

Aplicación de plasma autólogo rico en factores de crecimiento en cirugía artroscópica

M. Sánchez⁽¹⁾, J. Azofra⁽¹⁾, B. Aizpurúa⁽¹⁾,
R. Elorriaga⁽¹⁾, E. Anitua⁽²⁾, I. Andía⁽³⁾

⁽¹⁾Unidad de Cirugía Artroscópica.

Clínica USP La Esperanza. Vitoria-Gasteiz.

⁽²⁾Biotechnology Institute (BTI). Vitoria-Gasteiz.

⁽³⁾Dpto. Investigación Neuroquímica. Osakidetza-Servicio Vasco de Salud.

Correspondencia:

D. Juan Azofra

Unidad de Cirugía Artroscópica

Clínica USP La Esperanza

01002 Vitoria-Gasteiz

e-mail: juan.azofra@cle.uspeurope.com

La utilización de plasma autólogo rico en factores de crecimiento (PRGF), tiene como objetivo mejorar la evolución quirúrgica, reforzando y potenciando el proceso de reparación fisiológica, además de permitir una regeneración más rápida y de mayor calidad en los tejidos conjuntivos dañados. Se describe el método de aplicación de PRGF en la cirugía artroscópica de las plastias del ligamento cruzado anterior. Se compara la evolución clínica en 50 plastias realizadas sin PRGF y 50 plastias aplicando PRGF. Cuando se utiliza PRGF, asociado a la cirugía, las complicaciones postoperatorias y los signos inflamatorios son menores, se acelera la cicatrización de las heridas y la integración de la plastia. La utilización de PRGF no implica ningún riesgo ni complicación para el paciente, y los beneficios de su aplicación son considerables.

Palabras clave: Artroscopia de rodilla, reconstrucción del ligamento cruzado anterior, factores de crecimiento.

Use of autologous plasma rich in growth factors in arthroscopic surgery. The application of an autologous plasma rich in growth factors (PRGF), is beneficial in restoring connective tissues through the enhancement and acceleration of the healing process. This is achieved by creating conditions that allowed natural healing to proceed. The procedure for the application of PRGF during the reconstruction of the anterior cruciate ligament (ACL) is described. Clinical outcome following ACL reconstruction, with and without PRGF, was evaluated. Postoperative complications and inflammation are reduced; healing and remodeling rates of the autologous tendon graft are improved with the use of PRGF. It has not got risks and the benefits for the patient are enormous.

Key words: Knee arthroscopy, ACL reconstruction, growth factors.



E

n la actualidad, los avances en las diferentes especialidades de la medicina se deben al esfuerzo y a la par-

ticipación de distintas ramas de la ciencia: bioingeniería, informática, química, biología y medicina. De esta colaboración entre discipli-

nas han surgido progresos espectaculares en los últimos años; obtener aplicaciones clínicas prácticas derivadas de estas investigaciones biológicas y moleculares es uno de los retos a los que ahora nos enfrentamos⁽¹⁾.

Entre los objetivos prioritarios de estas disciplinas está averiguar los mecanismos moleculares que controlan la señalización celular y conducen a la regeneración de los tejidos conjuntivos: cartílago, hueso y tejidos conjuntivos blandos.

Estos conocimientos aportan una nueva percepción de los procesos fisiológicos implicados en la reparación y regeneración de estos tejidos y permiten el desarrollo de nuevos abordajes terapéuticos.

Las proteínas son las responsables directas del estado y destino celulares en las distintas situaciones patológicas o traumatológicas; dentro de este contexto biológico están los factores de crecimiento, que controlan la evolución de los procesos de regeneración y reparación de los distintos tejidos. Los factores de crecimiento tienen capacidad para regular funciones celulares importantes como son la proliferación, migración y diferenciación celular y síntesis de matriz extracelular, todos ellos procesos esenciales en la reparación y regeneración^(2,3).

Estudios recientes *in vivo* e *in vitro* han mostrado aumentos significativos en parámetros indicadores de la actividad celular, así como mejoría de la regeneración mediante la aplicación de diversos factores de crecimiento^(4,5,6).

También, derivado de estos trabajos de investigación, se sabe que la expresión de los factores de crecimiento y de sus receptores se encuentra modulada después de una lesión y las células de los tejidos en proceso de regeneración son sensibles a la interacción con los factores de crecimiento^(7,8).

A pesar de las evidencias experimentales en modelos animales y cultivos celulares, hasta ahora no existían evidencias clínicas del potencial terapéutico de los factores de crecimiento en el área de la Traumatología^(9, 10).

Nuestro trabajo está basado en la utilización de un plasma autólogo rico en factores de crecimiento (PRGF), obtenido de la sangre del propio paciente, mediante un procedimiento sencillo. Nuestra hipótesis se basa en que la presencia de PRGF en el lugar de la lesión acelera la regeneración de los tejidos locales mediante un mecanismo que reproduce las etapas fisiológicas iniciales de la reparación tisular⁽¹¹⁾.

Este proceso implica, inicialmente, la formación de un trombo que garantice la hemostasia. Atrapadas en este trombo se encuentran las plaquetas, cuya función fisiológica reconocida hasta ahora era impedir el sangrado, pero en la actualidad, y como resultado de estudios recientes, se les asigna el papel de transportadoras de distintas proteínas⁽¹²⁾. Una vez activadas las plaquetas, liberan diversas proteínas entre las que se encuentran: el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante beta-1 (TGF- β_1), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF), factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I) y factor de crecimiento epidérmico (EGF)^(13,14). Esta combinación de sustancias actúa sobre las células locales provocando respuestas específicas.

Las primeras aplicaciones clínicas del PRGF autólogo fueron en cirugía oral⁽¹⁵⁾. El beneficio clínico obtenido en esta especialidad se debe a la capacidad de estas proteínas para acelerar la reparación de los tejidos blandos, así como la regeneración ósea en la preparación de áreas futuras para la colocación de implantes dentales⁽¹⁶⁾. Estos resultados clínicos en el área de la implantología oral, junto con los trabajos experimentales en cultivos celulares y modelos animales citados anteriormente, sientan las bases para la utilización del PRGF en Traumatología.

El objetivo de este trabajo es describir nuevas estrategias de aplicación de PRGF en la cirugía artroscópica. Hemos elegido las plastias de LCA ya que disponemos de una casuística considerable (más de 75 pacientes con plastias de LCA en los que se ha aplicado PRGF) y más de un año y medio de evolución (comenzamos a aplicarlo a finales de 2001).

MATERIAL Y MÉTODOS

Para valorar las ventajas de la utilización del PRGF se ha realizado un estudio retrospectivo, utilizando los datos extraídos de las historias clínicas de 100 plastias de LCA realizadas en la Unidad de Cirugía Artroscópica, Clínica USP La Esperanza, Vitoria-Gasteiz

Se han dividido en dos grupos:

Grupo A: 50 últimas plastias realizadas sin PRGF.

Grupo B: primeras 50 plastias realizadas con PRGF.

Descripción de los grupos

• Grupo A

Edad media: $26,7 \pm 8,4$ años.

- 41 plastias de pata de ganso tetrafasciculares, fijación transversa transcondílea.

- 9 aloinjertos de tendón rotuliano congelado.

Gestos adicionales sobre meniscos y/o lesiones condrales:

58% (29 rodillas):

- Menissectomías: 13 internas, 4 externas, 1 doble.

- 8 suturas meniscales.

- 3 desbridamientos sobre lesiones osteocondrales.

• Grupo B

Edad media: $29,6 \pm 9,5$ años

- 39 plastias de pata de ganso tetrafasciculares, fijación transversa transcondílea.

- 11 aloinjertos de tendón rotuliano congelado.

Gestos adicionales sobre meniscos y/o lesiones condrales:

76% (38 rodillas):

- Menissectomías: 10 internas, 10 externas y 4 dobles.

- 9 suturas meniscales.

- 7 desbridamientos sobre lesiones osteocondrales.

TÉCNICA QUIRÚRGICA

Preparación del PRGF

Se realiza una extracción de 40 ml de sangre al paciente mediante punción venosa, unos minutos antes de comenzar la cirugía y de la administración de la anestesia.

La sangre se recoge en tubos que contienen citrato sódico 3,8% como anticoagulante.

El plasma se separa mediante centrifugación a 450 g (1800 rpm) durante ocho minutos (PRGF System III, BTI, Vitoria-Gasteiz) (**Figura 1A**).

El volumen de plasma por tubo de 4,5 ml, que se obtiene tras la centrifugación, será de unos 2 ml, cuando el hematocrito esté dentro de los parámetros clínicos habituales.

Como resultado de esta centrifugación se consigue un gradiente en la concentración de plaquetas, siendo la cantidad de plaquetas máxima en la fracción plasmática de 0,5 ml situada inmediatamente por encima de la serie roja (**Figura 1B**).

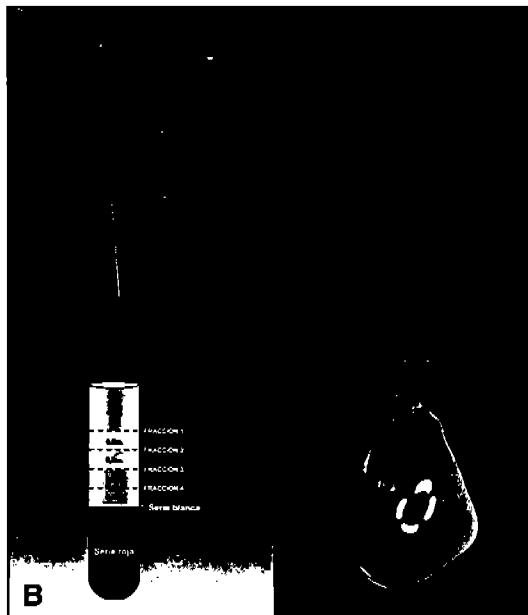


Figura 1. A) Equipo para la obtención de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF); B) Separación de las diferentes fracciones plasmáticas en un gradiente de densidad; C) Coágulo recién formado, rico en factores de crecimiento.

Utilizando este procedimiento, se obtienen cuatro fracciones plasmáticas que se diferencian en el contenido de factores de crecimiento: la fracción situada inmediatamente por encima de la serie roja es muy rica en plaquetas y en factores de crecimiento; dicha fracción, además de contener mayor número de plaquetas, contiene las plaquetas más densas, con mayor contenido de factores de crecimiento. Para activar las plaquetas y coagular el fibrinógeno, se añaden 50 μ l de cloruro cálcico por cada ml de plasma. Dependiendo de la aplicación concreta, esta preparación se utilizará directamente en estado líquido, para que la coagulación ocurra en el lugar de la lesión. Como alternativa, se dejará coagular en el tubo o en el recipiente adecuado y se colocará a continuación (**Figura 1C**).

Aplicación del PRGF en cirugía artroscópica

La aplicación del PRGF apenas interfiere en los gestos habituales de las técnicas de las plastias con pata de ganso o HTH. Así, los tendones (autólogos o aloinjertos), una vez obtenidos, se colocan en un recipiente estéril con el PRGF

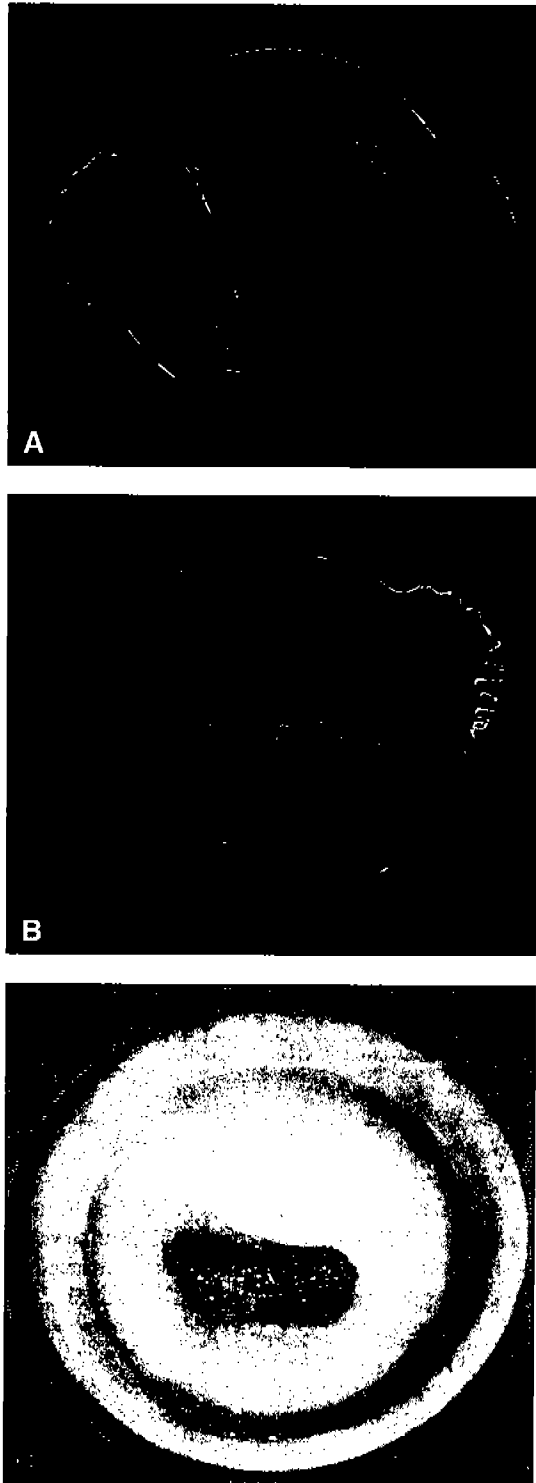


Figura 2. Injertos bañados por el PRGF en recipientes estériles. A) Aloinjerto de tendón rotuliano. B) Tendones semitendinoso y recto interno. C) Taco óseo de tibia.

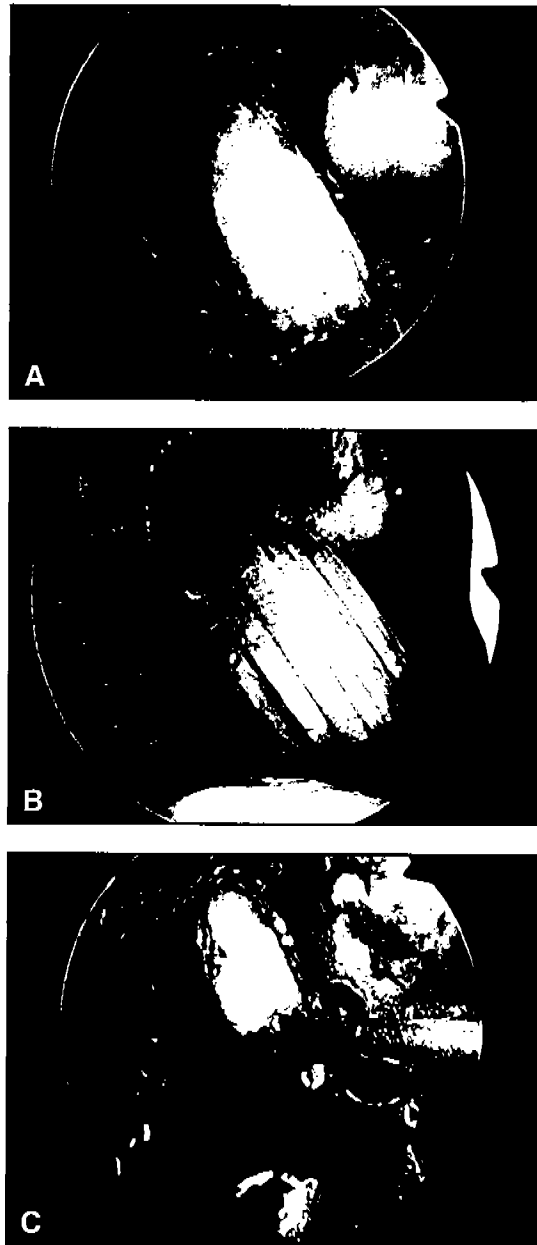


Figura 3. Imágenes artroscópicas en "vacío" de plastias impregnadas con PRGF. A) Aloinjerto. B) Pata de ganso. C) Infiltración de plastia con PRGF.

"activado", de forma que se van a emparar con fibrina y factores de crecimiento (Figuras 2A y 2B). La fibrina va a servir de adherente inicial, además de favorecer la migración y el soporte de las células implicadas en la reparación, acelerando y favoreciendo la integración de la plastia. En nuestra técnica con "pata de ganso"

Tabla I

RESULTADOS OBTENIDOS		
Evolución clínica	Grupo A 50 pacientes (sin PRGF)	Grupo A 50 pacientes (con PRGF)
Presencia de grandes hematomas postoperatorios que cursan con dolor, edema pretibial y febrícula.	18% (9 pacientes)	6% (3 pacientes)
Presencia de hematomas menores	30% (15 pacientes)	16% (8 pacientes)
Artritis infecciosa (se resolvieron con sinovectomía, lavado artroscópico y tratamiento antibiótico, 6 semanas)	2% (1 paciente)	2% (1 paciente)
Derrames postoperatorios que al menos requirieron de una artrocentesis evacuadora	26% (13 pacientes)	24% (12 pacientes)
El síndrome del "Cíclope" ha obligado a realizar una artrolysis	6% (3 pacientes)	2% (1 paciente)
Manipulaciones forzadas	4% (2 pacientes)	0
Rodillas perfectamente estables	70% (35 pacientes)	82% (41 pacientes)
Rodillas que presentan una maniobra de Lachman con un tope anterior, con test dinámico (pivot-shift) negativo ó insinuación del mismo.	30% (15 pacientes)	18% (9 pacientes)
Movilidad completa	62% (31 pacientes)	62% (31 pacientes)
La limitación de la flexión por debajo de los 120°	4% (2 pacientes)	4% (2 pacientes)
Falta de extensión, sin contar los casos de cíclopes: "flexo" menor ó igual a 5° y tolerable.	8% (4 pacientes)	18% (9 pacientes)

también empapamos el taco óseo obtenido del túnel tibial (Figura 2C) para, posteriormente, reponerlo en el mismo túnel y aumentar la fijación de la plastia.

Cuando finalmente se introduce la plastia intraarticular (Figuras 3A y 3B), se cierra la entrada del suero de irrigación para evitar arrastrar el PRGF y se aspira el suero de la articulación para evitar diluirlo. Una vez colocada la plastia, el PRGF activado (pero aún en forma líquida) se infiltra con una aguja (Figura 3C) el interior de la plastia, los túneles y la condiloplastia.

A nivel de las zonas donantes (inserción en metafisis tibial interna para "pata de ganso" o

en su caso en la rótula, TTA y tendón rotuliano para los HTH) se coloca el PRGF activado en forma coagulada para favorecer la hemostasia y la reparación de la zona.

RESULTADOS

Los datos obtenidos de las historias clínicas correspondientes a las 50 últimas plastias realizadas antes de la utilización del PRGF y las 50 primeras plastias en las que se utilizó PRGF son los siguientes (Tabla I).

En las exploraciones radiológicas, realizadas al mes de la intervención, se ha objetivado en

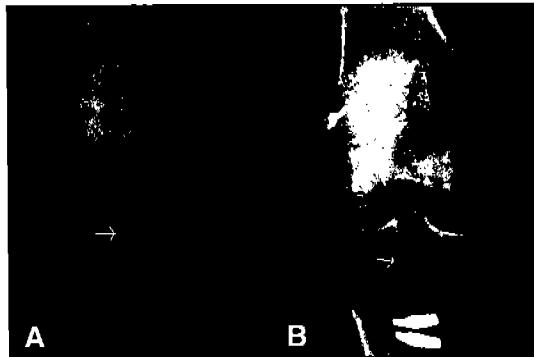


Figura 4. Radiografías postoperatorias, al mes de la intervención. Se observa la diferente integración de los túneles tibiales (flechas). A) Con PRGF; B) Sin PRGF.

el grupo B, que los túneles óseos de la tibia apenas son visualizados en comparación con las radiografías del grupo A (Figuras 4A y 4B).

La imagen artroscópica de la plastia, en una reintervención realizada en el grupo B (extracción de grapas) a los ocho meses de la intervención, muestra un excelente aspecto (Figura 5A) y una óptima integración de la plastia, que también se aprecia en las imágenes de resonancia magnética (Figura 5B).

DISCUSIÓN

Durante los últimos años, en el área de la Traumatología, se ha puesto un énfasis especial en los aspectos mecánicos. En la actualidad, se reconoce que el entorno mecánico tiene una gran influencia en la regeneración de los tejidos músculo-esqueléticos, pero no se puede ignorar el entorno biológico y los aspectos celulares. Las bases racionales para el tratamiento de lesiones traumatológicas dependerá, por tanto, de la interacción de los elementos biológicos con el entorno mecánico y de la optimización de ambos^(17,18).

En este sentido, se han desarrollado en la actualidad múltiples líneas de investigación que estudian cómo mejorar, por ejemplo, la integración de las prótesis al hueso, la regeneración precoz de tejidos blandos o la formación acelerada del callo de fractura, procurando conseguir una recuperación funcional óptima, en un periodo de tiempo lo más corto posible. Dentro de este contexto, en los últimos tiempos han aparecido múltiples trabajos dedicados al estudio y a la utilización clínica de las proteínas



Figura 5. A) Aspecto artroscópico de la plastia del ligamento cruzado anterior tetrafascicular de "pata de ganso", tratado con PRGF, después de ocho meses. B) Aspecto con RM.

morfogenéticas, BMPs^(19,20,21) y de los factores de crecimiento^(22,23), el objeto de estos estudios es determinar las combinaciones más adecuadas de estas proteínas y con mayor potencia, el tiempo de exposición más eficaz, las dosis terapéuticas más efectivas, así como definir los vehículos adecuados para su liberación.

Mientras se avanza en este sentido, la utilización clínica de los factores de crecimiento plaquetarios es una alternativa eficaz. En los tejidos intraarticulares, es posible que las dificultades en la reparación pueden ser debidas a la falta de vascularización, tras la lesión; en este sentido, en la actualidad se realizan trabajos experimentales en animales, para valorar el papel del VEGF y de sus receptores en la remodelación de los injertos de tendón utilizados en la reconstrucción del ligamento cruzado anterior⁽⁷⁾. La preparación de PRGF que utilizamos contiene, entre otras proteínas, una concentración considerable del factor de crecimiento derivado de las plaquetas, PDGF, al que se le atribuyen importantes efectos mitógenos. La aplicación de PRGF intraarticular va a provocar, por tanto, la proliferación de las células locales

de los tejidos conjuntivos densos, facilitando la reparación.

Los excelentes resultados obtenidos por el Dr. E. Anitua en el campo de la implantología dental nos animaron a incorporar la utilización de PRGF en nuestra especialidad. En octubre de 2001, iniciamos la aplicación de PRGF en diferentes patologías y situaciones como úlceras cutáneas, roturas tendinosas⁽¹⁰⁾ y musculares, fracturas, pseudoartrosis, lesiones condrales⁽⁹⁾ y plastias de LCA, consiguiendo grandes beneficios para nuestros pacientes.

Nuestros datos clínicos indican que la utilización de PRGF favorece la minimización de hematomas y de signos inflamatorios en el pe-

ríodo postoperatorio; el proceso de recuperación es mejor tolerado, ya que disminuye el dolor, y además es más rápido. También parece que se acelera la integración de la plastia, hecho que podemos observar al valorar la integración de los túneles en las radiografías simples (**Figura 4A**) y en las resonancias (**Figura 5B**).

El análisis de las observaciones clínicas indica que el grupo con PRGF presenta un mayor número de rodillas estables; los tests exploratorios (Lachman y Pivot-Shift) que se realizaron transcurridos seis meses de la intervención indican que el grupo tratado con PRGF presenta un mayor índice de estabilidad.

BIBLIOGRAFÍA

- Pollard Th. The Future of Biomedical Research: From the inventory of genes to understanding physiology and the molecular basis of disease. *JAMA* 2002; 287 (13): 1725-1727.
- Bennett NT, Schultz GS. Growth Factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg* 1993; 165 (6): 728-7373.
- Bennett NT, Schultz GS. Growth Factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg* 1993; 166 (1): 74-81.
- Abrahamsson SO. Similar effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and II on cellular activities in flexor tendons of young rabbits: experimental studies *in vitro*. *J Orthop Res* 1997; 15: 256-262.
- Okazaki R, Sakai A, Uezono Y, Ootsuyama A, Kunugita N, Nakamura T, Norimura Y. Sequential changes of transforming growth factor (TGF)-beta1 concentration in synovial fluid and mRNA expression of TGF-beta1 receptors in chondrocytes after immobilization of rabbit knees. *J Bone Miner Metab* 2001; 19: 228-235.
- van Der Berg WB, van Der Kraan PM, Scharstul A, van Beuningen HM. Growth factors and cartilage repair. *Clin Orthop* 2001; 391: S244-S250.
- Petersen W, Unterhauser F, Pufe Th, Zantop Th, Südkamp NP, Weiler A. The angiogenic peptide vascular endothelial growth factor (VEGF) is expressed during the remodelling of free tendon grafts in sheeps. Springer-Verlag 2003.
- Byzova TV, Goldman CK, Pampori N, Thomas KA, Bett A, Shattil SJ, Plow EF. A mechanism for modulation of cellular responses to VEGF: activation of integrins. *Molecular Cell*, 2000; 6: 851-860.
- Sánchez M, Azofra J, Anitua E, Andía I, Padilla S, Mujika I. Use of autologous plasma rich in growth factors in the treatment of a large, non-traumatic avulsion of articular cartilage: a case report. *Med Sci Sport Exer*, 2002.
- Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andía I, Padilla S, Mujika I. Enhanced Achilles tendón healing with autologous plasma rich in growth factors. *Br J Sports Med*, 2003.
- Anitua E, Andía I. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. Ed. Eduardo Anitua, Puesta al Día Publicaciones, 2000.
- Zimmerman GA, McIntyre TM, Prescott SM, Stafforini DM. The platelet-activating factor signalling system and its regulator in syndromes of inflammation and thrombosis. *Crit Care Med*, 2000; 30: S294-301.
- Redd GL, Fitzgerald ML, Polgár J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the "secrete" life of thrombocytes. *Blood*, 2000; 96 (10):3334-3342.
- Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets* 2001; 12: 261-273.
- Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999; 14: 529-35.
- Anitua E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Pract Proced Aesthet Dent* 2001; 13: 487-493.
- Bonn D. The application of cell biology to broken bones. *The Lancet*, 1999; 353: 650-653.
- Sandell L, Silva MJ. What's new in orthopaedic research. *J Bone*

- Joint Surg Am 83-A (7): 1117-1124.
19. Uludag H, Gao T, Porter Th, Friess W, Wozney J. Delivery systems for BMPs: factors contributing to protein retention at an application site. J Bone Joint Surg Am 2001; 83 (A): 128-135.
 20. Wikesjö U, Sorensen R, Wozney JM. Augmentation of alveolar bone and dental implant osseointegration: clinical implications of studies with rhBMP-2: a comprehensive review. J Bone Joint Surg Am 2001; 136-145.
 21. Reddi AH. Bone morphogenetic proteins: from basic science to clinical applications. J Bone Joint Surg Am 2001; 83 (A): 1-6.
 22. Howell HT, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. J Periodontol 1997; 68: 1186-1193.
 23. Folkman J, Browder J, Palmblad J. Angiogenesis Research: Guidelines for translation to clinical applications. Thromb Haemost 2001; 86: 23-33.