



**Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza**



Trabajo Fin de Grado en Veterinaria

Productos ortobiológicos aplicados a patologías del aparato locomotor equino.

Orthobiologics application in pathologies of the equine locomotor system.

Autor/es

Caterina Isabel Mateu Capó

Director/es

Laura Barrachina Porcar
Alina Cequier Soler

Facultad de Veterinaria

2021

Índice

1. Resumen / Abstract.....	1
2. Introducción	2
2.1 Tendinopatía del tendón flexor digital superficial y desmitis del ligamento suspensor del menudillo	4
2.2 Osteoartritis	7
3. Justificación y objetivos.....	9
4. Metodología	10
5. Resultados y discusión	10
5.1 Productos ortobiológicos celulares	11
5.1.1 Productos con células progenitoras.....	11
a) Células madre mesenquimales	12
b) Fracción vascular estromal derivada del tejido adiposo.....	17
c) Concentrado de aspirado de médula ósea.....	18
d) Células madre pluripotentes inducidas.....	20
5.1.2 Productos ortobiológicos celulares sin células progenitoras.....	20
a) Plasma rico en plaquetas	21
b) Fibrina rica en plaquetas.....	23
c) Implante autólogo de condrocitos	24
5.2 Productos ortobiológicos acelulares	25
a) Suero autólogo condicionado	25
b) Solución proteica autóloga.....	26
Conclusiones / Conclusions.....	28
Valoración personal	29
Bibliografía	29

1. Resumen / Abstract

Las patologías del aparato locomotor de los équidos son de especial importancia dada su gran casuística y la deficiente capacidad de reparación de los tejidos que componen dicho aparato. Los productos ortobiológicos se plantean como una alternativa terapéutica a las terapias convencionales, promoviendo la cicatrización del tejido lesionado y buscando reestablecer su función y arquitectura original. Por esta razón, el principal objetivo de este trabajo de Fin de Grado es el de revisar el estado actual de los principales productos ortobiológicos aplicados al aparato locomotor de los équidos, mediante una revisión bibliográfica.

Actualmente, existen múltiples productos ortobiológicos que en este trabajo se han clasificado en celulares y acelulares. La falta de estandarización de los protocolos de obtención de cada uno de estos productos, junto con sus complejos mecanismos de acción, hace que sea complicado evaluar su efecto terapéutico. De entre los productos revisados, los que a día de hoy han demostrado una mayor efectividad en patologías músculo-esqueléticas equinas son las células madre mesenquimales, el aspirado concentrado de médula ósea y el plasma rico en plaquetas. Aun así, los productos ortobiológicos revisados requieren todavía de más investigación acerca de sus mecanismos de acción, efectividad y protocolos terapéuticos.

The pathologies of the equine locomotor system are of major relevance due to their high incidence and the poor healing capacity of the tissues involved. Orthobiological products are considered a therapeutic alternative to conventional therapies because of their ability to promote healing of the damaged tissue, aiming to re-establishing its original function and architecture. For this reason, the overall objective of this final degree project is to review the current knowledge on the main orthobiologics used to treat the equine locomotor system by conducting a literature review.

There are many orthobiologics currently used in equine practice, which in this work have been classified into cellular or acellular products. The lack of standardisation of protocols for obtaining these products, along with their complex mechanisms of action, makes it difficult to evaluate their therapeutic effect. Among the products revised, those that have so far shown the greatest effectiveness in equine musculoskeletal pathologies are mesenchymal stem cells, bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich plasma. However, all of the revised orthobiologics still require further research into their mechanisms of action, effectiveness and therapeutic protocols.

2. Introducción

La industria equina es un sector con gran importancia económica a nivel estatal, suponiendo un 0,51% del producto interior bruto (PIB) de España, y que moviliza alrededor de 5.300 millones de euros al año (Deloitte, 2013).

En España, en 2020 el censo de équidos se situó en 630.700 animales; localizándose el 30% (206.000 caballos) en Andalucía. Además, el número de explotaciones equinas se situó en 189.452. El 90% de estas explotaciones están enfocadas al caballo de deporte y de ocio, mientras que solo un 10% están dedicadas a la producción de carne de equino (Subdirección general de producciones ganaderas y cinegéticas y Ministerio de agricultura, pesca y alimentación, 2020).

Dada la importancia del caballo en las diferentes disciplinas deportivas, las patologías que provocan una disminución del rendimiento deportivo cuentan con una especial relevancia. Principalmente, la disminución del rendimiento se asocia a lesiones del aparato musculoesquelético. En un estudio realizado por Torricelli *et al.*, 2011 en caballos de carreras, el 82% de los animales que presentaban disminución del rendimiento deportivo era debido a patologías del sistema locomotor.

La principal consecuencia de las lesiones del aparato locomotor es el desarrollo de cojeras en los animales afectados, lo que supone una marcha anormal como manifestación de dolor, disfunción mecánica o déficit neuromuscular causada por anormalidades estructurales o funcionales del sistema músculo-esquelético (Davidson, 2018).

El diagnóstico de cojeras es el más comúnmente realizado en la clínica veterinaria equina (Scott, 2008), siendo más frecuente su presentación en las extremidades anteriores que en las posteriores (Singer *et al.*, 2008). Las patologías asociadas a las cojeras son habituales tanto en animales de competición como en animales destinados al recreo y al ocio, suponiendo una disminución significativa de su capacidad atlética e incluso pudiendo poner fin a su vida deportiva, dependiendo de la gravedad de la cojera.

Las lesiones del aparato musculoesquelético presentan además una limitada capacidad de reparación, asociada principalmente a la escasa vascularización de tejidos como tendones, ligamentos o cartílago. Este proceso de reparación tisular es largo, pudiendo llegar a prolongarse durante meses (Smith y Schramme, 2003). Ello conlleva grandes costes económicos, pudiendo ser tanto directos, como en el caso de los tratamientos veterinarios requeridos; como indirectos, asociados a la pérdida de uso del animal durante ese periodo de tiempo. Cabe destacar también que el tejido cicatricial que se forma tiene unas características

biomecánicas inferiores a las del tejido original, formándose un tejido más débil y menos elástico que es más propenso a volverse a dañar (Voleti, Buckley y Soslowsky, 2012). En un estudio retrospectivo realizado por Dyson *et al.*, 2004 sobre caballos de carreras de National Hunt, en Inglaterra, se concluyó que el 53% de los animales que padecían lesiones tendinosas acababan recidivando.

Dada la limitada capacidad de reparación de los diferentes tejidos que componen el sistema musculoesquelético, la necesidad de buscar tratamientos que permitan mejorar la cicatrización de estos tejidos es de gran interés. Los tratamientos convencionales utilizados en estas patologías siguen sin dar los resultados deseados, con tiempos largos de recuperación y altas tasas de recidiva de las lesiones (Ortved, 2018). Es por este motivo que las terapias biológicas avanzadas, más conocidas como medicina regenerativa, se plantean como una alternativa terapéutica en estos casos, cobrando mayor importancia en el sector en los últimos años (Ribitsch, Oreff y Jenner, 2021).

La medicina regenerativa tiene como objetivo reestablecer o restaurar la estructura y función normales de un órgano o tejido en caso de enfermedad, lesión, defectos congénitos o degeneración asociada a la edad (Mao y Mooney, 2015; Ribitsch, Oreff y Jenner, 2021). Inicialmente, este abordaje estaba más enfocado hacia el reemplazo o regeneración de células o tejidos, pero la aparición de nuevos productos terapéuticos y el mayor estudio de sus mecanismos de acción han ampliado esta definición y se ha acuñado el término de terapias biológicas avanzadas, caracterizadas por mejorar la reparación de un tejido utilizando los propios mecanismos del organismo (Glotzbach *et al.*, 2011).

Cuando dichas terapias se aplican al aparato locomotor, reciben el nombre de productos ortobiológicos. Existen diferentes productos de este tipo, aunque la mayoría de ellos siguen estudiándose e investigándose hoy en día. Además, la falta de estandarización de los protocolos terapéuticos empleados en diversos estudios dificulta la evaluación definitiva de los resultados generados (Ribitsch, Oreff y Jenner, 2021). Si bien se ha demostrado su potencial terapéutico, algunos de estos productos carecen todavía de suficiente evidencia contrastada acerca de su efectividad, que avalaría su uso en determinadas patologías.

Para comprender mejor el mecanismo de acción de los diferentes productos ortobiológicos, resulta esencial conocer las principales patologías del sistema locomotor de los équidos a los que van dirigidos estos productos: la tendinopatía del tendón flexor digital superficial, la desmitis del ligamento suspensor del menudillo y la osteoartritis.

2.1 Tendinopatía del tendón flexor digital superficial y desmitis del ligamento suspensor del menudillo

Los tendones y ligamentos son tejidos muy similares a nivel estructural, lo que hace que la fisiopatología de sus lesiones sea también muy semejante (Carmona y López, 2011).

Por un lado, el tendón flexor digital superficial (TFDS) es uno de los más frecuentemente lesionados en clínica equina, más comúnmente afectando a las extremidades anteriores (Estrada *et al.*, 2014). En un estudio retrospectivo realizado por Williams *et al.*, 2001 en caballos de carreras en Inglaterra, se observó que las lesiones parciales o la ruptura del TFDS eran la causa más frecuentemente diagnosticada de pérdida de uso deportivo de los animales objeto del estudio.

Por otro lado, la desmitis del ligamento suspensor del menudillo (LSM) es una patología muy común en la mayoría de caballos de deporte, responsable de hasta el 46% de todas las lesiones de las extremidades (Chavers *et al.*, 2018) y estando en algunos casos relacionada con una mala conformación de los aplomos del caballo (Routh *et al.*, 2019).

Ambas estructuras, TFDS y LSM, se caracterizan por ser tejidos muy resistentes, de gran elasticidad y capaces de extenderse en gran medida hasta alcanzar su límite o punto crítico. Tras este límite, el aumento de carga provoca una deformación plástica y, finalmente, la rotura del tendón o ligamento (Dowling y Dart, 2005). Esto puede suceder por un sobreesfuerzo agudo o a consecuencia del deterioro progresivo de la estructura por sobrecargas repetidas sin llegar al punto crítico. La respuesta de reparación de las lesiones teno-ligamentosas puede dividirse en tres etapas: inflamatoria, proliferativa y de remodelación. Estas tres fases pueden superponerse y carecen de puntos de inicio ni final claramente delimitados (Voleti, Buckley y Soslowsky, 2012; Thomopoulos *et al.*, 2015).

La fase inflamatoria, que se inicia rápidamente tras la lesión y dura unos días, se caracteriza por la infiltración de la zona lesionada con glóbulos rojos, células de la serie blanca y plaquetas, que portan gran cantidad de factores de crecimiento. La lesión en el tejido provoca una lesión celular, alteración del metabolismo basal y liberación de sustancias químicas que inician una respuesta inflamatoria (Voleti, Buckley y Soslowsky, 2012), asociada a un aumento de la permeabilidad vascular que permite la migración de células y otras sustancias al sitio de lesión (Thomopoulos *et al.*, 2015). En un primer momento se produce la formación de un coágulo de fibrina, que será eliminado posteriormente por macrófagos (Voleti, Buckley y Soslowsky, 2012), a la vez que se da un efecto de reclutamiento celular de fibroblastos, que

empiezan a sintetizar matriz extracelular (MEC) de forma activa y se inicia la neovascularización alrededor de la lesión (James *et al.*, 2008).

La fase proliferativa se inicia tan solo pasados unos días de la aparición de la lesión y puede durar hasta 6 semanas. Se caracteriza por una actividad sintética muy activa, dirigida por macrófagos y fibroblastos. Los macrófagos, cuyo papel pasa de fagocítico a reparativo tras unos días, liberan factores de crecimiento y dirigen el reclutamiento celular. Mientras tanto, los fibroblastos depositan MEC, compuesta esencialmente de colágeno tipo III, biomecánicamente inferior al colágeno tipo I que predomina en el tendón o ligamento sano (Voleti, Buckley y Soslowsky, 2012). Al final de esta fase, el tejido de reparación tiene una alta celularidad y gran cantidad de componentes de la MEC (James *et al.*, 2008).

La fase de remodelación se inicia de 6 a 8 semanas tras la lesión, y puede durar más de un año (Voleti, Buckley y Soslowsky, 2012). Durante esta etapa, se produce la reorganización de las nuevas fibras de colágeno que constituyen el tejido cicatricial formado durante la fase proliferativa (James *et al.*, 2008). Predomina la síntesis de colágeno tipo I, lo que favorece que la MEC se alinee. Además, la densidad celular y la actividad sintética van disminuyendo gradualmente. El tejido reparado que se genera tiene apariencia cicatricial, y nunca alcanza las características biomecánicas que poseía antes de la lesión (James *et al.*, 2008; Voleti, Buckley y Soslowsky, 2012; Thomopoulos *et al.*, 2015).

Los signos clínicos de la tendinopatía del TFDS incluyen dolor a la palpación del tendón, calor, aumento de volumen y cojera de la extremidad afectada, la cual puede ser sutil en estadios tempranos (Palmer *et al.*, 1994). El diagnóstico definitivo de la tendinopatía del TFDS se obtiene mediante un examen ecográfico del tendón, en el que se observaría la zona lesionada con una pérdida de ecogenicidad y disrupción de la alineación de las fibras tendinosas (Dik, 1998).

Los animales afectados por desmitis del LSM se caracterizan principalmente por sufrir una cojera de diferente grado en función de la localización y de la extensión de la lesión que presenten. En ocasiones puede apreciarse aumento de temperatura, dolor a la palpación e hinchazón de la zona; o simplemente una disminución del rendimiento deportivo del animal. El diagnóstico se basa en la confirmación de la zona de dolor mediante anestesias perineurales y la identificación de alteraciones en el ligamento mediante ecografía (Smith, 2008).

Como se ha mencionado, el largo tiempo de recuperación y la formación de tejido cicatricial hacen del tratamiento de estas patologías un desafío para los veterinarios clínicos. Cabe destacar que, a lo largo de todo el proceso de reparación e independientemente del protocolo

terapéutico que se instaure, la rehabilitación y el seguimiento de programas de ejercicio controlado optimizan el proceso de cicatrización (Reef, 2001; Smith, 2008).

En la fase aguda de la lesión, la crioterapia y los vendajes compresivos son terapias útiles para disminuir la inflamación y proporcionar analgesia por la aplicación de frío, así como para mejorar el drenaje linfático por la aplicación de vendajes compresivos suaves (Smith, 2008; Dahlgren, 2009).

El uso de corticoesteroides de corta duración en la fase hiperaguda de la lesión (en las primeras 24 horas) puede ser beneficioso para la cicatrización, pero hay que considerar que si se aplican en la fase crónica pueden inhibir la proliferación fibroblástica y, por lo tanto, retardar la cicatrización (Dowling *et al.*, 2000; Lake, Ansorge y Soslowsky, 2008). La administración de antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) puede ser de utilidad para reducir el edema, la inflamación y el dolor los primeros días tras la lesión, pero su utilización a largo plazo tiene numerosos efectos secundarios (Dahlgren, 2009). Por otro lado, el uso intralesional de glucosaminoglicanos polisulfatados (PSGAGs) está indicado en la fase inflamatoria para reducir la inflamación y el dolor (Dahlgren, 2009), además de tener efectos positivos en la reparación del tejido (Oryan, Goodship y Silver, 2008).

En determinadas lesiones el tratamiento puede ser quirúrgico, existiendo varias opciones en estos casos. En la tendinopatía del TFDS puede realizarse el “splitting” del TFDS, que consiste en la realización de una o varias secciones en el eje longitudinal del tendón en la zona cicatricial (McIlwraith, 2020). Esta técnica se ha descrito tanto en casos de tendinopatía aguda como en crónica (Dowling *et al.*, 2000). Otras opciones incluyen la desmotomía del ligamento anular, en caso de que la lesión se encuentre en la zona del TFDS contenido por este ligamento (Henninger, 1994; Reef, 2001; Smith, 2008), o la fasciotomía (Smith, 2008). Para el tratamiento quirúrgico de lesiones crónicas del LSM se han propuesto técnicas como la fasciotomía plantar o la neurectomía plantar lateral (Bonilla-Gutiérrez, López y Carmona, 2019).

El tratamiento quirúrgico puede presentar múltiples complicaciones, como la inflamación de la zona de incisión, dehiscencia de sutura e infección de la herida (Tnibar, 2010). Además, no asegura que el animal vuelva posteriormente al nivel previo de actividad deportiva. A todo esto, hay que añadir los costes económicos que conlleva la cirugía, los cuidados postoperatorios y el manejo de una adecuada rehabilitación (Smith, 2008).

En conclusión, aunque existen gran cantidad de opciones terapéuticas diferentes para patologías tendinosas y ligamentosas, ninguna presenta resultados de gran efectividad;

generalmente asociándose a altas tasas de recidivas y a un aumento del contenido de colágeno de tipo III, con propiedades biomecánicas inferiores al tejido original (Smith, 2008).

2.2 Osteoartritis

La osteoartritis (OA) o enfermedad degenerativa articular es una patología común en los caballos, siendo la causa más importante de pérdida de uso deportivo de estos animales (van Weeren y Back, 2016). Se estima que más del 60% de las cojeras se asocian a la OA (McIlwraith, Frisbie y Kawcak, 2012), llegando a afectar hasta al 50% de los caballos de más de 15 años (van Weeren y Back, 2016). Se trata de una patología que no afecta de manera exclusiva al cartílago, sino que se ven alterados también el hueso subcondral, ligamentos perio intra-articulares, la cápsula y la membrana sinovial (McIlwraith, Frisbie y Kawcak, 2012). Esto es debido a que distintas alteraciones de la articulación pueden llevar a un estadio final caracterizado por el deterioro progresivo del cartílago articular, acompañado de inflamación de la membrana sinovial y cambios en el hueso subcondral y en los tejidos blandos de la articulación (McIlwraith, 2020). En estadios avanzados puede acabar causando el fin de la carrera deportiva del animal y provocar cojeras permanentes (Gaughan, 2012), asociados a la degeneración del cartílago articular con fisuras, ulceración y pérdida del grosor articular (McIlwraith, Frisbie y Kawcak, 2012).

Aunque anteriormente se creía que la OA era el resultado del desgaste del cartílago articular, a día de hoy se ha observado que su fisiopatología implica interacciones mecánicas y bioquímicas complejas entre la membrana sinovial, el cartílago, el hueso subcondral y periarticular, y los tejidos blandos estabilizadores de la articulación (Berenbaum, 2013). El daño de uno o más de estos tejidos articulares podría iniciar un ciclo perpetuador de cambios degenerativos en el conjunto articular, a través de la liberación de mediadores inflamatorios, traumatismos directos, pérdida de la estabilidad articular o de la capacidad de absorción del impacto (McIlwraith, 2020). De hecho, la sinovitis en particular se reconoce ahora como una característica crítica en el desarrollo y progresión de la OA (Berenbaum, 2013; McIlwraith, 2020).

Sea cual sea la causa inicial de esta patología, el desarrollo de la OA está generalmente asociado a la liberación de una cascada de sustancias bioquímicamente activas como citoquinas, enzimas proteolíticas y otras sustancias pro-inflamatorias. El resultado es una pérdida del equilibrio entre los factores que promueven la síntesis de la MEC del cartílago (anabolismo) y los que inducen la remodelación de este tejido (catabolismo). En consecuencia, aparecen las características patológicas de las articulaciones afectadas, que incluyen osteólisis,

esclerosis del hueso subcondral, osteofitosis, erosión del cartílago articular y engrosamiento de la membrana sinovial (Carmona y Prades, 2009).

La sintomatología del animal depende tanto de la severidad de la causa inicial como del estadio de progresión de la degeneración articular. De manera general, la distensión de la cápsula articular es uno de los signos más tempranos de OA, asociada a un aumento del líquido sinovial en la articulación. En estadios tempranos esta efusión puede acompañarse de dolor y aumento de la temperatura de la zona, manifestando cojeras de mayor grado (3-5/5). En cambio, al cronificarse la lesión, la temperatura regional vuelve a la normalidad y disminuye la sensación de dolor, por lo que las cojeras son más leves (1-2/5). Además, en animales con OA el grado de claudicación mejora tras el calentamiento, y se agrava por la flexión articular (Gaughan, 2012).

En cuanto al diagnóstico de la OA, la sintomatología y la historia del animal van a ser claves para la orientación del mismo. Tras la localización de la zona del dolor mediante anestesias perineurales e/o intra-articulares, deberá procederse a la realización de radiografías para detectar alteraciones en la articulación. Las alteraciones radiográficas de articulaciones afectadas por la OA incluyen osteofitosis, esclerosis del hueso subcondral y pérdida del espacio articular. Hay que tener en cuenta que la imagen radiológica sin estos hallazgos en la articulación no excluye la posibilidad de OA, por lo que pueden ser necesarias técnicas complementarias para el diagnóstico de esta patología, como la artroscopia, la ecografía o la resonancia magnética (McIlwraith, 2010). Además, la evaluación del contenido de proteínas y del recuento leucocitario del líquido sinovial, así como la cuantificación de ciertos mediadores inflamatorios, puede resultar también útil (Gaughan, 2012).

El tratamiento convencional de la OA se ha centrado en el bloqueo de la cascada inflamatoria, bien mediante la neutralización de las ciclooxygenasas o bien de la fosfolipasa A2, mediante el uso de AINEs o corticoesteroides; tanto a nivel sistémico como a nivel intraarticular, respectivamente (Carmona y Giraldo-Murillo, 2007).

Por otro lado, el ácido hialurónico (HA) o hialuronano tiene diversas funciones en la articulación, contribuyendo a la lubricación de la misma y atribuyéndosele también efectos antiinflamatorios. Su administración intraarticular puede resultar beneficiosa al aumentar también la síntesis endógena de hialuronano por parte de los sinoviocitos (Goodrich y Nixon, 2006).

Otra opción terapéutica es la administración intraarticular de PSGAGs, que podrían tener efectos inhibitorios sobre la cascada inflamatoria a nivel del cartílago articular y la membrana sinovial (Goodrich y Nixon, 2006).

El tratamiento de esta patología también puede ser quirúrgico. En articulaciones poco móviles puede realizarse una artrodesis, cuyo objetivo es que la articulación se anquilose mediante la destrucción del cartílago articular. En cambio, en articulaciones muy móviles el objetivo del tratamiento quirúrgico es completamente diferente, buscando la reparación articular y una mejoría del movimiento de la articulación. En este caso, existen diferentes técnicas que se han agrupado en tres categorías: tratamientos paliativos, reparativos y restaurativos. Los tratamientos paliativos se basan en el desbridamiento de todo el grosor del cartílago articular en las zonas afectadas para promover la cicatrización del tejido (Cokelaere, Malda y van Weeren, 2016). Los tratamientos reparativos, como la condroplastia por abrasión o la microfractura, buscan exponer el cartílago dañado al espacio medular del hueso articular, con el objetivo de estimular la reparación espontánea del cartílago (Hunziker *et al.*, 2015; Cokelaere, Malda y van Weeren, 2016). Estos tratamientos generan un tejido de reparación de tipo fibrocartilaginoso con propiedades funcionales inferiores al cartílago hialino original, motivo por el cual surge la necesidad de buscar nuevas opciones terapéuticas.

Surgen así los tratamientos restaurativos, que se basan tanto en el trasplante de tejidos o células especializadas, como en el uso de células progenitoras para intentar que el tejido cicatricial sea biomecánica y anatómicamente funcional (Cokelaere, Malda y van Weeren, 2016).

3. Justificación y objetivos

Las patologías del aparato locomotor son una de las principales causas de pérdida de rendimiento deportivo en el caballo, y muchas de ellas no cuentan con un tratamiento definitivo. Si bien suponen grandes pérdidas económicas, el tratamiento convencional para estas patologías sigue sin dar los resultados óptimos en cuanto a la reparación de los tejidos lesionados. Además de su importancia como paciente, el caballo se considera un modelo animal para el estudio en las patologías musculoesqueléticas con gran potencial de traslación a la especie humana para evaluar la eficacia y seguridad de nuevos tratamientos. Todo esto ha promovido el interés y la necesidad de buscar nuevas opciones terapéuticas que proporcionen mejores resultados, planteándose los productos ortobiológicos como una alternativa a los tratamientos convencionales que pueden resultar útiles para el tratamiento de patologías locomotoras.

Por todo ello y por la importancia de estos productos en el presente y futuro de la clínica equina, el objetivo principal de este trabajo fin de grado es el de revisar el estado actual de los principales productos ortobiológicos de interés para las patologías locomotoras del caballo. Para ello, se ha realizado una revisión bibliográfica planteando los siguientes objetivos específicos:

- Identificar los productos ortobiológicos más estudiados en patologías musculoesqueléticas en la especie equina.
- Describir los protocolos de obtención, mecanismos de acción y propiedades atribuidos a los productos ortobiológicos para las patologías del apartado locomotor equino.
- Revisar el estado de conocimiento actual sobre la efectividad de los productos e identificar cuales cuentan con mayor evidencia sobre su efectividad terapéutica.

4. Metodología

La metodología empleada para alcanzar los objetivos propuestos ha consistido en la revisión de bibliografía sobre el uso de productos ortobiológicos utilizados para el tratamiento de patologías musculoesqueléticas equinas. Para ello se ha realizado la búsqueda de información en textos especializados, como artículos científicos, actas de congresos y trabajos académicos. Las herramientas empleadas para la búsqueda de la información han sido bases de datos informatizadas como Pubmed, Web of Science, Science direct y Google Scholar. Las principales palabras clave han sido: “orthobiological products”, “regenerative medicine”, “horse” o “musculoskeletal injuries”. Además, se amplió la búsqueda utilizando términos más específicos para cada producto revisado, como “mesenchymal stem cells”, “platelet rich plasma” o “autologous protein solution”. Se ha consultado bibliografía redactada en inglés y en español y publicada a partir del 2010, aunque se han incluido algunas citas más antiguas debido a su relevancia. Además, también se ha incluido bibliografía de la especie canina y de medicina humana en aquellos casos en los que la información en équidos es limitada. Para la administración de referencias bibliográficas se ha utilizado el gestor bibliográfico “Mendeley”.

5. Resultados y discusión

El término productos ortobiológicos se refiere a aquellas terapias aplicadas a patologías del sistema locomotor basadas en el uso de diversos compuestos biológicos (Schroeder *et al.*, 2020), generalmente procedentes del propio paciente (autólogos). Los productos ortobiológicos pueden contener células y/o una serie de factores de crecimiento y proteínas

bioactivas que tienen la capacidad de mejorar el proceso de cicatrización de una lesión. El objetivo de estos productos es el de promover la reparación del tejido y fomentar la restauración de su estructura y función originales, de forma que el tejido reparado sea lo más similar posible al sano y disminuya el riesgo de recidivas (Stafford, Colberg y Garrett, 2020). Aunque el uso de estas terapias pueda promover la reparación de los tejidos lesionados, los programas de rehabilitación y ejercicio controlado siguen siendo un punto clave para el éxito de los tratamientos de patologías del aparato locomotor (Ortved, 2018).

Existen diferentes criterios para la clasificación de los productos ortobiológicos que buscan simplificar la complejidad de los compuestos existentes, aunque dado el origen biológico de los mismos y las variaciones que pueden hacerse de cada uno, no existe una clasificación totalmente unificada. En este trabajo se ha seguido una clasificación basada en la celularidad de los productos, diferenciando dos grupos principales: celulares (que a su vez se dividen en función de su contenido en células progenitoras) y acelulares.

5.1 Productos ortobiológicos celulares

La terapia celular consiste en la utilización de células vivas para restaurar la función de tejidos o células dañados y recuperar la funcionalidad de la estructura (Golchin y Farahany, 2019). Dependiendo del tipo de células que contengan, los productos ortobiológicos celulares se pueden clasificar en productos con o sin células progenitoras.

5.1.1 Productos con células progenitoras

Las células progenitoras o células madre son células indiferenciadas, presentes en distintos tejidos y fases de desarrollo, que poseen gran capacidad de auto-renovación y proliferación, además de un potencial de diferenciación en un rango más o menos amplio de células especializadas (Kolios y Moodley, 2012). Por ello, el objetivo de las terapias basadas en este tipo de células es el de superar la incapacidad del organismo de reparar apropiadamente los tejidos dañados (Voga *et al.*, 2020). A día de hoy, los mecanismos de acción de estas células aún son objeto de investigación, pero se deben principalmente a su capacidad de promover la reparación y regeneración de los tejidos, de regular la formación de fibrosis cicatricial y de modular la respuesta inmune y la inflamación mediante la secreción de diferentes factores bioactivos (Fortier y Travis, 2011). Debido a su variedad, existen diferentes maneras de clasificar las células madre, siendo las más comunes las que se refieren a su potencial de diferenciación y a su origen (Kolios y Moodley, 2012)

Según su capacidad de diferenciación, las células madre pueden clasificarse, de mayor a menor potencial, en totipotentes, pluripotentes, multipotentes, oligopotentes y unipotentes (Gugjoo

et al., 2019). Las células madre totipotentes son aquellas que pueden diferenciarse en todos los tipos celulares del organismo y, también, en las estructuras extraembrionarias. Por otro lado, las células madre pluripotentes tienen la capacidad de diferenciarse en células de las tres capas germinales: endodermo, mesodermo y ectodermo. Las células madre multipotentes pueden diferenciarse a diferentes tejidos dentro de una misma capa embrionaria, mientras que las células oligopotentes y unipotentes pueden diferenciarse en unos pocos o un único tipo celular, respectivamente (Kolios y Moodley, 2012).

Otra clasificación para las células madre es atendiendo a su origen: según la fase de desarrollo del organismo se pueden agrupar en células madre embrionarias y adultas. Las células madre embrionarias pueden diferenciarse a cualquier tipo de célula adulta, siendo totipotentes o pluripotentes según el estadio de desarrollo embrionario. En el caso de las células pluripotentes derivadas de la masa celular interna del blastocisto, pueden diferenciarse en las tres capas celulares germinales, pero también tienen la capacidad de mantenerse indiferenciadas durante periodos largos en cultivo (Kolios y Moodley, 2012). Por otra parte, las células madre adultas están presentes en los órganos y tejidos del individuo desarrollado desde su nacimiento, en diferentes proporciones y con distinto potencial de diferenciación, pudiendo ser multipotentes, oligopotentes o unipotentes.

Existen diferentes productos ortobiológicos basados en células progenitoras, de entre los que destacan por su mayor estudio las células madre mesenquimales, el concentrado de células madre de aspirado de médula ósea y la fracción vascular estromal derivada del tejido adiposo. Además, también cabe destacar el interés creciente por las células madre pluripotentes inducidas.

a) Células madre mesenquimales

Las células madre mesenquimales (MSCs) pueden definirse como células madre multipotentes adultas que derivan de la capa embrionaria del mesodermo y que son capaces de diferenciarse en varios tipos celulares derivados de esta misma capa, como osteoblastos, condrocitos, adipocitos o tenocitos, entre otros (Kolios y Moodley, 2012).

Si bien su potencial de diferenciación influye en su uso terapéutico, se ha observado que no es la única característica por la que pueden resultar útiles en patologías del aparato musculoesquelético. Estas células, además de ser capaces de migrar, integrarse en el tejido dañado y diferenciarse a las células del mismo, son capaces de secretar una gran cantidad de moléculas bioactivas, como factores de crecimiento, citoquinas y quimiocinas, que participan en la reparación del tejido (*da Silva Meirelles et al.*, 2009). Estas moléculas regulan la respuesta

inflamatoria del organismo, influyendo en la cicatrización y reparación de lesiones del tejido (Ortved, 2018). De esta forma, y mediante una importante actividad paracrina, las MSCs son capaces de inducir efectos tróficos, anti-fibróticos o anti-cicatriciales, quimioatrayentes e inmunomoduladores. A su vez, los efectos tróficos pueden subdividirse en anti-apoptóticos, de soporte (estimulación de la mitosis, proliferación y diferenciación de las células progenitoras propias del órgano o tejido) y angiogénicos (Spees, Lee y Gregory, 2016).

Para la caracterización de las MSCs, la Sociedad Internacional para la Terapia Celular (ISCT, *International Society for Cellular Therapy*) propuso en 2006 unos estándares que deberían cumplir las células madre humanas para poder clasificarlas como MSCs: deben ser adherentes al plástico en condiciones de cultivo estándar, expresar una serie de marcadores de superficie (inmunofenotipo) y poder diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos *in vitro*.

Aunque estos criterios únicamente hacen referencia a las MSCs humanas, en los últimos años la terapia con estas células ha ganado importancia en modelos animales de investigación y en la clínica veterinaria. Para estandarizar su uso en animales, la caracterización de las MSCs se ha basado en los mismos criterios propuestos por la ISCT para las MSCs humanas. Sin embargo, a nivel de la expresión de marcadores se ha observado una variabilidad considerable entre especies, e incluso entre distintos tejidos de origen. Además, la caracterización de las MSCs animales se ve limitada por la escasez de anticuerpos monoclonales específicos. Este problema se ha resuelto mediante la combinación de la caracterización por citometría de flujo junto con la detección de la expresión génica de los marcadores específicos mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (Radcliffe, Flaminio y Fortier, 2010).

Si bien las MSCs están presentes en muchos de los tejidos del organismo, las fuentes más comúnmente utilizadas para su obtención son la médula ósea, el tejido adiposo, la sangre periférica y los tejidos perinatales como la sangre o el tejido del cordón umbilical (Taylor y Clegg, 2011). Hay gran interés en el potencial de las MSCs presentes en la sangre y en los tejidos perinatales ya que la técnica de recolección de las mismas no es invasiva y su potencial inmunogénico es menor, por lo que podrían ser más seguras en aplicaciones alogénicas (entre individuos diferentes, pero de una misma especie) (Tessier *et al.*, 2015).

A día de hoy, el tejido adiposo y la médula ósea siguen siendo los tejidos más utilizados para el aislamiento de MSCs y su posterior administración para el tratamiento de diferentes patologías en el caballo (Barrachina *et al.*, 2018). La concentración de MSCs en estos tejidos es muy baja, aproximadamente un 2% de las células nucleadas del tejido adiposo y entre el 0,01-

0,001% en la médula ósea, motivo por el cual se considera favorable la expansión de estas células para obtener un número suficiente para potenciar su efecto terapéutico (Strem *et al.*, 2005). Este proceso requiere unas condiciones y un tiempo de los que no siempre se puede disponer, por lo que han aparecido alternativas basadas en concentrar la fracción de células progenitoras de estos tejidos, pero sin expandirlas, y que se desarrollarán más adelante.

Para obtener MSCs de médula ósea (BM-MSCs) en la especie equina, esta generalmente se extrae del esternón o del ilion, mientras que las MSCs de tejido adiposo (AT-MSCs) se obtienen del tejido subcutáneo de la zona de la base de la cola (Schnabel *et al.*, 2013; Barrachina *et al.*, 2018; Bogers, 2018).

Tras la obtención de estos tejidos se procede al aislamiento de las MSCs y a su expansión. Las BM-MSCs se aíslan mediante protocolos basados en centrifugación en gradiente de densidad para aislar la fracción celular mononuclear, mientras que las AT-MSCs deberán aislarse mediante una digestión mecánica y enzimática, para separar la matriz adiposa de la fracción celular de interés y expandirla. En ambos casos, al obtener la fracción celular, esta se cultiva en medios de cultivo a los que se añaden concentraciones variables de suero fetal bovino, factores de crecimiento, antibióticos y aminoácidos como glutamina para proveer los nutrientes y condiciones necesarios para el crecimiento y la adhesión celular (Barrachina *et al.*, 2018; Bogers, 2018). Durante los primeros días, las MSCs se irán adhiriendo al plástico de la placa de cultivo y las células no adherentes se irán retirando con los cambios de medio (Bogers, 2018).

Cuando en las placas se observan colonias de células adherentes que confluyen hasta ocupar un 70-80% de la superficie, se procede a separar a las MSCs de la placa de cultivo enzimáticamente; lo que se conoce como un pase. Tras cada pase, las MSCs necesitan, normalmente, una semana para volver a confluir. Suelen realizarse de 2 a 4 pasajes para la obtención de un número suficiente de células óptimas para el tratamiento, que constituyan una población homogénea y cuyas características no se vean alteradas por un cultivo demasiado largo. Así, se necesitan entre 3 y 4 semanas para la obtención de una población suficiente de MSCs para su uso terapéutico (Barrachina *et al.*, 2018).

El uso de las MSCs en patologías teno-ligamentosas ha sido propuesto como una alternativa al tratamiento convencional por su potencial de mejorar la reparación tisular (Smith *et al.*, 2003; Renzi *et al.*, 2013). En un estudio realizado por Godwin *et al.*, 2012, sobre 141 caballos de carreras que padecían lesiones naturales del TFDS se observó un índice de recidiva del 25,7% de las lesiones tratadas con MSCs, considerablemente menor que el descrito en la bibliografía

para los tratamientos convencionales de la misma patología, que se sitúa sobre el 44% (Dyson, 2004). En patologías articulares, como la OA, se ha planteado el uso de estas células dada su actividad paracrina, pero todavía se requiere de más investigación en este ámbito (Fortier *et al.*, 2010).

La forma de aplicación de MSCs que se recomienda es inyectándolas directamente en la zona de la lesión, de forma eco-guiada en casos de lesiones del centro del tendón o ligamento afectado, o bien mediante inyección intrasinovial en el caso de articulaciones (Godwin *et al.*, 2012; Schnabel *et al.*, 2013). En cuanto al número de células necesarias para su uso terapéutico, este ha sido y sigue siendo un punto de discusión importante, si bien la recomendación actual es la aplicación de $10 \cdot 10^6$ MSCs por lesión en tejidos blandos o de $20 \cdot 10^6$ MSCs suspendidas en HA en articulaciones (Schnabel *et al.*, 2009; Schnabel *et al.*, 2013; Godwin *et al.*, 2012).

Respecto al momento del tratamiento, la administración temprana de MSCs podría resultar más útil que su aplicación una vez ya se ha formado el tejido fibroso cicatricial (Schnabel *et al.*, 2013), si bien en muchas ocasiones no sería posible utilizar terapia autóloga dado el tiempo que requiere la obtención de estas células, lo que supone una gran limitación. Esta limitación podría verse resuelta mediante la utilización de MSCs alogénicas, que evitarían el retraso temporal del tratamiento asociado a la expansión de MSCs autólogas. Sin embargo, la administración repetida de células alogénicas podría conllevar reacciones adversas, asociadas a la respuesta del sistema inmune del paciente al reconocer dichas células como extrañas (Owens *et al.*, 2016). Otro punto importante en el protocolo terapéutico es el número de dosis. Se ha sugerido la aplicación de múltiples inyecciones de MSCs en función de la evolución de la lesión tendinosa o ligamentosa, generalmente evaluando previamente el caso pasados 30 días de la primera administración (Schnabel *et al.*, 2013), pero todavía no hay pautas estandarizadas al respecto.

Respecto a la efectividad de estas células, existe gran cantidad de estudios sobre el uso de MSCs tanto en tendones y ligamentos como en articulaciones. Sin embargo, la revisión de todos ellos no se plantea como objetivo de este trabajo fin de grado, sino que se pretende revisar varios productos ortobiológicos. Por tanto, se han seleccionado trabajos de revisión sistemática recientes para dar una visión general acerca del uso actual de las MSCs en estos tejidos.

En una revisión sistemática realizada por Durgam y Stewart, 2017 se discutió acerca de la evidencia de mejora de la cicatrización en caballos con patología del TFDS al ser tratados con

MSCs. En esta revisión se incluyeron once estudios, en los que se evaluó la eficacia del tratamiento intralesional con MSCs en caballos que padecían tanto tendinopatías del TFDS naturales como modelos experimentales. Los autores concluyeron que existe suficiente evidencia para afirmar que la terapia con MSCs mejora el aspecto histológico y la arquitectura del tendón a nivel ecográfico. Además, también evidencian una menor tasa de recidivas en aquellos caballos tratados con MSCs, al compararlo con las tasas de recidiva asociadas a otros tratamientos. Sin embargo, los tiempos de seguimiento de los estudios revisados eran relativamente cortos, por lo que las diferencias encontradas entre los grupos control y tratados con MSCs podrían no diferir a largo plazo. Además, la heterogeneidad en los diseños experimentales y protocolos terapéuticos empleados en los distintos estudios hacen que resulte complicado compararlos. Aun así, los autores de la revisión concluyen que la terapia con este tipo de células debería considerarse como una opción válida.

En cuanto al uso de las MSCs para el tratamiento de la OA, en una revisión sistemática realizada por Pratley en 2020, se analizaron nueve estudios al respecto, y se comparó la efectividad de este tratamiento con la descrita para la administración de corticoesteroides intraarticulares, mediante la valoración del grado de cojera al compararlo con los grupos controles. Se revisaron tanto estudios realizados en caballos que padecían OA de manera natural, como aquellos a los que se les indujo de manera experimental, si bien los autores remarcan que la OA inducida de manera experimental no puede compararse con la que ocurre de manera natural, por lo que los resultados no deberían extrapolarse directamente.

En esta revisión se concluyó que hay una evidencia apropiada de que las terapias con MSCs son efectivas a corto plazo para reducir y controlar las cojeras causadas por OA en caballos, pero se requieren de más estudios para comprobar su utilidad en comparación con la administración de corticoesteroides intra-articulares. Además, la ausencia de publicaciones con seguimiento a largo plazo de los animales tratados hace que no sea posible la valoración de su efectividad en el ámbito clínico.

Por tanto, la principal ventaja de este producto ortobiológico es la aportación de células capaces de diferenciarse en el tejido lesionado, con potencial inmunomodulador y una importante actividad paracrina. Sin embargo, el tiempo que requiere la expansión de MSCs para su aplicación autóloga y la problemática presente en cuanto a la inmunogenicidad de las terapias con MSCs alogénicas son los principales inconvenientes de este producto. Para superar estas limitaciones, surgen alternativas como las que se verán a continuación.

b) Fracción vascular estromal derivada del tejido adiposo

La fracción vascular estromal derivada del tejido adiposo (ADSVF) consiste en someter el tejido adiposo a una digestión enzimática para, posteriormente, concentrar la fracción rica en células precursoras, entre las que se encuentran MSCs (Ortved, 2018). Su composición se basa en una población celular heterogénea, formada por MSCs, adipocitos, células endoteliales, linfocitos T y macrófagos, entre otros (Han *et al.*, 2015).

Para su obtención debe recogerse tejido adiposo, generalmente de la zona supragluteal como en el caso de las AT-MSCs (Bogers, 2018). Después, el tejido debe procesarse mediante centrifugación y digestión enzimática con colagenasa (técnica más comúnmente utilizada) o bien mediante una separación mecánica utilizando filtros (Schroeder *et al.*, 2020). Finalmente, el concentrado celular se resuspende en suero salino fisiológico para su posterior administración (Frisbie *et al.*, 2009).

Algunas de las células contenidas en la ADSVF son capaces de estimular la angiogénesis y la liberación de diferentes factores de crecimiento, como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) o el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), entre otros. Además, este producto contiene monocitos y macrófagos capaces de expresar la interleuquina-1 y el receptor antagonista de la interleuquina-10, lo que conlleva un efecto antiinflamatorio. Cabe destacar también que la presencia de MSCs en este producto, aunque en bajas proporciones, puede ejercer un efecto inmunomodulador y regular la actividad citotóxica (Han *et al.*, 2015), mecanismos que ya se han mencionado en el apartado anterior.

En un estudio realizado por Nixon *et. al*, 2008, se valoró el tratamiento con una única dosis de ADSVF en caballos a los que se les indujo una tendinitis del TFDS mediante inyección de colagenasa. Este estudio constaba de dos grupos de 4 caballos cada uno: a uno de los grupos se les administró ADSVF, mientras que al otro grupo se le inyectó solución salina tamponada con fosfato (PBS) como control; ambas administraciones realizadas pasada una semana de la inducción de la lesión. Al realizar seguimientos ecográficos semanales, no se apreciaron diferencias significativas entre ambos grupos en cuanto a la velocidad ni calidad del tejido cicatrizado. Sin embargo, al realizar histología del tendón seis semanas después de la administración del tratamiento, se observó una mejoría en la arquitectura de las fibras tendinosas, una reducción de la vascularización, del infiltrado inflamatorio y de la formación de colágeno tipo III en los tendones tratados con ADSVF; denotando una mejor organización del tejido tendinoso reparado.

En 2015, Tyrnenopoulou et al. publicaron tres casos clínicos de caballos con tendinitis natural del TFDS tratados con una única administración intralesional de ADSVF, 2 semanas después del diagnóstico de dicha tendinitis. En estos casos, este tratamiento resultó en una mejoría de la calidad del tejido cicatricial a nivel ecográfico que se tradujo en una vuelta completa a la actividad deportiva previa de estos animales. Sin embargo, todavía no se dispone de mucha más información en cuanto a la aplicación clínica de ADSVF en patologías de tendones o ligamentos en caballos.

En patologías articulares, no se han demostrado mejorías del cartílago articular tras el tratamiento con ADSVF. De hecho, se ha observado que la administración de ADSVF aumenta la concentración en el líquido sinovial del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) (Frisbie et al., 2009). Esto resultaría contraproducente, ya que el TNF- α es una citoquina pro-inflamatoria que juega un papel importante en la inflamación, proliferación celular, diferenciación y apoptosis celular (Baud, Karin y Karin, 2001).

La principal ventaja del ADVSF es que no requiere de la realización de una etapa de cultivo previa para expandir las células, por lo que su obtención no conlleva largos tiempos de espera y puede aplicarse casi de inmediato tras diagnosticar la lesión. En contrapartida, su concentración de células progenitoras con capacidad paracrina y de diferenciación a diferentes linajes es de solo el 2-4% de las células del producto (Bogers, 2018; Ortved, 2018). Además, se requieren también de más estudios que aborden la estandarización de los protocolos utilizados para la obtención de ADSVF y las pautas para su administración (Han et al., 2015).

c) Concentrado de aspirado de médula ósea

El concentrado de aspirado de médula ósea (BMAC) es un producto derivado de la centrifugación de la médula ósea tras su recolección para concentrar MSCs (Ortved, 2018). Tras la centrifugación para la eliminación de eritrocitos, granulocitos y plaquetas, solo entre el 0,01% y el 0,1% de las células que contiene este producto son MSCs (Taylor y Clegg, 2011). Además del poder inmunomodulador y el efecto paracrino de las MSCs presentes en este producto (Russell et al., 2016), de los que ya se ha hablado en el apartado correspondiente, el BMAC cuenta también con un alto contenido en factores de crecimiento y citoquinas que pueden influir en el proceso de reparación del tejido, como el PDGF, las proteínas morfogenéticas óseas 2 y 7 y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) (Kim et al., 2020). De forma similar a lo comentado para el ADSVF, la ventaja de este producto es que puede procesarse y aplicarse de forma inmediata, evitando el retraso asociado a la expansión de las MSCs (Ortved, 2018).

En los últimos años, el BMAC se ha presentado como un producto ortobiológico prometedor por su contenido en MSCs, factores de crecimiento y citoquinas. Estas moléculas pueden influir en la cicatrización del tejido al inhibir la apoptosis y la inflamación, y activar la angiogénesis, diferenciación y proliferación celular mediante mecanismos paracrinos y autocrinos (Indrawattana *et al.*, 2004; McCarrel y Fortier, 2009). El mecanismo de acción del BMAC todavía no se conoce en profundidad, pero los estudios sugieren que mejora la reparación del tejido al proporcionar células multipotentes que ejercen sus efectos paracrinos e inmunomoduladores (Kim *et al.*, 2020).

Su aplicación en patologías tendino-ligamentosas ha sido avalada por diversos estudios, en los que se obtuvieron mejores índices de vuelta a la actividad deportiva tras la lesión y menor porcentaje de recidivas (Herthel, 2001; Russell *et al.*, 2016). En el estudio retrospectivo realizado por Herthel, 2001 se trató a 100 caballos que padecían desmitis naturales del LSM mediante una única administración intralesional de BMAC. Transcurridos 6 meses del tratamiento, el 84% de los animales había vuelto a su actividad deportiva anterior a la lesión. Russell *et al.*, 2016 realizaron un estudio para valorar la eficacia del tratamiento con BMAC de casos de tendinitis del TFDS. En este estudio se administró una dosis única de BMAC a 105 caballos de carreras que padecían tendinitis naturales. Concluyeron que, tras la administración intralesional de BMAC, el pronóstico deportivo de los animales mejoraba notablemente, ya que hasta el 80% de los animales volvió a participar en carreras de caballos.

Considerando sus efectos antiinflamatorios y regenerativos, el BMAC puede ser también una opción para la reparación del cartílago en la OA. En un estudio realizado por Fortier *et al.*, 2010 se comparó la eficacia del tratamiento con BMAC y la técnica de microfractura para el tratamiento de la OA inducida en doce caballos. Para ello, se generaron lesiones focales de espesor completo del cartílago articular mediante artroscopia. En el transcurso de la cirugía, se realizaron también ambos tratamientos a comparar: la administración de BMAC y la realización de la técnica de microfractura. Pasados tres meses de la intervención, se realizó una segunda artroscopia de control para la evaluación macroscópica del tejido cicatricial. Ocho meses después de la primera intervención, los animales fueron eutanasiados y se realizaron técnicas de imagen, como resonancia magnética, además de estudios histológicos para evaluar la efectividad de los tratamientos realizados. En este estudio se concluyó que el tratamiento con BMAC mejoraba significativamente tanto el aspecto macroscópico como la histología del cartílago lesionado, al compararlo con la microfractura. Además, el tratamiento con BMAC también provocó un aumento del contenido y orientación de colágeno de tipo II junto con un

mayor contenido en glucosaminoglicanos, siendo también más beneficioso en este aspecto que la microfractura.

En conclusión, el BMAC se propone como una opción terapéutica válida para el tratamiento de estas patologías, dada su composición y la ventaja de ser un producto de disponibilidad inmediata. Sin embargo, todavía se presentan dudas acerca de su mecanismo de acción que deberán ser investigadas en el futuro para avalar el uso terapéutico del BMAC y establecer protocolos de tratamientos.

d) Células madre pluripotentes inducidas

Las células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) son un tipo especial de células pluripotentes que no se encuentran de forma natural en el individuo, sino que se obtienen en el laboratorio reprogramando células somáticas adultas para devolverlas a un estado de pluripotencia similar al de las células madre embrionarias (Kolios y Moodley, 2012). Esto se consigue introduciendo en las células (generalmente fibroblastos dermales), mediante vectores, cuatro factores de transcripción relacionados con la pluripotencia: Oct3/4, Sox2, c-Myc y Klf4 (Takahashi y Yamanaka, 2006; Yamanaka, 2009). Las células obtenidas tienen características similares a las células madre embrionarias en cuanto a morfología, proliferación y expresión de marcadores celulares, siendo capaces de auto-renovarse ilimitadamente y de diferenciarse a cualquier tipo celular del organismo, superando así las limitaciones éticas y de obtención de las células madre embrionarias (Yamanaka, 2009). Debido a su enorme potencial de diferenciación podrían utilizarse para el tratamiento de diferentes procesos y enfermedades, entre ellas las patologías del aparato musculoesquelético. Además, pueden obtenerse MSCs a partir de iPSCs para mejorar su disponibilidad (Donadeu, 2014).

A día de hoy, ya existen trabajos acerca de su uso terapéutico, aunque se sigue necesitando una mayor investigación al respecto. Chung *et al.*, 2019 analizaron la respuesta al tratamiento con iPSCs diferenciadas a MSCs en 16 caballos con diferentes patologías musculoesqueléticas. Los resultados obtenidos fueron favorables, reduciéndose el grado de cojera y los hallazgos patológicos por radiología.

Si bien las expectativas generadas son altas, su uso clínico todavía es prematuro y se requieren más estudios para evaluar su inmunogenicidad y establecer guías para su uso terapéutico en la clínica equina (Kaneko y Yamanaka, 2013; Donadeu, 2014).

5.1.2 Productos ortobiológicos celulares sin células progenitoras

Estos productos celulares, obtenidos a partir de diferentes tejidos del organismo, carecen de células progenitoras y basan sus mecanismos de acción principalmente en su contenido celular

y en los factores de crecimiento que contienen. El tipo de células que presentan varía en gran medida entre los diferentes productos, y cabe destacar que pueden hacerse variaciones de cada producto, por lo que en este apartado se incluyen los productos ortobiológicos más característicos de esta categoría: el plasma rico en plaquetas, la fibrina rica en plaquetas y el implante autólogo de condrocitos.

a) *Plasma rico en plaquetas*

El plasma rico en plaquetas (PRP) es un producto generado mediante la centrifugación de sangre autóloga para la obtención de plasma con una concentración plaquetaria superior a la de la sangre entera (Textor, 2011).

Aunque sigue sin haber consenso en cuanto a la metodología utilizada para la obtención del PRP (Lee, Kim y Seo, 2018), generalmente se obtiene al realizar una doble centrifugación de sangre periférica con anticoagulante (Navani, Li y Chrystal, 2017). La primera centrifugación permite separar la sangre en tres capas diferenciadas: eritrocitos, que se encuentran en el estrato inferior, plasma acelular, en el estrato superior y, entre medio, se localiza la fracción que contiene los glóbulos blancos (*buffy coat*) y sobre la cual las plaquetas están concentradas. Esta fracción se recoge y, tras la segunda centrifugación, se eliminan los eritrocitos y leucocitos restantes y se reduce el plasma acelular, de forma que se obtiene una mayor concentración plaquetaria en el plasma restante (Dohan Ehrenfest, Rasmusson y Albrektsson, 2009).

El PRP, como su nombre indica, está compuesto fundamentalmente por plaquetas, y en ellas se basa su potencial terapéutico. Estas células contienen multitud de factores de crecimiento y citoquinas en sus gránulos α , que son liberados tras la activación de las plaquetas. Las altas concentraciones de estas sustancias presentes en el PRP pueden estimular la cicatrización y reparación de tejidos con escasa capacidad de regeneración (Textor, 2011)

Los factores de crecimiento contenidos en el PRP poseen efectos quimiotácticos y proliferativos, estimulando la proliferación celular, la angiogénesis y la producción de MEC (Dohan Ehrenfest, Rasmusson y Albrektsson, 2009; Hammond *et al.*, 2009). Algunos de los principales factores de crecimiento que contiene el PRP son el factor de crecimiento transformante beta, el IGF-1, el PDGF, el VEGF y el FGF, entre otros. Además, varias citoquinas, quimiocinas y metabolitos suplementan la acción de estos factores de crecimiento (Navani, Li y Chrystal, 2017).

El concentrado plaquetario obtenido contiene tanto factores anabólicos derivados de las plaquetas como factores catabólicos producidos por los leucocitos, cuyas concentraciones varían según los protocolos utilizados para su obtención. Tanto el tiempo de centrifugación

como la fuerza centrífuga ejercida sobre la muestra influyen de manera directa en el producto final, variando su composición (Schär *et al.*, 2015). Si bien un aumento tanto en la fuerza centrífuga como en el tiempo de centrifugación conllevan una mayor obtención de plasma tras el procesado, también implican cierta pérdida de plaquetas, que por la centrifugación quedan atrapadas en el sedimento, y también cierto grado de agregación plaquetaria. Todo esto puede repercutir en la respuesta clínica a los tratamientos (Bausset *et al.*, 2012).

Por este motivo, en los últimos años se está intentando estandarizar los protocolos de obtención del PRP, y así facilitar también la valoración de la eficacia del producto (Chahla *et al.*, 2017).

Algunos estudios sugieren que el tratamiento de lesiones teno-ligamentosas con PRP mejora la elasticidad y resistencia del tendón en comparación con las terapias convencionales, además de reducir los índices de recidiva de estas lesiones (Waselau *et al.*, 2008; Bosch *et al.*, 2011). Waselau *et al.*, 2008 estudiaron la respuesta a la administración intralesional de PRP en 9 caballos de carreras que presentaban desmitis del LSM de manera natural, siguiendo un programa de rehabilitación tras el tratamiento. Los 9 caballos tratados volvieron a correr en carreras de galope, al menos una vez, pasados dos años de la administración del tratamiento. Sin embargo, tres años después tan solo 5 de los animales compitió a ese nivel.

En el estudio realizado por Geburek *et al.*, 2016 se evaluó la eficacia del tratamiento con PRP en caballos que padecían tendinopatías del TFDS naturales. Se incluyeron 20 caballos, 10 formando parte del grupo control a los que se les administraba suero salino fisiológico y 10 siendo tratados con PRP. Ambos grupos llevaron un estricto programa de rehabilitación y se les realizaron ecografías de control periódicamente. Los resultados que se obtuvieron llevan a concluir que la administración de PRP en los primeros 2 meses tras la aparición de la lesión conduce a una reducción temprana del grado de cojera del animal en comparación con aquellos tratados con suero salino.

A pesar de todo, todavía no existe evidencia científica clara sobre la eficacia del PRP. Algunos estudios examinados en una revisión sistemática muy reciente (Montano *et al.*, 2021) parecen demostrar que el uso de este producto tiene un efecto beneficioso en la cicatrización de tendones y ligamentos. Sin embargo, los autores de la revisión concluyen que, aunque existan gran cantidad de trabajos acerca del PRP, es necesario estandarizar tanto los diseños de los estudios como las técnicas utilizadas para la obtención del producto y las medidas utilizadas para valorar su efecto en tejidos blandos.

Si bien no hay consenso en cuanto al momento óptimo de la primera aplicación, algunos autores recomiendan su administración en la fase aguda de la lesión teno-ligamentosa, por las propiedades antiinflamatorias que posee. Las inyecciones podrían repetirse en intervalos de 3 o 4 semanas (Ortved, 2018).

En cuanto a patologías articulares, el PRP se ha convertido en una opción prometedora para el tratamiento de la OA por sus efectos anabólicos y anticatabólicos sobre el cartílago articular, observándose una mejoría histológica en articulaciones afectadas tratadas con PRP, según una revisión sistemática realizada por Tomlinson, Terschuur y Henson, 2021.

En un estudio realizado Argüelles *et al.*, 2007 se trataron 4 caballos que padecían OA de manera natural administrando 3 dosis de PRP en intervalos de 2 semanas. Se observó que el tratamiento de articulaciones con OA mediante PRP permitía controlar la artropatía y la degeneración articular, probablemente por su efecto analgésico y antiinflamatorio.

Aunque parece ser que el PRP podría ser una opción terapéutica válida para el control de la OA, son necesarios más estudios que demuestren su eficacia en esta patología y clarifiquen sus efectos en la articulación, tal y como concluyen Garbin y Olver, 2020 en su revisión del uso de PRP para el tratamiento de la OA en caballos.

Aunque en muchos estudios sobre el tratamiento con PRP se observan resultados favorables, es importante considerar que varios de estos ensayos no eran controlados, ni aleatorizados, ni ciegos. Además, los tamaños muestrales son, generalmente, pequeños. Cabe destacar también que las grandes diferencias en los diseños de los estudios y la gran variabilidad en la composición del PRP, asociada a diferentes factores, complican todavía más la evaluación de los resultados obtenidos.

b) Fibrina rica en plaquetas

La fibrina rica en plaquetas (PRF) se obtiene a partir de sangre entera recogida sin anticoagulante y centrifugada de manera inmediata. Durante la centrifugación, se activa la cascada de coagulación formándose un coágulo de fibrina que contiene plaquetas y leucocitos cuya composición celular puede variar en función de la fuerza centrífuga a la que es sometida la sangre (Acebes-Huerta *et al.*, 2020).

Al aplicarlo en una lesión, el coágulo de fibrina actúa como una membrana absorbible, produciéndose una liberación progresiva de las células y factores de crecimiento contenido en el coágulo, favoreciendo de este modo la reparación tisular de una forma más sostenida (Grecu *et al.*, 2019)

La PRF permitiría así unir los beneficios de una alta concentración plaquetaria y sus factores de crecimiento con una liberación lenta de las sustancias contenidas en el coágulo de fibrina (Visser *et al.*, 2011).

Aunque no se han encontrado trabajos que evalúen la eficacia de la PRF a nivel teno-ligamentoso ni articular en caballos, sí se ha evaluado su uso en la especie canina para tratar tendinopatías, aunque los datos disponibles no apoyan que la PRF mejore la calidad del tejido cicatricial (Visser *et al.*, 2011).

En caballos este producto ha sido estudiado para el tratamiento de heridas, observándose que la aplicación tópica de PRF autólogo permitía una mejoría de la cicatrización de heridas extensas, con una menor producción de tejido de granulación (Iacopetti *et al.*, 2012).

En conclusión, no existen estudios que soporte el potencial terapéutico de la PRF en patologías musculoesqueléticas equinas, aunque por sus efectos vistos en otras patologías podría ser interesante realizar estudios al respecto.

c) *Implante autólogo de condrocitos*

El implante autólogo de condrocitos (ACI) consiste en la obtención de condrocitos a partir de zonas del cartílago articular sano y que no soporten gran carga de peso. Tras la toma de biopsias mediante artroscopia, se realiza una digestión enzimática utilizando collagenasas para el aislamiento de los condrocitos. Posteriormente, se realiza una centrifugación de la muestra para separar la MEC de las células y, finalmente, estas se lavan y se siembran en medios aptos para su expansión *in vitro* (Sandoval, López y Carmona, 2013; Griffin *et al.*, 2015).

Inicialmente, la implantación se realizaba tras la apertura de un *flap* del periostio en la articulación afectada. Esta técnica conlleva múltiples desventajas, como la hipertrofia del tejido y la posibilidad de formación de adherencias (Griffin *et al.*, 2015). Es por este motivo que en los últimos años se ha modificado la técnica, utilizándose membranas de colágeno u otros *scaffolds* que evitan la necesidad de realizar un *flap* del periostio. Tras la expansión, las células obtenidas se siembran en estas membranas para su posterior implantación quirúrgica en defectos articulares. A esta modificación de la técnica ACI se la conoce como MACI (*matrix-assisted ACI*) (Nixon *et al.*, 2011; Sandoval, López y Carmona, 2013; Griffin *et al.*, 2015; Cokelaere, Malda y van Weeren, 2016).

Su principal aplicación es el tratamiento de defectos focales y localizados que afecten a todo el espesor del cartílago articular (Zayed *et al.*, 2018), si bien es posible que el tejido que se forme sea fibrocartilaginoso y, por tanto, biomecánicamente inferior al original (Cokelaere, Malda y van Weeren, 2016).

En un estudio realizado por Nixon *et al.*, 2011 se evaluó la respuesta del tratamiento con ACI en 16 caballos, induciendo en cada uno de ellos dos lesiones del cartílago articular. Las lesiones generadas eran diferentes: en 8 de los caballos se crearon dos lesiones en todo el espesor del cartílago articular, mientras que en los 8 caballos restantes se generaron dos lesiones de grosor parcial. Las biopsias para la obtención de los ACI se llevaron a cabo mediante artroscopia. Un mes después, se realizó otra intervención por artroscopia de las extremidades contralaterales para la creación de dos lesiones en el cartílago articular y la aplicación de los tratamientos a evaluar: un *flap* del periostio en ambas lesiones, mientras que solo en una de las dos se utilizó el ACI. Transcurridos dos meses, los animales fueron eutanasiados para poder valorar el efecto de los ACI en lesiones agudas cartilaginosas. El estudio histológico, inmunohistológico y bioquímico mostró mejorías significativas en la reparación del tejido al usar ACI, en comparación con la realización única de *flaps* del periostio.

El resultado de este tipo de tratamiento a corto y medio plazo (2 años) es favorable, si bien todavía no hay estudios que demuestren su efectividad a más largo plazo. Además, la complejidad de la técnica, su naturaleza invasiva y los altos costes que conlleva, suponen grandes inconvenientes para su uso rutinario en la clínica equina (Cokelaere, Malda y van Weeren, 2016).

5.2 Productos ortobiológicos acelulares

Los productos acelulares son aquellos cuyo contenido celular es muy escaso, basando su mecanismo de acción en un alto contenido en proteínas anabólicas y antiinflamatorias. En esta categoría destaca el suero autólogo condicionado y la solución proteica autóloga, obteniéndose ambos a partir del procesado de la sangre del paciente.

a) Suero autólogo condicionado

El suero autólogo condicionado (ACS) es un producto acelular derivado de la sangre, tras su coagulación y posterior centrifugación para recuperar la fase líquida. Este producto, por tanto, carece de factores de coagulación como la protrombina o el fibrinógeno, pero contiene globulinas y albúmina. Durante la coagulación, mediante perlas de borosilicato se activan las plaquetas y leucocitos para promover la liberación de factores de crecimiento y citoquinas, durante una incubación de 24 horas a 37°C (Linardi *et al.*, 2019).

Su efecto terapéutico se atribuye principalmente a la alta concentración que se obtiene de la proteína antagonista del receptor de la interleuquina-1 (IL-1ra), también conocida como IRAP. Además, el procesado para la obtención de ACS también aumenta la concentración de citoquinas proinflamatorias y otros mediadores clave en la inhibición de la cascada

inflamatoria en la OA (Marques-Smith *et al.*, 2020). Por ello, este producto está especialmente enfocado al tratamiento de la OA, ya que en esta patología la interleuquina-1 β es una de las citoquinas más importantes en el desarrollo de la enfermedad articular y la alta concentración de IL-1ra tendría un potente efecto antiinflamatorio en la articulación, ralentizando el desarrollo de la degeneración articular al bloquear la acción de las citoquinas pro-inflamatorias (Camargo y Morris, 2021). Además, se ha observado que la administración de ACS puede estimular la producción endógena de IL-1ra. Aun así, todavía no se ha demostrado que el ACS sea capaz de prevenir la degeneración del cartílago (Frisbie *et al.*, 2007).

En un estudio realizado por Frisbie *et al.*, 2007 se evaluó la respuesta obtenida al tratar con ACS intra-articular animales con OA inducida. Se utilizaron 16 caballos, 8 formando parte del grupo control. A todos los animales se les provocó OA de la articulación intercarpiana mediante la creación de un fragmento osteocondral por artroscopia. A partir del día 14 tras la cirugía, se administró intraarticularmente ACS o PBS (grupo control) semanalmente hasta el día 35 (4 dosis en total). Los resultados obtenidos indicaron que el tratamiento con ACS resultó en una mejoría clínica del grado de cojera y una disminución de los cambios patológicos de la membrana sinovial, en comparación con el grupo control. Además, histológicamente se detectó una menor hiperplasia de la membrana sinovial en aquellas articulaciones tratadas con ACS.

Aunque su uso sea predominante en la OA, también se ha evaluado la aplicación de ACS en tendinopatías. En un estudio realizado por Geburek *et al.*, 2015, se evaluaron los resultados obtenidos al tratar tendinopatías del TFDS con ACS. El estudio incluyó 15 caballos que presentaban un total de 17 tendinopatías naturales del TFDS. Diez tendones fueron tratados con una única administración de ACS intralesional, mientras que a los 7 restantes se les administró solución salina intralesional, formando el grupo control. Se concluyó que la administración temprana de ACS permite una reducción de la cojera y una mejora temporal de los parámetros ecográficos en la zona lesionada. Si bien el ACS podría ser útil también en tendinopatías y desmopatías, todavía se requieren de más estudios para validar su utilización en estas patologías (Geburek *et al.*, 2015).

b) Solución proteica autóloga

La solución proteica autóloga (APS) permite concentrar plaquetas, factores de crecimiento y citoquinas antiinflamatorias mediante el procesado de la sangre entera (Linardi *et al.*, 2019). En primer lugar, la sangre se procesa en un separador de APS, que secuestra los leucocitos y plaquetas en una pequeña fracción de plasma. Tras esta separación, la solución obtenida se pasa a un concentrador de APS, que deseca el producto mediante filtración, utilizando perlas

de poliacrilamida (Bertone *et al.*, 2014). Este procesado permite aumentar la concentración de agentes antiinflamatorios y anabólicos presentes en la propia sangre del paciente (Linardi *et al.*, 2019). Así, la APS contiene mayores concentraciones de leucocitos, plaquetas y proteínas plasmáticas en comparación con el ACS (Velloso Alvarez *et al.*, 2020). Además, la obtención de la APS no requiere incubación previa como sucede con el ACS, por lo que su aplicación puede ser inmediata tras el diagnóstico de la lesión (Linardi *et al.*, 2019).

En concreto, la APS contiene una gran concentración de IL-1ra, en comparación con la sangre. Esta proteína, como se ha desarrollado previamente, tiene potentes efectos antiinflamatorios al inhibir los receptores para interleucinas proinflamatorias como la IL-1 α y la IL-1 β . Además, también se ha observado una mayor concentración de TGF- β 1, un factor de crecimiento importante en el desarrollo, crecimiento y mantenimiento del cartílago hialino articular (Linardi *et al.*, 2019).

Actualmente existen pocos trabajos que evalúen la efectividad *in vivo* de la APS en tendinopatías, pero en un estudio muy reciente realizado por Gaesser *et al.*, 2021 se estudió el efecto de la administración intralesional de APS en caballos a los que se les provocó una tendinitis del TFDS mediante inyección de colagenasas. Para ello, se utilizaron 8 caballos, a los que se les indujo dicha tendinitis en ambas extremidades anteriores. Se asignó, de manera aleatoria, el tratamiento con APS en una de las extremidades, mientras que la extremidad contralateral de cada caballo recibió suero salino como control. Posteriormente, se realizaron ecografías seriadas y los animales fueron eutanasiados a las 12 semanas para la realización de histología de los tendones. Los resultados mostraron una menor expresión de colágeno tipo III en los tendones tratados con APS al compararlos con aquellos tratados con solución salina. Esta reducción de colágeno tipo III puede ser beneficiosa, ya que este tipo de colágeno resulta ser menos elástico y, por tanto, biomecánicamente inferior.

Este producto ha sido estudiado también para su posible uso terapéutico en la OA equina, siendo una opción segura y cuyos efectos secundarios son los comúnmente asociados a la aplicación de tratamientos intra-articulares (Van Drumpt *et al.*, 2016). En caballos que padecían OA, el tratamiento con APS permitió una mejora del grado de cojera, disminución del dolor a la flexión y aumento del rango de movimiento de la articulación pasados 14 días desde su administración intra-articular. En este estudio se incluyeron 40 caballos con OA natural: 20 de ellos formaron parte del grupo control y recibieron suero salino, mientras que los 20 restantes fueron tratados con APS. Ambos grupos siguieron programas de ejercicio controlado posteriormente. Si bien la administración intraarticular de APS ha demostrado una mejoría de los signos clínicos de la OA, parece ser más efectivo cuando los animales no presentan signos

marcados de cojera, asimetría o esclerosis subcondral en las articulaciones afectadas (Bertone *et al.*, 2014).

Tanto la APS como el ACS concentran diferentes factores presentes en la sangre del paciente y esto hace que la variabilidad individual pueda ser un factor importante en cuanto a sus efectos terapéuticos, sobre todo en cuanto a la concentración de citoquinas.

Por otro lado, la principal ventaja del APS viene dada por el hecho de que no requiere incubación, y el material necesario para su preparación es mínimo (Camargo y Morris, 2021). Sin embargo, su aplicación clínica a día de hoy es escasa y se requieren todavía más estudios clínicos que avalen sus efectos beneficiosos al aplicarlo a diferentes patologías, así como para la estandarización de los protocolos terapéuticos.

Conclusiones / Conclusions

- La estandarización de los protocolos de obtención y de las características de los diferentes productos ortobiológicos (concentración de células y/o factores de crecimiento) es necesaria para valorar la respuesta a estos tratamientos. / *Standardisation of protocols for obtaining orthobiologics and of their main features (cell and/or growth factors concentration) is essential to assess the response to these treatments.*
- En cuanto a los mecanismos de acción de los diferentes productos, su principal punto en común es la liberación o presencia de mediadores que actúan a distintos niveles en el proceso de reparación de la lesión. La complejidad de estos mecanismos, junto con la variabilidad inherente del producto al derivar del paciente, hacen que sea complicado estandarizar su aplicación terapéutica. / *Regarding to the mechanisms of action of the different orthobiologics, their main common feature is the release or presence of mediators that act at different levels in the injury repair process. The complexity of these mechanisms, alongside with the inherent variability of the product as it is derived from the patient, makes it difficult to standardise its therapeutic use.*
- A día de hoy, los productos que presentan mayor evidencia científica en cuanto a su efecto terapéutico en patologías del sistema locomotor equino son las MSCs, el BMAC y el PRP. En cuanto a los demás ortobiológicos, se requiere de más investigación a nivel clínico para poder valorar su efectividad. / *To date, the products with larger scientific evidence regarding their therapeutic effect on equine musculoskeletal pathologies are MSCs, BMAC and PRP. As for the other orthobiologics, further clinical research is required to assess their effectiveness.*
- Como conclusión final, la aplicación de productos ortobiológicos en patologías del aparato locomotor del caballo ofrece soluciones terapéuticas innovadoras, pero se precisa más

investigación acerca de sus mecanismos de acción, efectividad y protocolo terapéutico (dosificación y momento de aplicación). / *As a final conclusion, the application of orthobiologics in pathologies of the equine locomotor system provides novel therapeutic solutions, but more research is required regarding their mechanisms of action, effectiveness and therapeutic protocol (dosage and timing of application).*

Valoración personal

La realización de este trabajo me ha permitido indagar en el amplio mundo de la medicina regenerativa, y a su vez aprender a realizar revisiones bibliográficas científicas. Además, me ha permitido desarrollar un sentido de análisis crítico de la información presentada.

Debo agradecer a mis tutoras, Laura Barrachina y Alina Cequier, por la ayuda y el tiempo dedicado durante la realización de este trabajo.

Por último, agradecer a mi familia, por el apoyo y los empujoncitos cuando han sido necesarios y también a mis amigos, por hacer de Zaragoza mi segundo hogar desde el primer momento.

Bibliografía

Acebes-Huerta, A., Arias-Fernández, T., Bernardo, A., Muñoz-Turrillas, M.C., Fernández-Fuertes, J., Seghatchian J. y Gutiérrez, L. (2020). "Platelet-derived bio-products: Classification update, applications, concerns and new perspectives". *Transfusion and Apheresis Science*, 59(1), pp.1-11. DOI: 10.1016/j.transci.2019.102716.

Argüelles, D., Carmona, J.U., Climent, F., Muñoz, E. y Prades, M.(2008). "Autologous platelet concentrates as a treatment for musculoskeletal lesions in horses". *Veterinary Record*, 162, pp. 208-211. DOI: 10.4067/S0301-732X2009000100011.

Barrachina, L., Romero, A., Zaragoza, P., Rodellar, C. y Vázquez, F.J.(2018). "Practical considerations for clinical use of mesenchymal stem cells: From the laboratory to the horse". *The Veterinary Journal*, 238, pp. 49-57. DOI: 10.1016/j.tvjl.2018.07.004.

Baud, V., Karin, M. y Karin, M. (2001). "Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives". *Trends in Cell Biology*, 11(9), pp. 372-377. DOI: 10.1016/s0962-8924(01)02064-5

Bausset, O., Giraudo, L., Veran, J., Magalon, J., Coudreuse, J.M., Magalon, G., Dubois, C., Serratrice, N., Dignat-George, F. y Sabatier, F. (2012). "Formulation and storage of platelet-rich plasma homemade product". *BioResearch Open Access*, 1(3), pp. 115-123. DOI: 10.1089/biores.2012.0225.

Berenbaum, F. (2013). "Osteoarthritis as an inflammatory disease (osteoarthritis is not osteoarthrosis!)". *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(1), pp. 16-21. DOI: 10.1016/j.joca.2012.11.012.

Bertone, A. L., Ishihara, A., Zekas, L.J., Wellman, M.L., Lewis, K.B., Schwarze, R.A., Barnaba, A.R., Schmall, M.L., Kanter, P.M. y Genovese, R.L. (2014). "Evaluation of a single intra-articular injection of autologous protein solution for treatment of osteoarthritis in horses". *American Journal of Veterinary Research*, 75(2), pp. 141-151. DOI: 10.2460/ajvr.75.2.141.

Bogers, S. H. (2018). "Cell-based therapies for joint disease in veterinary medicine: What we have learned and what we need to know". *Frontiers in Veterinary Science*, 5(APR), pp. 1-17. doi: 10.3389/fvets.2018.00070.

Bonilla-Gutiérrez, A. F., López, C. y Carmona, J. U. (2019). "Regenerative Therapies for the Treatment of Tenodesmic Injuries in Horses". *Journal of Equine Veterinary Science*, 73, pp. 139-147. DOI: 10.1016/j.jevs.2018.12.010.

Bosch, G., Moleman, M., Berneveld, A., van Weeren, P.R. y van Schie, H.T.M. (2011). "The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions". *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 21(4), pp. 554-561. DOI: 10.1111/j.1600-0838.2009.01070.x.

Carmona, J. U. y Giraldo-Murillo, C. E. (2007). "Fisiopatología y tratamiento convencional de la osteoartritis en el caballo". *Vet.zootec.*, 1(1), pp. 60-73. Disponible en: <http://vetzootec.ucaldas.edu.co/downloads/v1n1a09.pdf>.

Carmona, J. U. y López, C. (2011). "Tendinopatía del tendón flexor digital superficial y desmopatía del ligamento suspensorio en caballos: fisiopatología y terapias regenerativas". *Archivos de Medicina Veterinaria*, 43(3), pp. 203-214. DOI: doi.org/10.4067/S0301-732X2011000300002

Camargo, L. y Morris, M. J. (2021). "A Comparative Review of Autologous Conditioned Serum and Autologous Protein Solution for Treatment of Osteoarthritis in Horses". *Frontiers in Veterinary Science*, 8(2), pp. 1-7. DOI: 10.3389/fvets.2021.602978.

Carmona, J. U. y Prades, M. (2009). "Pathophysiology of Osteoarthritis". *Compendium Equine: Continuing Education for Veterinarians*, 4(1), pp. 28-40. Disponible en: <http://www.compendiumequine.com/>

Chahla, J., Cinque, M.E., Piuzzi, N.S., Mannava, S., Geeslin, A.G., Murray, I.R., Dornan, G.J., Muschler, G.F. y LaPrde, R.F. (2017). "A Call for Standardization in Platelet-Rich Plasma

Preparation Protocols and Composition Reporting". *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 99(20), pp. 1769-1779. DOI: 10.2106/jbjs.16.01374.

Chavers, J. C., Allen, A.K., Ahmed, W., Fuglsang-Damgaard, L.H. y Harrison, A.P. (2018). "The Equine Hindlimb Proximal Suspensory Ligament: an Assessment of Health and Function by Means of Its Damping Harmonic Oscillator Properties, Measured Using an Acoustic Myography System: a New Modality Study". *Journal of Equine Veterinary Science*, 71, pp. 21-26. DOI: 10.1016/j.jevs.2018.09.006.

Chung, M. J., Park, S., Son, J., Lee, J., Yun, H.H., Lee, E., Lee, E.M., Choo, G., Lee, S., Park, H. y Jeong, K. (2019). "Differentiation of equine induced pluripotent stem cells into mesenchymal lineage for therapeutic use". *Cell Cycle*, 18(21), pp. 2954-2971. DOI: 10.1080/15384101.2019.1664224.

Cokelaere, S., Malda, J. y van Weeren, R. (2016). "Cartilage defect repair in horses: Current strategies and recent developments in regenerative medicine of the equine joint with emphasis on the surgical approach". *The Veterinary Journal*, 214, pp. 61-71. DOI: 10.1016/j.tvjl.2016.02.005.

Dahlgren, L. (2009). "Management of tendon injuries". En: Robinson, N.E. y Sprayberry, K. (eds) *Current therapy in equine medicine*. Saint Louis: Elsevier, pp. 518-523.

Davidson, E. J. (2018). "Lameness Evaluation of the Athletic Horse". *Veterinary Clinics of North America - Equine Practice*, 34(2), pp. 181-191. DOI: 10.1016/j.cveq.2018.04.013.

Deloitte (2013)."Estudio del impacto del sector ecuestre en España". Daemon Quest, Deloitte.

Dik, K. J. (1998). *Comparative Ultrasonographic Imaging of Equine Lameness*. Utrecht: Schlütersche.

Dohan Ehrenfest, D. M., Rasmusson, L. y Albrektsson, T. (2009)."Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF)". *Trends in Biotechnology*, 27(3), pp. 158-167. DOI: 10.1016/j.tibtech.2008.11.009.

Dominici, M., Le Blanc, K., Mueller, I., Slaper-Cortenvach, I., Marini, F.C., Kraus, D.S., Deans, R.J., Keating, A., Prockop, D.J. y Horwitz, E.M. (2006). "Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement". *Cytotherapy*, 8(4), pp. 315-317. doi: 10.1080/14653240600855905.

Donadeu, F. X. (2014). "Equine induced pluripotent stem cells or how to turn skin cells into neurons: Horse tissues a la carte?". *Equine Veterinary Journal*, 46(5), pp. 534-537. DOI: 10.1111/evj.12300.

Dowling, B. A., Dart, A.J., Hodgson, D.R. y Smith, R.K.W.(2000). "Superficial digital flexor tendonitis in the horse". *Equine Veterinary Journal*, 32(5), pp. 369-378. DOI: 10.2746/042516400777591138.

Dowling, B. A. y Dart, A. J. (2005). "Mechanical and functional properties of the equine superficial digital flexor tendon". *The Veterinary Journal*, 170(2), pp. 184-192. DOI: 10.1016/j.tvjl.2004.03.021.

Van Drumpt, R. A. M., van der Weegen, W., King, W., Toler, K. y Macenski, M.M. (2016). "Safety and Treatment Effectiveness of a Single Autologous Protein Solution Injection in Patients with Knee Osteoarthritis". *BioResearch Open Access*, 5(1), pp. 261-268. DOI: 10.1089/biores.2016.0014.

Durgam, S. y Stewart, M. (2017). "Evidence Supporting Intralesional Stem Cell Therapy to Improve Equine Flexor Tendon Healing". *Veterinary Evidence*, 2(1), pp. 1-16. doi: 10.18849/ve.v2i1.50.

Dyson, S. J. (2004). "Medical management of superficial digital flexor tendonitis: a comparative study in 219 horses (1992-2000)". *Equine Veterinary Journal*, 36(5), pp. 415-419. DOI: 10.2746/0425164044868422.

Estrada, R. J., Van Weeren, P.R., Van de leest, C.H.A., Boere, J., Reyes, M., Ionita, J.C., Estrada, M. y Lischer, C.J. (2014). "Comparison of healing in forelimb and hindlimb surgically induced core lesions of the equine superficial digital flexor tendon". *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 27(5), pp. 358-365. DOI: 10.3415/VCOT-13-11-0136.

Fortier, L. A., Potter, H.G., Rickey, E.J., Schnabel, L.V., Foo, L.F., Chong, L.R., Stokol, T., Cheetham, J y Nixon, A.J. (2010). "Concentrated bone marrow aspirate improves full-thickness cartilage repair compared with microfracture in the equine model". *The Journal of Bone and Joint Surgery*, 92(10), pp. 1927-1937. DOI: 10.2106/JBJS.I.01284.

Fortier, L. A. y Travis, A. J. (2011). "Stem cells in veterinary medicine". *Stem Cell Research and Therapy*, 2(9), pp. 1-6. DOI: 10.1186/scrt50.

Frisbie, D. D., Kawcak, C.E., Werpy, N.M., Park, R.D. y McIlwraith, C.W. (2007). "Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis". *American Journal of Veterinary Research*, 68(3), pp. 290-296. DOI: 10.2460/ajvr.68.3.290.

Frisbie, D. D., Kawcak, C.E., Werpy, N.M. y McIlwraith, C.W. (2009). "Evaluation of Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction or Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells for

Treatment of Osteoarthritis". *Journal of orthopaedic research*, 27(12), pp. 1675-1680. DOI: 10.1002/jor.20933.

Gaesser, A. M., Underwood, C., Linardi, R.L., Even, K.M., Reef, V.B., Shetye, S.S., Mauck, R.L., King, W.J., Engiles, J.B. y Ortved, K.F. (2021). "Evaluation of Autologous Protein Solution Injection for Treatment of Superficial Digital Flexor Tendonitis in an Equine Model". *Frontiers in Veterinary Science*, 8(July), pp. 1-13. DOI: 10.3389/fvets.2021.697551.

Garbin, L. C. y Olver, C. S. (2020). "Platelet-Rich Products and Their Application to Osteoarthritis". *Journal of Equine Veterinary Science*, 86, p. 102820. DOI: 10.1016/j.jevs.2019.102820.

Gaughan, E. M. (2012). "Osteoarthritis". En: Robinson, E. N. y Sprayberry, K. A. (eds.) *Terapéutica actual en medicina equina*. 6.^a ed. St. Louis: Elsevier, pp. 568-572.

Geburek, F., Gaus, M., Van Schie, H.T.M., Rohn, K. y Stadler, P.M. (2016). "Effect of intralesional platelet-rich plasma (PRP) treatment on clinical and ultrasonographic parameters in equine naturally occurring superficial digital flexor tendinopathies - a randomized prospective controlled clinical trial". *BMC Veterinary Research*, 12(1), pp. 1-16. DOI: 10.1186/s12917-016-0826-1.

Geburek, F., Lietzau, M., Beineke, A., Rohn, K. y Stadler, P.M. (2015). "Effect of a single injection of autologous conditioned serum (ACS) on tendon healing in equine naturally occurring tendinopathies". *Stem Cell Research and Therapy*, 6(1), pp. 1-14. DOI: 10.1186/s13287-015-0115-0.

Glötzbach, J. P., Wong, V.W., Gurtner, G.C. y Longaker, M.T. (2011). "Regenerative Medicine". *Current Problems in Surgery*, 48(3), pp. 148-212. DOI: 10.1067/j.cpsurg.2010.11.002.

Godwin, E. E., Young, N.J., Dudhia, J., Beamish, I.C. y Smith, R.K.W. (2012). "Implantation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells demonstrates improved outcome in horses with overstrain injury of the superficial digital flexor tendon". *Equine Veterinary Journal*, 44(1), pp. 25-32. DOI: 10.1111/j.2042-3306.2011.00363.x.

Golchin, A. y Farahany, T. Z. (2019). "Biological Products: Cellular Therapy and FDA Approved Products". *Stem Cell Reviews and Reports*, 15(2), pp. 166-175. DOI: 10.1007/s12015-018-9866-1.

Goodrich, L. R. y Nixon, A. J. (2006). "Medical treatment of osteoarthritis in the horse - A review". *The Veterinary Journal*, 171(1), pp. 51-69. DOI: 10.1016/j.tvjl.2004.07.008.

Grecu, A. F., Reclaru, L., Ardelean, L.C., Nica, O., Ciucâ, E.M. y Ciurea, M.E. (2019). "Platelet-rich

fibrin and its emerging therapeutic benefits for musculoskeletal injury treatment". *Medicina (Lithuania)*, 55(5), pp. 1-12. doi: 10.3390/medicina55050141.

Griffin, D. J., Bonnecie, E.D., Lachowsky, D.J., Hart, J.C.A., Sparks, H.D., Moran, N., Matthews, G., Nizon, A.J., Cohen, I. y Bonassar, L.J. (2015). "Mechanical characterization of matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI®) grafts in an equine model at 53 weeks". *Journal of Biomechanics*, 48(10), pp. 1944-1949. DOI: 10.1016/j.jbiomech.2015.04.010.

Gugjoo, M. B., Amarpal, Makhdoomi, D.M., Sharma, G.T. (2019). "Equine Mesenchymal Stem Cells: Properties, Sources, Characterization, and Potential Therapeutic Applications". *Journal of Equine Veterinary Science*, 72, pp. 16-27. DOI: 10.1016/j.jevs.2018.10.007.

Hammond, J.W., Hinton, R.Y., Curl, L.A., Muriel, J.M. y Lovering, R.M. (2009). "Use of autologous Platelet-Rich Plasma to Treat Muscle Strain Injuries". *American Journal of Sports Medicine*, 37(6), pp. 1135-1142. DOI: 10.1177/0363546508330974.Use.

Han, S., Sun, H.M., Hwang, K.C. y Kim, S.W.(2015). "Adipose-derived stromal vascular fraction cells: Update on clinical utility and efficacy". *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression*, 25(2), pp. 145-152. DOI: 10.1615/CritRevEukaryotGeneExpr.2015013057.

Henninger, R. (1994). "Treatment of superficial digital flexor tendinitis". *The Veterinary clinics of North America: Equine practice*, 10(2), pp. 409-424. DOI: 10.1016/S0749-0739(17)30362-0.

Herthel, D. J. (2001). "Enhanced Suspensory Ligament Healing in 100 Horses by Stem Cells and Other Bone Marrow Components". *Proceedings of the Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners 2001*, 47, pp. 319-321.

Hunziker, E. B., Lippuner, K., Keel, M.J.B. y Shintani, N. (2015). "An educational review of cartilage repair: precepts & practice - myths & misconceptions - progress & prospects". *Osteoarthritis and Cartilage*, 23(3), pp. 334-350. DOI: 10.1016/j.joca.2014.12.011.

Iacopetti, I., Perazzi, A., Ferrari, V. y Busetto, R. (2012). "Application of Platelet-Rich Gel to Enhance Wound Healing in the Horse: A Case Report". *Journal of Equine Veterinary Science*, 32(3), pp. 123-128. doi: 10.1016/j.jevs.2011.08.012.

Indrawattana, N., Chen, G., Tadokoro, M., Shann, I.H., Ohgushi, H., Teteishi, T., Tanaka, J. y Bunyaratej, A. (2004). "Growth factor combination for chondrogenic induction from human mesenchymal stem cell". *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 320(3), pp. 914-919. DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.06.029.

James, R., Kesturu, G., Balian, G. y Chhabra, A.B. (2008). "Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Option". *The Journal of Hand Surgery*, 33(1),

pp. 102-112. DOI: 10.1016/j.jhsa.2007.09.007.

Kaneko, S. y Yamanaka, S. (2013). "To be immunogenic, or not to be: that's the iPSC question". *Cell Stem Cell*, 12(4), pp. 385-386. DOI: 10.1016/j.stem.2013.03.008.

Kim, G. B., Seo, M., Park, W.T. y Lee, G.W. (2020). "Bone marrow aspirate concentrate: Its uses in osteoarthritis". *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9). DOI: 10.3390/ijms21093224.

Kolios, G. y Moodley, Y. (2012). "Introduction to stem cells and regenerative medicine". *Respiration*, 85(1), pp. 3-10. DOI: 10.1159/000345615.

Lake, S. P., Ansorge, H. L. y Soslowsky, L. J. (2008). "Animal models of tendinopathy". *Disability and Rehabilitation*, 30(20-22), pp. 1530-1541. DOI: 10.1080/09638280701785460.

Lee, E. B., Kim, J. W. y Seo, J. P. (2018). "Comparison of the methods for platelet rich plasma preparation in horses". *Journal of Animal Science and Technology*, 60(20). DOI: 10.1186/s40781-018-0178-4.

Linardi, R. L., Dodson, M.E., Moss, K.L., King, W.J. y Ortved, K.F. (2019). "The effect of autologous protein solution on the inflammatory cascade in stimulated equine chondrocytes". *Frontiers in Veterinary Science*, 6(64), pp. 1-9. DOI: 10.3389/fvets.2019.00064.

Mao, A. S. y Mooney, D. J. (2015). "Regenerative medicine: Current therapies and future directions". *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(47), pp. 14452-14459. DOI: 10.1073/pnas.1508520112.

Marques-Smith, P., Kallerud, A.S., Johansen, G.M., Boysen, P., Jacobsen, A.M., Reitan, K.M., Henriksen, M.M., Löfgren, M. y Fjordbakk, C.T. (2020). "Is clinical effect of autologous conditioned serum in spontaneously occurring equine articular lameness related to ACS cytokine profile?". *BMC Veterinary Research*, 16(1), pp. 1-9. DOI: 10.1186/s12917-020-02391-7.

McCarrel, T. y Fortier, L. (2009). "Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression". *Journal of Orthopaedic Research*, 27(8), pp. 1033-1042. DOI: 10.1002/jor.20853.

McIlwraith, C. (2010). "Recent advances in diagnosis of equine joint disease", *Proceedings of the 2010 17th Kentucky equine research: Nutrition Conference*. Kentucky, 26-27 abril 2010. Lexington: Kentucky equine research, pp. 23-33.

McIlwraith, C. W. (2020). "Principles of musculoskeletal disease". En Baxter, G. M. (ed.). *Adams and Stashak's Lameness in Horses*. John Wiley & Sons, Inc., pp. 801-874. DOI: 10.1007/978-3-319-07323-1_1.

Mcilwraith, C. W., Frisbie, D. D. y Kawcak, C. E. (2012). "The horse as a model of naturally occurring osteoarthritis". *Bone & Joint Research*, 1(11), pp. 297-309. DOI: 10.1302/2046-3758.111.2000132

Montano, C., Auletta, L., Greco, A., Costanza, D., Coluccia, P., Del Prete, C., Meomartino, L. y Pasaloni, M.P. (2021). "The use of platelet-rich plasma for treatment of tenodesmic lesions in horses: A systematic review and meta-analysis of clinical and experimental data". *Animals*, 11(3), pp. 1-18. DOI: 10.3390/ani11030793.

Navani, A., Li, G. y Chrystal, J. (2017). "Platelet rich plasma in musculoskeletal pathology: A necessary rescue or a lost cause?". *Pain Physician*, 20(3), pp. E345-E356. DOI: 10.36076/ppj.2017.e356.

Nixon, A. J., Begum, L., Mohammed, H.O., Huibregtse, B., O'Callaghan, M.M., y Matthews, G.L. (2011). "Autologous chondrocyte implantation drives early chondrogenesis and organized repair in extensive full- and partial-thickness cartilage defects in an equine model". *Journal of Orthopaedic Research*, 29(7), pp. 1121-1130. DOI: 10.1002/jor.21366.

Nixon, A. J., Dahlgren, L.A., Haupt, J.L., Yeager, A.E. y Ward, D.L. (2008). "Effect of adipose-derived nucleated cell fractions on tendon repair in horses with collagenase-induced tendinitis". *American journal of veterinary research*, 69(7), pp. 928-937. DOI: 10.2460/ajvr.69.7.928

Ortved, K. F. (2018). "Regenerative Medicine and Rehabilitation for Tendinous and Ligamentous Injuries in Sport Horses". *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 34(2), pp. 359-373. DOI: 10.1016/j.cveq.2018.04.012.

Oryan, A., Goodship, A. E. y Silver, I. A. (2008). "Response of a collagenase-induced tendon injury to treatment with a polysulphated glycosaminoglycan (Adequan)". *Connective Tissue Research*, 49(5), pp. 351-360. DOI: 10.1080/03008200802325169.

Owens, S. D., Kol, A., Walker, N.J. y Borjesson, D.L. (2016). "Allogeneic Mesenchymal Stem Cell Treatment Induces Specific Alloantibodies in Horses". *Stem Cells International*, 2016, pp. 1-8. DOI: 10.1155/2016/5830103.

Palmer, S. E., Genovese, R., Longo, K.L., Goodman, N. y Dyson, S. (1994). "Practical management of superficial digital flexor tendinitis in the performance horse". *The Veterinary*

clinics of North America: Equine practice, 10(2), pp. 425-481. DOI: 10.1016/S0749-0739(17)30363-2.

Pratley, L. (2020). "In horses with osteoarthritis, is mesenchymal stem cell therapy more effective at managing lameness than intra-articular corticosteroids?". *Veterinary Evidence*, 5(3). doi: 10.18849/ve.v5i3.317.

Radcliffe, C. H., Flaminio, M. J. B. F. y Fortier, L. A. (2010). "Temporal analysis of equine bone marrow aspirate during establishment of putative mesenchymal progenitor cell populations". *Stem Cells and Development*, 19(2), pp. 269-281. DOI: 10.1089/scd.2009.0091.

Reef, V. B. (2001). "Superficial digital flexor tendon healing: ultrasonographic evaluation of therapies". *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 17(1), pp. 159-178. DOI: 10.1016/S0749-0739(17)30081-0.

Renzi, S., Riccò, S., Dotti, S., Sesso, L., Grolli, S., Cornali, M., Carlin, S., Patruno, M., Cinotti, S. y Ferrari, M. (2013). "Autologous bone marrow mesenchymal stromal cells for regeneration of injured equine ligaments and tendons: A clinical report". *Research in Veterinary Science*, 95(1), pp. 272-277. DOI: 10.1016/j.rvsc.2013.01.017.

Ribitsch, I., Oreff, G. L. y Jenner, F. (2021) "Regenerative Medicine for Equine Musculoskeletal Diseases", *Animals*, 11(1), pp. 234-264. DOI: 10.3390/ani11010234.

Routh, J., Strang, C., Gilligan, S. y Dyson, S. (2019). "An investigation of the association between hindlimb conformation and suspensory desmopathy in sports horses". *Equine Veterinary Education*, 32(S10), pp. 183-192. DOI: 10.1111/eve.13089.

Russell, J. W., Russel, T.M., Vasey, J.R. y Hall, M.S. (2016). "Autologous bone marrow aspirate for treatment of superficial digital flexor tendonitis in 105 racehorses". *Veterinary Record*, 179(3), p. 69. DOI: 10.1136/vr.103620.

Sandoval, J. A., López, C. y Carmona, J. U. (2013). "Therapies intended for joint regeneration in the horse". *Archivos de Medicina Veterinaria*, 45(3), pp. 229-236. DOI: 10.4067/S0301-732X2013000300002.

Schär, M. O., Díaz-Romero, J., Kohl, S., Zumstein, M.A. y Nesic, D. (2015). "Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro". *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 473(5), pp. 1635-1643. DOI: 10.1007/s11999-015-4192-2.

Schnabel, L. V., Lynch, M.E., Van Der Meulen, M.C.H., Yeager, A.E., Kornatowski, M.A. y Nixon, A.J. (2009). "Mesenchymal stem cells and insulin-like growth factor-I gene-enhanced mesenchymal stem cells improve structural aspects of healing in equine flexor digitorum

superficialis tendons". *Journal of Orthopaedic Research*, 27(10), pp. 1392-1398. DOI: 10.1002/jor.20887.

Schnabel, L. V., Fortier, L.A., Mcilwraith, C.W. y Nobert, K.M. (2013). "Therapeutic use of stem cells in horses: Which type, how, and when?". *The Veterinary Journal*, 197(3), pp. 570-577. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.04.018.

Schroeder, A., Rubin, P., Kokai, L., Sowa, G., Chen, J. y Onishi, K. (2020). "Use of Adipose-Derived Orthobiologics for Musculoskeletal Injuries: A Narrative Review". *American Academy of Physical medicine & rehabilitation*, 12(8), pp. 805-816. DOI: 10.1002/pmrj.12291.

Scott, M. (2008). "Musculoskeletal Injuries in Nonracing Quarter Horses". *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 24(1), pp. 133-152. DOI: 10.1016/j.cveq.2007.11.006.

da Silva Meirelles, L., Fontes, A.M., Covas, D.T. y Caplan, A.I. (2009). "Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells". *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 20(5-6), pp. 419-427. DOI: 10.1016/j.cytofr.2009.10.002.

Singer, E. R., Barnes, J., Saxby, F. y Murray J.K. (2008). "Injuries in the event horse: Training versus competition". *The Veterinary Journal*, 175(1), pp. 76-81. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.11.009.

Smith, R. K. W., Korda, M., Blunn, G.W. y Goodship, A.E. (2003). "Isolation and implantation of autologous equine mesenchymal stem cells from bone marrow into the superficial digital flexor tendon as a potential novel treatment". *Equine Veterinary Journal*, 35(1), pp. 99-102. DOI: 10.2746/042516403775467388.

Smith, R. K. W. (2008). "Tendon and Ligament Injury", Anual convention of the American Association of Equine Practitioners. San Diego: AAEP, pp. 475-501.

Smith, R. K. W. y Schramme, M. (2003). "Tendon injury in the horse: Current theories and therapies". *In Practice*, 25(9), pp. 529-539. DOI: 10.1136/inpract.25.9.529.

Spees, J. L., Lee, R. H. y Gregory, C. A. (2016). "Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function". *Stem Cell Research and Therapy*, 7(1), pp. 1-13. DOI: 10.1186/s13287-016-0363-7.

Stafford, C. D., Colberg, R. E. y Garrett, H. (2020). "Orthobiologics in elbow injuries". *Clinics in Sports Medicine*, 39(3), pp. 717-732. DOI: 10.1016/j.csm.2020.02.008.

Stewart, M. C. y Stewart, A. A. (2011). "Mesenchymal stem cells: characteristics, sources, and mechanisms of action". *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 27(2), pp. 243-261. DOI: 10.1016/j.cveq.2011.06.004.

Strem, B. M., Hicok, K.C., Zhu, M., Wulur, I., Alfonso, Z., Schreiber, R.E., Fraser, J. K. y Hedrick, M.H. (2005). "Multipotential differentiation of adipose tissue-derived stem cells". *Keio Journal of Medicine*, 54(3), pp. 132-141. DOI: 10.2302/kjm.54.132.

Subdirección general de producciones ganaderas y cinegéticas y Ministerio de agricultura, pesca y alimentación (2020) "Principales indicadores económicos. El sector equino en cifras". Madrid: MAPA

Takahashi, K. y Yamanaka, S. (2006). "Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors". *Cell*, 126(4), pp. 663-676. DOI: 10.1016/j.cell.2006.07.024.

Taylor, S. y Clegg, P. (2011). "Collection and propagation methods for mesenchymal stromal cells". *Veterinary clinics of North America: Equine Practice*, 27(2), pp. 263-274. DOI: 10.1016/j.cveq.2011.05.003.

Tessier, L., Bienkle, D., Williams, L.B., y Koch, T.G.(2015). "Phenotypic and immunomodulatory properties of equine cord blood-derived mesenchymal stromal cells". *PLoS One*, 10(4), pp. 1-19. DOI: 10.1371/journal.pone.0122954.

Textor, J. (2011). "Autologous biologic treatment for equine musculoskeletal injuries: platelet-rich plasma and IL-1 receptor antagonist protein". *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 27(2), pp. 275-298. DOI: 10.1016/j.cveq.2011.05.001.

Thomopoulos, S., Parks, W.C., Rifkin, D.B. y Derwin, K.A. (2015). "Mechanisms of tendon injury and repair". *Journal of Orthopaedic Research*, 33(6), pp. 832-839. DOI: 10.1002/jor.22806.

Tnibar, A. (2010). "Desmotomy of the Accessory Ligament of the Deep Digital Flexor Tendon in Horses: An Update". *Journal of Equine Veterinary Science*, 30(12), pp. 715-719. DOI: 10.1016/j.jevs.2010.11.006.

Tomlinson, F., Terschuur, J. y Henson, F. (2021). "Use of autologous products for the treatment of joint and soft tissue disease in horses: A systematic review". *Veterinary Record*, 188(2), pp. 122-129. doi: 10.1002/vetr.9.

Torricelli, P., Fini, M., Filardo, G., Tschon, M., Pischedda, M., Pacorini, A., Kon, E. y Giardino, R. (2011). "Regenerative medicine for the treatment of musculoskeletal overuse injuries in competition horses". *International Orthopaedics*, 35(10), pp. 1569-1576. DOI: 10.1007/s00264-011-1237-3.

Tyrnenopoulou, P., Diakakis, N., Angelopoulou, S., Pyrros, A., Mparous, E., Koliakos, G. y Karayannopoulou, M. (2015). "Clinical application of adipose-derived stromal vascular fraction

in 3 Thoroughbred horses with superficial digital flexor tendonitis: case report". *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 66(4), pp. 215-222. DOI: 10.12681/jhvms.15865

Veloso Alvarez, A., Boone, L., Pondugula, S.R., Caldwell, F. y Wooldridge, A. (2020). "Effects of autologous conditioned serum, autologous protein solution, and triamcinolone on inflammatory and catabolic gene expression in equine cartilage and synovial explants treated with IL-1 β in co-culture". *Frontiers in Veterinary Science*, 7. DOI: 10.3389/fvets.2020.00323.

Visser, L. C., Aroczky, S.P., Caballero, O. y Gardner, K.L. (2011). "Evaluation of the use od an autologous platelet-rich fibrin membrane to enhance tendon healing in dogs". *American Journal of Veterinary Research*, 72(5), pp. 699-705. DOI: 10.2460/ajvr.72.5.699

Voga, M., Adamic, N., Vengust, M. y Majdic, G.(2020). "Stem cells in veterinary medicine—current state and treatment options". *Frontiers in Veterinary Science*, 7(May), pp. 1-20. DOI: 10.3389/fvets.2020.00278.

Voleti, P. B., Buckley, M. R. y Soslowsky, L. J. (2012). "Tendon healing: Repair and regeneration". *Annual Review of Biomedical Engineering*, 14, pp. 47-71. DOI: 10.1146/annurev-bioeng-071811-150122.

Waselau, M., Sutter, W.W., Genovese, R.L. y Bertone, A.L. (2008). "Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses". *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 232(10), pp. 1515-1520. DOI: 10.2460/javma.232.10.1515.

van Weeren, P. R. y Back, W. (2016). "Musculoskeletal disease in aged horses and its management". *The Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 32(2), pp. 229-247. DOI: 10.1016/j.cveq.2016.04.003.

Williams, R. B., Harkins, L.S., Hammond, C.J. y Wood, J.L.N. (2001). "Racehorse injuries, clinical problems and fatalities recorded on British racecourses from flat racing and National Hunt racing during 1996, 1997 and 1998". *Equine veterinary journal*, 33(5), pp. 478-486. doi: 10.2746/042516401776254808.

Yamanaka, S. (2009). "A fresh look at iPS cells". *Cell*, 137(1), pp. 13-17. DOI: 10.1016/j.cell.2009.03.034.

Zayed, M., Adair, S., Ursini, T., Schumacher, J., Misk, N. y Dhar, M. (2018). "Concepts and challenges in the use of mesenchymal stem cells as a treatment for cartilage damage in the horse". *Research in Veterinary Science*, 118, pp. 317-323. DOI: 10.1016/j.rvsc.2018.03.011.