultados o terminan fallando.

Las células troncales mesenquimales (CTM) son ampliamente utilizadas para elaborar los productos utilizados en terapia celular. Su uso en combinación con polímeros biodisponibles y biodegradables presenta una alternativa para la solución de problemas articulares tanto en equinos, como en humanos. Se requiere obtener una gran cantidad de células en cultivo (mínimo 1×10^6 células) para poder emplearlas en la reparación condral. Existe una gran diversidad de lugares de los cuales se pueden obtener este tipo de células, a saber; sangre periférica, tejido adiposo, médula ósea, estrato corneo de la

piel, etc. La obtención puede ser a partir de medula ósea que es de fácil colección y a su vez se cultivan y expanden *in vitro* para poder obtener los números necesarios para un implante.

Las CTM se caracterizan por su capacidad de clonación y carácter inmaduro, esto es que no poseen características de algún tejido en especial; lo importante es que ante determinadas señales en el medio ambiente se pueden especializar creando células funcionales.

Las CTM presentan un fenotipo característico evaluado con la presencia o ausencia de ciertos marcadores de superficie (receptores específicos) (Pittenger, M. F., Mackay, A. M., Beck, S. C., 1999); esto quiere decir que las células indiferenciadas expresan o no cierto tipo de receptores de superficie facilitando su reconocimiento al ser aisladas de las diferentes fuentes de células conocidas. Un ejemplo de marcadores de superficie son CD166, CD105, CD73, CD68, CD34, CD22, CD13, CD71 (Barry, Boynton, Murphy, Haynesworth, & Zaia, 2001), CD135, CD117 (Barry, Boynton, Haynesworth, Murphy, & Zaia, 1999); estos representan moléculas de adhesión que se encuentran en la superficie celular.

Un punto clave para la reparación de la superficie articular radica en cómo se pueden adherir a la lesión por lo que una variable a considerar es el tipo de andamio o matriz de sostén donde se van a cultivar o sembrar las células.

Referencias a petición

MVZ, MSc, D en C, DACVIM

MARÍA MASRI D

PROFESOR FMVZ, UNAM

masri@servidor.unam.mx