



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**USO DE CÉLULAS MADRE COMO ALTERNATIVA  
TERAPÉUTICA EN PROCESOS DEGENERATIVOS  
DE OSTEOARTOSIS EN PERROS  
(RECOPIACIÓN BIBLIOGRAFICA)**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**P R E S E N T A :**

**DIANA CRUZ RODRIGUEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:  
M. en C. ENRIQUE FLORES GASCA**

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, **2017**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.  
ASUNTO: **VOTO APROBATORIO**  
SUPERIORES - CUAUTITLÁN

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A.: LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán.



DEPARTAMENTO DE  
EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad nos permitimos comunicar a usted que revisamos **La Tesis:**

**Uso de células madre como alternativa terapéutica en procesos degenerativos de osteoartritis en perros.**  
(Recopilación Bibliográfica)

Que presenta la pasante: **DIANA CRUZ RODRÍGUEZ**

Con número de cuenta: **30100432-3** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de septiembre de 2016.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	Dr. Misael Rubén Oliver González	
<b>VOCAL</b>	M. en C. Gerardo Garza Malacara	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Enrique Flores Gasca	
<b>1er SUPLENTE</b>	M. en C. Crisóforo Mercado Márquez	
<b>2do SUPLENTE</b>	M. en M.V.Z. María del Rocio Morales Méndez	

NOTA: Los sindocales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

En caso de que algún miembro del jurado no pueda asistir al examen profesional deberá dar aviso por anticipado al departamento.  
(Art 127 REP)

IHM/ntm\*

*A MI HIJA*

*ANA ELISA CRUZ*

## Agradecimientos

*A la VIDA, por darme la oportunidad de ver los sueños cumplidos a pesar de las adversidades y los miedos, por mover las piezas de este enorme ajedrez del universo para abrir mi camino, por hacer que las frecuencias cardíacas se normalizaran para permitirme disfrutar de mis victorias.*

*A mi hija ANA ELISA CRUZ, porque cada sonrisa, cada caricia, cada palabra fueron razones para no detenerme. Este triunfo me permite demostrarte que las promesas se cumplen por muy difíciles que parezcan. Gracias por ser el motor que mueve mi existencia.*

*A mi MADRE, por ser cómplice de mis locuras y nunca dejarme caer. Gracias por confiar en mí hasta en los momentos más difíciles, porque tu fortaleza, tu apoyo incondicional y tus palabras me han hecho quien soy. Gracias por enseñarme que la vida es un comenzar constante al que nunca hay que temerle.*

*A LILIANA KEMNA(CRUZ), por ser mi hermana, mi amiga, mi compañera, mi maestra, mi guía, mi apoyo, por tenerme paciencia y por cuidarme, pero sobre todo por ser el pilar más importante en la obtención de este triunfo . Desde niña me enseñaste que los lazos que unen esta hermandad van más allá de la sangre y es por eso que puedes estar segura que mis logros también son tuyos.*

*A ANA LIDIA CRUZ, porque a pesar de la distancia siempre has estado presente, con tu apoyo has hecho que el camino sea menos complicado y me has dado armas para no detenerme.*

*A mi PADRE, por demostrarme que a veces uno comete errores pero debe tratar de enmendarlos.*

*A AZARIEL MENDEZ, por no dejarme renunciar a mis sueños. Gracias por tu apoyo y cariño que me han ayudado a combatir a mis demonios.*

*A mis amigos que se convirtieron en la familia que uno escoge. Aquellos que me tendieron la mano en todo momento y me enseñaron fuertes lecciones de vida.*

*A Vicky, por tus palabras. Me hubiera encantado que estuvieras aquí para ver concluido este logro.*

*Al M.en C. Enrique Flores Gasca, por su paciencia y apoyo.*

*To GARY PAIT, DVM, my mentor, my teacher but above all, my friend. I have no words to express my gratitude. Thank you for being an essential part of this achievement. WE DID IT DOCTORCITO PAIT!!!!*

## INDICE

Capítulo 1. Introducción.....	6
1.1 Diferenciación celular a nivel embrionario.....	8
1.1.1 Fecundación .....	8
1.1.2 Implantación y Placentación.....	8
1.1.3 Periodo Germinal.....	9
1.1.4 Membranas Extraembrionarias.....	10
1.2 Linajes celulares .....	11
1.2.1. Organogénesis.....	11
1.2.2. Derivados de la hoja germinativa externa. Neuro-Ectodermo.....	11
1.2.3. Derivados de la hoja germinativa externa. Epi-Ectodermo.....	12
1.2.4. Derivados de la hoja germinativa interna. Endodermo.....	13
1.2.5. Derivados de la hoja germinativa media. Mesodermo.....	15
1.3 Morfofisiología de células Mesenquimales.....	21
1.4 Tipos de células Madre. ....	22
1.5 Células Madre Mesenquimales y su aplicación terapéutica en el campo de la medicina.....	24
1.6 Breve historia de la Terapia con Células Madre a nivel internacional.....	25
Capítulo 2. Lesiones patológicas comunes en sistema musculoesquelético.....	28
2.1 Musculares.....	28
2.1.1. Generalidades.....	28
2.1.2. Trastornos del desarrollo.....	28
2.1.3. Trastornos degenerativos.....	29
2.1.4. Trastornos inflamatorios.....	30
2.1.5. Neoplasias.....	32
2.2 Hueso.....	33
2.2.1 Generalidades.....	33
2.2.2 Trastornos metabólicos del hueso.....	38
2.2.3 Trastornos inflamatorios del hueso.....	41
2.2.4 Fracturas. ....	42
2.2.5 Lesiones degenerativas óseas.....	43
2.2.6 Lesiones proliferativas no neoplásicas.....	44
2.2.7 Neoplasias de hueso y tejidos blandos adyacentes. ....	45

2.3	Articulaciones.-----	47
	2.3.1. Generalidades-----	47
	2.3.2. Trastornos inflamatorios.-----	48
Capítulo 3. Procesos Degenerativos comunes articulares y óseos hereditario en el perro-. 50		
3.1	Trastornos del desarrollo del esqueleto. Generalidades y definiciones.-----	50
	3.1.1 Definición de osteocondrosis y osteocondritis Disecante.-----	50
	3.1.2 Definición de Displasia.-----	53
	3.1.3 Definición de Artrosis.-----	55
3.2	Enfermedad articular degenerativa.-----	56
3.3	Herniación de disco intervertebral.-----	57
3.4	Osteocondrosis de la cabeza humeral.-----	57
3.5	Cartílago retenido.-----	59
3.6	Osteocondrosis del cóndilo femoral.-----	61
3.7	Displasia de codo.-----	62
	3.7.1. Apófisis ancónea no unida.-----	65
	3.7.2. Enfermedad de la apófisis coronoides medial.-----	66
	3.7.3. Osteocondrosis de la cara medial del cóndilo humeral.-----	67
Capítulo 4. Displasia de Cadera ----- 68		
4.1.	Anatomía, desarrollo de la cadera y evidencia radiográfica.-----	70
4.2.	Razas afectadas.-----	73
4.3.	Prevalencia de la displasia de cadera.-----	74
4.4.	Signos clínicos.-----	75
4.5.	Examen Físico.-----	79
4.6.	Incidencias Radiográficas.-----	81
4.7.	Diagnóstico Radiográfico.-----	84
	4.7.1 Patrones de los cambios radiográficos.-----	84
4.8.	Diagnóstico diferencial Radiográfico.-----	88
4.9.	Tratamientos convencionales.-----	90
	4.9.1 Tratamiento conservador.-----	90
	4.9.2 Tratamiento médico.-----	91
	4.9.3 Tratamiento quirúrgico.-----	92
4.10.	Pronóstico para tratamientos convencionales.-----	94

Capítulo 5. Células Madre Mesenquimales en tejidos adultos.-----	96
5.1 Células Madre Somáticas.-----	96
5.2 Células Madre Mesenquimales (Somáticas)-----	98
5.3 Caracterización de células madre mesenquimales-----	100
5.4 Ingeniería Tisular.-----	101
5.5 Regeneración de Tejidos.-----	103
5.6 Fuentes convencionales y alternativas de células troncales mesenquimales en tejidos adultos.-----	105
Capítulo 6. Criterios de Evaluación para la elección de pacientes candidatos a la terapia con Células Madre.-----	107
Capítulo 7. Metodología y Procesamiento de Tejido graso para la extracción de células madre somáticas.-----	115
Capítulo 8. Sitios de aplicación y resultados de estudios de células madre reimplantadas para procesos degenerativos de osteoartrosis en perros.-----	122
Capítulo 9. Discusión.-----	128
Capítulo 10. Conclusiones.-----	135
Capítulo 11. Bibliografía -----	137



## **1. INTRODUCCIÓN**

En la última década, el enfoque de las enfermedades inmunomediadas y crónico degenerativas que aquejan a los animales de compañía ha cambiado, por lo que se ha incrementado la necesidad de ofrecer una mejor calidad de vida a los pacientes que las padecen, de tal forma que mejoren las expectativas de sobrevivencia. La necesidad de encontrar nuevas alternativas de diagnóstico y tratamiento sobre estas enfermedades, en especial, la osteoartritis, tanto en medicina humana como veterinaria, ha llevado a muchos médicos e investigadores a buscar terapias con el uso de células autólogas con la finalidad de promover la regeneración y/o reparación de las diferentes lesiones ocasionadas por estas patologías, proponiendo alternativas terapéuticas innovadoras y funcionales en pacientes caninos. Actualmente a nivel internacional se han desarrollado estudios sobre los usos de éstas células arrojando resultados alentadores. (Gómez 2012; Villalobos 2013)

En medicina veterinaria, la terapia experimental con células madre ha sido aplicada principalmente en equinos, por lo que la investigación en pequeñas especies todavía se encuentra en proceso. Sin embargo, hoy en día se han iniciado algunos tratamientos con el uso de células troncales en nuestro país (Gómez 2012; Villalobos 2013), sin que exista un adecuado y sólido antecedente científico. En la mayoría de los tratamientos reportados en México siguen siendo el uso de medicamentos que tienden a aliviar signos clínicos en lugar de curar la enfermedad. En relación a las células madre en pacientes caninos, se ha demostrado que no todos los pacientes son candidatos al uso de estas técnicas, ya que es de suma importancia la valoración, el examen clínico general y específico, las pruebas radiológicas y tomar en cuenta el estado general del mismo paciente. (Flores-Figueroa 2010)

En los Estados Unidos, la causa más común de dolor crónico en pacientes caninos es el producido por osteoartritis con más del 20%, es decir, de 10 a 12 millones de perros afectados. Por lo que ha sido indispensable encontrar alternativas de tratamiento como las células madre, también llamadas células madre mesenquimales derivadas de tejido autólogo, obtenidas básicamente del tejido graso del paciente, y sometidas a procesos de aislamiento, y diferenciación para posteriormente ser reimplantadas en el paciente, evitando rechazo de tipo inmunológico. La complicación de este tipo de procedimientos, tiempo, y costos, disminuye las probabilidades de hacer de estas alternativas, tratamientos específicos, sin embargo, muchos estudios demuestran que el campo de la medicina veterinaria está avanzando a pasos agigantados en materia de investigación por lo que es importante entender que los resultados que han arrojado este tipo de estudios nos abren paso a una nueva visión sobre la llamada ingeniería tisular. (Blank 2007)

En general, los pacientes con artrosis crónica que han sido tratados a través de la inyección intraarticular de células madre mesenquimales han demostrado mejoras

sustantivas en relación a sus claudicaciones, movimientos y disminución del dolor a la manipulación. Esto implica que tanto médicos veterinarios como propietarios han notado cambios favorables con este tipo de procedimientos. (Guercio *et al.* 2007)

En el presente proyecto se ha recopilado además de información básica de anatomofisiología, sobre las patologías de osteoartritis, y resultados obtenidos de distintos trabajos e investigaciones a nivel internacional con la finalidad de abrir paso a científicos, catedráticos, estudiantes y docentes de las áreas relacionadas para la adquisición de conocimientos y distintos criterios sobre uno de los temas más controversiales de los últimos tiempos, la terapia con células madre.

## 1.1 *Diferenciación celular a nivel embrionario*

### 1.1.1. *Fecundación*

La fecundación consiste en la activación del gameto femenino por penetración del espermatozoide, con la consiguiente mezcla de información genética contenida en los pronúcleos masculino y femenino. En condiciones naturales, ésta tiene lugar en la tuba uterina u oviducto, específicamente en la ampolla, marcando la etapa del inicio del desarrollo embrionario. Los espermatozoides capacitados son los que tienen posibilidades de atravesar la corona radiada, primer obstáculo que deben salvar, llegando a la zona pelúcida; capa de glicoproteínas que provoca que la reacción acrosómica, donde se rompe parcialmente el acrosoma con liberación de determinadas enzimas, (acrosina y hialurodinasa entre otros), con lo cual el espermatozoide atraviesa la zona pelúcida llegando a contactar con la membrana propia del ovocito de segundo orden. Simultáneamente se produce un cambio en la permeabilidad de la zona pelúcida que se va a convertir en un obstáculo insalvable para otros espermatozoides (*bloqueo de polispermia*). Por último, acontece la fusión de las membranas de ambas células con la particularidad de que la membrana correspondiente al espermatozoide está parcialmente rota, finalmente éste último penetra en el ovocito de segundo orden, pero tanto la cola como la membrana de la cabeza degeneran. Los gametos son células haploides y se pasa al estado diploide únicamente cuando la fecundación ha concluido y la primera segmentación ha ocurrido. (Salazar 2013)

### 1.1.2. *Implantación y placentación*

La implantación es una unión firme del ovulo fecundado con la tuba uterina, y termina con una fijación íntima que incluye una proximidad de los sistemas vasculares del ya ahora embrión y de la pared uterina, que facilita el imprescindible intercambio de sustancias (placentación). Entre los distintos requisitos morfológicos para que la implantación pueda llevarse a cabo se consideran como más relevantes la pérdida de la zona pelúcida, los cambios en la superficie externa de la blástula, y la modificación superficial del endometrio o capa profunda del útero. La zona pelúcida tiene como misión la protección fisicomecánica e inmunológica de la blástula. Sin embargo, es un impedimento para que el blastocito se anexe a la mucosa del útero por lo cual debe producirse la eclosión de la blástula, que consiste en la rotura de la zona pelúcida y su consiguiente liberación. La primera etapa conducirá a definir los cambios definitivos en la superficie externa de la blástula, está directamente relacionada con la formación de las membranas externas. Desde fases tempranas de la implantación en la superficie del corion se observan pequeñas proyecciones digitiformes hacia el exterior, las vellosidades coriales. (Mc Geady *et al.* 2006)

### 1.1.3. Periodo Germinal

Las cuatro fases que integran el periodo germinal son; la segmentación, morulación, blastulación y la gastrulación.

*Segmentación:* El desarrollo comienza con la primera división de segmentación que debe considerarse como crítica en cuanto da como resultado dos células dotadas del número de cromosomas típico de la especie. A partir de este momento las divisiones se suceden con la particularidad de que, por un lado, no hay crecimiento celular debido a que el ciclo celular en estos estadios iniciales es muy corto y la fase de crecimiento esta abolida, dando como resultado que un número de células cada vez más numeroso se ubique en un mismo volumen, y por otro lado las diferencias son destacadas según especies. El número de divisiones sin crecimiento que se produce durante la segmentación es indeterminada. Probablemente la lentitud con la que se realiza la segmentación en los mamíferos condiciona el proceso puesto que se trata de una segmentación total pero no del todo simétrica. (Ruairi *et. al.* 2005)

*Morulación:* Las células cada vez más pequeñas y numerosas, dispuestas en el mismo volumen inicial, se agrupan entre si y adquieren un aspecto característico que define a la segunda fase del periodo germinal, la morulación. (Salazar 2013)

*Blastulación:* Los reducidos espacios existentes entre las células centrales de la mórula se llenan de líquido proteínico, crecen y desplazan a la periferia al conjunto celular; llega un momento en el que hay un solo estrato de células alrededor de un espacio denominado blatocele. Una vez concluida la Morulación, determinadas células se polarizan, es decir, se desplazan a la periferia, mientras que otras no sufren la polarización y ocupan parcialmente la cavidad ya constituida. Así pues la blastulación completa queda organizada por un estrato celular periférico, llamado trofoectodermo o trofoblasto, una agrupación celular en el interior de la cavidad, el botos o escudo embrionario más propiamente denominado masa celular interna, y una cavidad, el blastocele o lecitocele. (Martinello *et. al.* 2010)

*Gastrulación:* La gastrulación o topogénesis embrionaria es el conjunto de cambios morfogenéticos de la blástula que conducen a la constitución de las capas fundamentales de los metazoos: ectodermo, mesodermo y endodermo. Durante ésta se asiste a una intensa actividad celular donde el movimiento de las células es constante y las modificaciones en tamaño son frecuentes pero, sin duda, lo más significativo de esta fase compete a la neo-formación y diferenciación celular. Es decir, constituyen grupos celulares con diferente valor potencial que se ordenan y organizan en capas las cuales, a medida que avanza el desarrollo, representaran el esbozo de los órganos. (Guercio *et al.* 2007)

En los mamíferos placentarios la blástula tiene dos tipos de células bien diferenciados topográficamente; un grupo de células, a consecuencia de la polarización, se dispone en la periferia y conforma el trofoectodermo, y otro grupo, no polarizado, queda en el interior del blastocele y da lugar a la masa celular interna. Según avanza el desarrollo esta se ordena y se estratifica, y acaba por formar un germen bilaminar, siendo el epiblasto la capa superficial y el hipoblasto la capa más profunda. A continuación la actividad y el movimiento celular son intensos. La representación de la línea primitiva, surco primitivo, nódulo primitivo, fosa primitiva, prolongación cefálica y pliegue cefálico es posible una vez abiertas y separadas las paredes del amnios. Se indica así mismo la estratificación celular, de superficie a profundidad, que da lugar al ectodermo, mesodermo y endodermo definitivos. Como consecuencia del intenso movimiento celular que caracteriza a la gastrulación un grupo de células, de origen presuntamente mesodérmico, organiza la placa precordial y la notocorda, estructuras que tendrán un importante efecto inductor sobre los derivados de las hojas germinativas. (Salazar 2013)

#### 1.1.4. Membranas extraembrionarias.

Existen cuatro membranas extraembrionarias: amnios, corion o serosa, vesícula o saco vitelino y alantoides. (Ruairi *et.al.* 2005)

*Amniogénesis por plegamiento:* El trofoectodermo que recubre la masa celular interna desaparece, y a partir de este momento se producen sendos pliegues a uno y otro lado de la línea media, por lo que hay un hundimiento o descenso de la masa celular interna hacia el blastocele o lecitocelo. Los pliegues se aproximan entre sí hasta que llega un momento en que contactan y, con posterioridad, las hojas superficial y profunda se separan, queda organizado el amnios, y periféricamente se delimita el corion o serosa. Entre tanto, la masa celular interna se reorganiza en el sentido de que evoluciona a una estructura celular bilaminar- epiblasto e hipoblasto- y comienza la gastrulación, por lo que la vesícula vitelina primero, y más tarde el alantoides, terminan por definirse. El resultado final es que el amnios, que alberga el líquido amniótico, quedara integrado por la asociación del ectodermo primitivo (células límite del trofoblasto) y la hoja parietal del mesodermo, el corion o serosa por el trofoblasto y la hoja parietal del mesodermo, la vesícula vitelina, que contiene líquido pero no vitelo, por el endodermo primitivo (hipoblasto) y la hoja visceral del mesodermo, y el alantoides, que se forma por una evaginación de la parte posterior del intestino primitivo, por el endodermo y la hoja visceral del mesodermo. (Gattegno-Ho *et. al.* 2014)

## 1.2. Linajes celulares.

### 1.2.1. Organogénesis.

Sin que exista un límite natural y claro de demarcación entre la gastrulación y la organogénesis comienzan a aparecer los esbozos de los órganos derivados de cada una de las hojas germinativas recién constituidas. Es decir, que la diferenciación celular, iniciada en estadios precoces del desarrollo, se manifiesta claramente a nivel morfológico. Esto equivale a que las variaciones de formación o de creación empiezan a tener una clara representación. A este periodo embrionario se le describe también con el nombre de organogénesis, haciendo referencia a la formación de órganos. (Blank 2007)

### 1.2.2. Derivados de la hoja germinativa externa: Neuro-Ectodermo

Se ha dado la denominación de epi-ectodermo y neuro-ectodermo a los derivados superficial y profundo respectivamente del ectodermo, que dan como resultado la formación genérica de la epidermis y el tejido nervioso. El modelo de desarrollo del neuro-ectodermo es el tubo nervioso, además de las crestas neurales en cuanto a formadoras del sistema nervioso periférico, y como modelo de desarrollo del epi-ectodermo la epidermis y la glándula mamaria. (Flores-Figueroa *et. al* 2006)

El efecto inductor que ejerce en la placa precordial y la notocorda sobre la hoja germinativa externa recibe el nombre de inducción neural. Esta denominación se debe a que la inducción sobre el ectodermo actúa exclusivamente en la parte central, media y dorsal del germen, zona a partir de la cual se constituye el tejido nervioso. Primero se forma la placa neural, que es consecuencia de un aplanamiento de la zona, a continuación la placa se transforma en surco por hundimiento de la misma y por fin el surco se cierra y se convierte en tubo. Un grupo de células que inicialmente está asociado a la placa y al surco termina por independizarse y da lugar a entidades localizadas a uno y otro lado de la línea media, denominadas crestas neurales. Las tres etapas, la placa, el surco y el tubo, están presentes en un mismo estadio del desarrollo. El segmento del tubo se extiende desde el centro hacia la parte anterior y posterior del germen, y cuando alcanza los extremos el largo tubo nervioso todavía comunica con el líquido amniótico a través de los neuroporos anterior y posterior. Cuando se cierran ambos neuroporos finaliza la neurulación, el tubo nervioso completo y cerrado representa el primitivo SNC, mientras las crestas neurales organizan el SNP. (Guercio *et. al* 2012)

Se consideran en primer lugar los cambios morfológicos macroscópicos externos. Aunque el tubo nervioso primitivo debería ser en principio morfológicamente uniforme y regular en toda su extensión, lo cierto es que desde las fases iniciales de su

formación se aprecia un incremento de volumen en la parte anterior. El aumento de tamaño y su localización topográfica son claros indicios de que esta región del tubo está destinada a convertirse en encéfalo, la parte más evolucionada del SNC. Asimismo, esta misma región presenta dos manifiestas curvaturas definidas por los pliegues o flexuras cefálica y cervical, que marcan el comienzo de la característica división en diferentes territorios nerviosos o vesículas encefálicas. Algo más tarde se diferencia un nuevo pliegue, el pliegue del puente o flexura pontina, a la vez que prosigue el cambio de la morfología externa. Estas modificaciones son el primer indicio de la separación del prosencéfalo, diencéfalo, mesencéfalo y romboencéfalo. La parte central y posterior del Tubo Neural Primitivo (TNP), que se convertirá en la médula espinal, mantiene un perfil morfológico externo uniforme, si bien destaca el desplazamiento progresivo de su terminación, modificación que corresponde con el futuro cono medular, y los ensanchamientos del tubo coincidentes con las extremidades, que darán lugar a las intumescencias cervical y lumbar. (Martinello *et al.* 2010)

Los cambios morfológicos macroscópicos externos condicionan el interior del TNP, y los cambios morfológicos macroscópicos internos quedan definidos por un incremento considerable de la pared del tubo y una notoria reducción de la luz. Esta luz del TNP es la cavidad del primitivo SNC, y evoluciona de distinta manera según el nivel que se considere. En la pared del TNP que mantiene la regularidad, la luz del tubo se oblitera y queda reducida a un pequeño conducto que será el canal central o conducto que será el canal central o conducto de epéndimo de la médula espinal del animal adulto. A nivel de la vesícula romboencefálica la luz del tubo se ensancha en el plano horizontal y formará el cuarto ventrículo; a nivel de la vesícula mesencefálica no experimenta cambios con respecto al canal central, pero pasará a llamarse acueducto del mesencéfalo; a nivel de la vesícula diencefálica se ensancha de nuevo en este caso en el plano vertical y formará el tercer ventrículo; finalmente, a nivel de la vesícula prosencefálica se bifurca primero y más tarde se dilata en la parte anterior y posterior, en un plano aproximadamente vertical, y formará los ventrículos laterales. (Ruari *et al.* 2005)

La organización del epitelio que aloja los receptores sensoriales de los sentidos de la vista, audición/ equilibrio y olfacción está directamente relacionada con el desarrollo del encéfalo.

### 1.2.3. Derivados de la hoja germinativa externa: Epi-Ectodermo.

Epi-Ectodermo es la hoja superficial del primitivo ectodermo cuyo principal derivado es la epidermis, es decir, el componente externo de la piel o cutis. El primer cambio consiste en la aparición sobre el propio ectodermo de una simple capa de células aplanadas, el peridermo, mientras que por debajo del ectodermo se distingue la membrana basal que le independiza del mesénquima subyacente. A partir de este

estadio, el ectodermo se convierte en estrato basal, antiguamente denominado estrato germinativo por su intensa proliferación celular. A resultas de esta proliferación, entre el peridermo y el estrato basal se organiza un área nueva, la zona intermedia, constituida por multitud de células. Las más próximas al estrato basal serán las responsables de formar el estrato espinoso mientras que las dispuestas sobre este definirán el estrato granuloso. Otro de los derivados del Epi-Ectodermo es la glándula mamaria teniendo como primer indicio la aparición de la doble banda o línea mamaria, que recorre la superficie ventral del cuerpo embrionario a ambos lados de la línea media. Gracias a la proliferación celular, estas líneas son sustituidas por sendas crestas mamarias, en las que se comienzan a observar dilataciones, las eminencias mamarias. Es imprescindible tener en cuenta que el Epi-ectodermo contribuye a la formación del sistema de canalículos, mientras que el resto de la glándula es de origen mesodérmico ya que se forma a partir del mesénquima o tejido conjuntivo embrionario. (Salazar 2013)

#### *1.2.4. Derivados de la hoja germinativa interna: Endodermo*

El derivado fundamental del endodermo es el tubo intestinal primitivo (TIP), que se extiende desde la membrana bucofaríngea a la membrana cloacal. La división clásica de este TIP es en tres segmentos- intestino anterior, medio y posterior- con una separación del segmento anterior en dos tramos, craneal y caudal. A la parte craneal del segmento anterior se le llama también intestino faríngeo. La parte del endodermo correspondiente al segmento posterior organiza el seno urogenital primitivo. (Goncalves *et. al.* 2014)

Antes de que la gastrulación finalice se identifican las membranas bucofaríngeas y cloacal, mientras que en el endodermo (endodermo primitivo) forra internamente la pared de la vesícula vitelina, y solo la parte superior de este forro va a participar en la formación del TIP. A medida de que avanza el desarrollo, y a consecuencia sobre todo de la convexidad dorsal que afecta al germen, se produce una curvatura manifiesta que acerca progresivamente entre sí las partes anterior y posterior del embrión. De esta manera se llega a la constitución inicial del TIP, que permanece en contacto con la vesícula vitelina por el correspondiente pedículo. Aunque en los distintos segmentos del TIP no existen límites claros para marcar su separación, curiosamente es entre las partes craneal y caudal del segmento anterior donde se puede establecer una diferencia evidente por la existencia del divertículo traqueo-bronquial o respiratorio. Este tramo del TIP forma la tráquea y los pulmones. (Schneider *et al.* 2010)

#### *Aparato digestivo: (esófago, estómago e intestino)*

De los cambios morfológicos macroscópicos externos que experimenta el TIP el más determinante es el que afecta a su elongación progresiva, alargamiento del tubo



que va acompañado asimismo de dilataciones a determinados niveles. El segmento craneal del intestino anterior crece en longitud y se adapta paulatinamente al crecimiento del cuello, una región de la anatomía corporal que durante el periodo embrionario está todavía muy curvada sobre si misma; esta parte será la responsable de la formación del esófago. El segmento caudal del mismo tramo, el esbozo del estómago, también experimenta una ligera elongación pero su característica fundamental es la dilatación, al principio uniforme en forma de uso pero que, a medida que avanza el desarrollo, se hace desigual. Ello se debe a que la parte dorsal crece a un ritmo más rápido que la ventral, lo que se traduce en una deformación del huso, con lo cual comienzan a definirse las futuras curvaturas mayor y menor del estómago. Aunque el crecimiento en longitud afecta a la totalidad del tubo, tiene su máxima expresión en el intestino medio, esbozo de la mayor parte del intestino. Se observa como en fases muy tempranas este tramo del TIP se alarga considerablemente y forma las ramas craneal y caudal, separadas ambas por el pedículo vitelino, organizándose el asa intestinal primitiva. El crecimiento en la longitud del asa es tan extraordinario que la cavidad corporal es incapaz de albergar su extensión, razón por la cual durante una determinada fase el asa está afuera del embrión, en el cordón umbilical, dando lugar a la conocida hernia umbilical fisiológica. (Ruairi et al. 2005)

También en el intestino posterior del TIP, esbozo del resto del intestino, se produce una elongación, e incluso dilatación lo que con el alantoides, define la cloaca. Entre ambas estructuras, el intestino posterior y el alantoides, se dispone el tabique uro-genital. Cuando la separación de completa, la membrana cloacal, inicialmente única, se divide en las membranas anal y urogenital que, en el curso del desarrollo, terminarán por romperse y permitirán la comunicación de los dos aparatos con el exterior. Los presuntos cambios morfológicos internos se convierten en externos, y de esta manera se asiste a la formación del hígado y páncreas, y tráquea y pulmones. Se recuerda que el endodermo contribuye a la formación del entramado epitelial y glandular del TIP, mientras que el mesodermo completa los contribuyentes de su pared. (Guercio *et. al.* 2012)

*Aparato respiratorio: (tráquea, bronquios y pulmones)*

El límite entre las partes craneal y caudal del intestino anterior está definido por la presencia del esbozo pulmonar, divertículo traqueo-bronquial o divertículo respiratorio, que es una evaginación del intestino anterior con el que mantiene comunicación. Según avanza el desarrollo, la comunicación se pierde, por la presencia de unos rebordes que se transforman en el tabique traqueo-esofágico, dando la independencia total del aparato digestivo y respiratorio. La parte que se desprende del TIP es la tráquea que rápidamente se divide en dos mamelones laterales, los troncos bronquiales o esbozos pulmonares propiamente dichos. Estos crecen, se expanden e invaden el mesénquima vecino, y la conjunción del endodermo –epitelio más

glándulas- con el mesodermo- cartílago, musculatura lisa y vasos- termina por definir el pulmón definitivo.(Flores-Figueroa *et. al*, 2006)

#### 1.2.4. Derivados de la hoja germinativa media. Mesodermo.

El mesodermo es una lámina discontinua debido a que durante la gastrulación, el efecto inductor de la prolongación cefálica, de la placa precordial y notocorda sobre el propio mesodermo hace que este aparezca fragmentado. Esta segmentación es, además de transversal, sagital, por lo que aprecia con mucha claridad en las representaciones transversales. En la parte dorsal del germen, el centro y por debajo del tubo nervioso, se localiza la notocorda, y a uno y otro lado de la línea media desde dentro hacia fuera se dispone el mesodermo para-axial, el mesodermo intermedio y el mesodermo lateral. Cada una de las divisiones mesodérmicas citadas es responsable de organizar un determinado tipo de tejido.(McGeady *et. al*. 2006)

### MESODERMO PARA-AXIAL

#### *Diferenciación de somitos*

El mesodermo para-axial está organizado en “*somitos*”. En mamíferos, existen siete estructuras dispuestas en pares conocidas como *somitómeros* que desarrollan craneal y caudalmente a la placa ótica. Éstos últimos dan lugar a los somitos, que son estructuras bilaterales segmentadas, derivadas del mesodermo para-axial, se localizan lateralmente al tubo neural desarrollado y a la notocorda. Los somitos, son estructuras transitorias que se forman en una secuencia cráneo-caudal esenciales para la disposición segmentaria de la columna vertebral y los nervios espinales asociados. En animales domésticos, durante la tercera semana de gestación, los primeros contornos de los somitos comienzan a ser visibles. El número de pares de somitos, que es constante para una especie dada, es usualmente un par por vértebra. La diferenciación de estos comienza alrededor de la cuarta semana de gestación. Para la quinta semana, se hace completa y aquellos somitos formados en etapas tempranas son sometidos a una mayor diferenciación. Inicialmente las células a la periferia del somito tienen la apariencia de células epiteliales, mientras que las que están en el centro no están dispuestas en un patrón definido. (Salazar 2013)

Con el inicio de la diferenciación, las células de forma epitelial de las paredes mediales y laterales de cada somito pierden su forma y se diferencian en células mesenquimales. Las regiones diferenciadas de las paredes medial y lateral de cada somito se denominan esclerotomos y las células mesenquimales derivadas de esta región dan lugar al tejido conectivo, incluido cartílago y hueso. Las células de las paredes dorsal y lateral de cada somito forman estructuras denominadas dermomiotos. Células de los bordes dorso-medial y dorso-lateral del

dermomiótomo forman una capa distinta, el miótomo, que da lugar al músculo esquelético; las células de la región central del dermomiótomo dan lugar al dermatomo que contribuye a la formación de la dermis de la piel. La diferenciación de los somitos es influenciada por factores producidos por estructuras adyacentes, incluyendo la notocorda, el tubo neural, la lámina lateral del mesodermo y la superficie del ectodermo. (Mc Geady et. al. 2006)

### *Mesénquima*

Está constituido por grupos celulares no especializados embebidos en una sustancia fundamental amorfa y gelatinosa. Según progresa el desarrollo, las células mesenquimatosas, que a diferencia de las epiteliales tienen la facultad de desplazarse, se especializan y diferencian, emigran y evolucionan a diferente tipo de tejido. De esta manera se convierten en las precursoras de la formación de los sistemas vasculares sanguíneo y linfático, y de los tejidos conjuntivo, cartilaginoso y óseo. (Gattegno-Ho et. al. 2012)

Por lo que concierne al aparato de sostén del organismo en formación, las células mesenquimatosas cuando se diferencian a condroblastos indican que se convertirán en cartílago, después de pasar por las fases de condrocitos y condrocitos, y la consecuente formación de fibras colágenas. Según el tipo de fibras y su manera de agruparse se asiste a la formación definitiva de cartílago hialino (asociación de fibras colágenas de tipo II), cartílago elástico (asociación de fibras de colágeno de tipo II con elastina), y cartílago fibroso (asociación de fibras colágenas de tipo I). A su vez, el cartílago puede permanecer en fase cartilaginosa y transformarse en el tejido cartilaginoso del animal adulto, o bien ser una transición a tejido óseo. Es decir, en este supuesto se asiste a la formación de hueso a partir del mesénquima pero a través de un paso previo por cartílago, lo que se conoce con el nombre de osificación indirecta o condral. Por otro lado las células mesenquimatosas pueden diferenciarse directamente a osteoblastos, que pasan a ser osteocitos y más adelante osteoclastos, constituyendo así la segunda variedad de osificación, conocida como osificación directa o conjuntiva. (Pourebrahim et. al. 2013)

El mesénquima dispuesto entre las extremidades de dos huesos adyacentes de engrosa y evoluciona de manera similar a la recién descrita. O bien lo hace a tejido conjuntivo de naturaleza fibrosa, une los huesos entre si y da lugar a las variedades articulares de sindesmosis, sutura o gonfosis; o bien lo hace a tejido cartilaginoso que persiste como tal, une los huesos entre si y da lugar a las variedades articulares de sindesmosis. Adicionalmente hay otro tipo de articulación caracterizada porque en el centro del engrosamiento mesenquimatoso se produce la apoptosis o muerte celular y aparece un hueco que persiste, mientras que el resto del mesénquima se diferencia

con distinto criterio. Una parte se diferencia a cartílago y queda adherido a las terminaciones de los huesos en cuestión, mientras que otra parte se dispone alrededor de las terminaciones óseas respectiva, como una especie de faja de doble lámina. De esta manera se construye la típica articulación sinovial o diartrosis; el hueco persistente será la cavidad articular; la lámina interna de mesénquima transformada en epitelio, con capacidad para segregar liquido sinovial, será la capsula articular; mientras que la lámina externa de mesénquima transformada en tejido conjuntivo fibroso denso refuerza externamente la capsula articular, y en determinadas áreas se condensa para formar ligamentos. (Schneider *et. al.* 2010)

El sistema muscular deriva de la hoja germinativa media, con excepción del músculo del iris, en caso de la musculatura estriada del mesodermo para-axial, y en el caso de la musculatura lisa y el musculo cardiaco de la hoja esplénica o visceral del mesodermo lateral. (Salazar 2013)

#### MESODERMO AXIAL

##### APARATO DE SOSTÉN: *Columna vertebral*

La notocorda o mesodermo axial es decisivo en la formación de la columna vertebral, mientras que de los tres componentes de los somitos, el *esclerotomo* es el productor del tejido óseo, a partir del *miotomo* se originan los músculos asociados a la columna; y el tercer integrante o *dermatomo*, que sus células migran periféricamente, formando la dermis y se acoplan a la epidermis. El carácter segmentario de la columna vertebral implica que, a intervalos regulares y distribuidos a todo lo largo del cuerpo del embrión, el esclerotomo primero y el miotomo después se disponen metaméricamente, es decir, seccionados o partidos en segmentos. En este sentido las arterias intersegmentarias, procedentes de las aortas dorsales son quienes marcan la pauta de la segmentación; los nervios segmentarios se relacionan directamente con las arterias y consecuentemente con cada segmento. Las células integrantes de cada esclerotomo, por lo tanto células mesenquimales, se independizan definitivamente del somito y emigran en dirección medial y ventral. Se asocian a la notocorda y más tarde al tubo neural y terminan por rodear ambas estructuras en su totalidad, con la particularidad de que la segmentación es también propia del tubo nervioso pero no de la notocorda. Cuando la invasión de células mesenquimatosas ha concluido, el esclerotomo cambia de aspecto e inicia su auténtica diferenciación celular. (Goncalves *et. al.* 2010)

En las partes dorsal y ventral de los segmentos en construcción hay asimismo condensación de mesénquima, responsable de la aparición de los ligamentos longitudinales de la columna vertebral. (Blank 2007)

Las costillas se desarrollan como prolongaciones distales de los arcos ventrales asociados a los músculos de la pared corporal, y cada una de ellas posee su correspondiente centro de osificación. (Martinello *et. al.* 2010)

### MESODERMO INTERMEDIO

#### *Aparato urinario*

Esta capa da lugar al aparato urogenital. Como su nombre lo indica, el mesodermo intermedio se intercala entre otras dos partes de la misma hoja germinativa, el para-axial y el lateral. Inicialmente, el mesodermo intermedio está unido a los somitos y a las láminas laterales, pero pronto pierde esta conexión y forma un cordón independiente, el cordón nefrógeno, que recorre el cuerpo del embrión en formación, desde la región cervical a la región sacra. Los cambios morfológicos que experimenta este cordón siguen una cronología muy bien definida en sentido cráneo-caudal, motivo por el cual se distinguen en él tres partes que reciben los nombres de pro-nefros, meso-nefros y meta-nefros. Las dos primeras forman parte del riñón primitivo, porque ambas regresan o involucionan, y la tercera será el riñón definitivo. La segmentación transversal que también afecta al cordón de referencia ocurre únicamente de manera parcial y temporal. (Flores-Figueroa *et. al.* 2006)

#### *Aparato genital*

Las estructuras fundamentales del aparato genital durante el desarrollo son crestas genitales o crestas gonadales, que son los esbozos de las gónadas, específicamente espesamientos del epitelio celómico localizados en la parte medial del mesonefros que no está afectado por la segmentación. Aunque el sexo del ser en desarrollo está determinado desde el momento de la fecundación, el esbozo de las gónadas permanece en estadio indiferenciado a pesar de que hay proliferación celular y condensación de tejido circulante. A resultas de tal actividad se forman los cordones sexuales primitivos, y no es hasta la llegada y posterior invasión de las células gonadales primitivas, que los esbozos comienzan a mostrar su diferenciación celular. (McGeady *et. al.* 2006)

### MESODERMO LATERAL

Los derivados de las láminas laterales del mesodermo se pueden agrupar en cuatro apartados: la musculatura lisa, asociada con las vísceras, las extremidades, las membranas serosas y el sistema vascular. (Ruairi *et. al.* 2005)

#### *Extremidades*

Los esbozos de las extremidades tienen su origen en el mesodermo lateral, concretamente en su hoja o lamina visceral. Surgen como consecuencia de dos evaginaciones pares y simétricas de la pared corporal, y su crecimiento está

garantizado por un continuo proceso de interacción entre las células mesenquimatosas del mesodermo lateral mencionado y las células ectodérmicas que las recubren. Este recubrimiento, que recibe el nombre de cresta apical ectodérmica, ejerce un efecto inductor sobre el mesénquima de la zona, pero, a la vez el mesénquima más próximo a la cresta, llamado zona de progreso, induce a esta a la formación de determinadas proteínas esenciales para que la cresta continúe con su función de estimular la proliferación del mesénquima. El crecimiento de las extremidades es segmentario pero en sentido próximo-distal. Por lo general, los huesos cortos de las extremidades crecen a partir de un solo centro de osificación, mientras que los huesos largos tienen tres, uno para cada diáfisis y otro para la epífisis. Es importante tener en cuenta que la osificación no se completa hasta varios meses después del nacimiento. El desarrollo de los huesos de las extremidades va acompañado de la correspondiente asociación muscular estriada. Ésta última deriva de los somitos próximos a la localización de los esbozos, constituye por lo común masas de tejido muscular segmentadas, también en sentido próximo-distal, y se fija a los segmentos óseos en construcción, dejando cuando menos una articulación entre cada articulación. Durante la emigración, los mioblastos destinados a formar musculatura de las extremidades se organizan en dos planos diferenciados, los futuros músculos extensores y flexores, y arrastran consigo el componente vascular y nervioso correspondiente. (Guercio *et. al.* 2012)

### *Membranas Serosas*

Son membranas translúcidas, y finas, de superficie lisa, húmeda y brillante, constituidas por dos capas: la propia serosa y la subserosa. La primera consta de un epitelio escamoso simple, de aspecto endotelial, y una tenue lámina propia, mientras la segunda es de tejido conjuntivo y puede contener cantidades variables de tejido adiposo, dependiendo de diversas circunstancias. Tienen como característica la producción de líquido (pericárdico, pleural y peritoneal). (Salazar 2013)

### *Sistema Vascular*

La sangre como el sistema vascular sanguíneo derivan de la lámina interna del mesodermo lateral o esplacnopleura, su desarrollo es simultáneo y su aparición muy precoz. Muestra de esta precocidad es el hecho de que los primeros esbozos sanguíneos se localizan en la pared de la vesícula vitelina, como agregados de células mesodérmicas. Los agregados se localizan en los islotes sanguíneos que son responsables de formar hemangioblastos. Estas células tienen la facultad de originar dos líneas distintas, los *hemocitoblastos*, situados en el centro de cada islote precursores de las células sanguíneas propiamente dichas, y los *angioblastos* situados en la periferia de cada islote, que terminan por diferenciarse a células

endoteliales vasculares. El proceso de formación de vasos es también común para el tubo endocárdico. (Gattegno-Ho *et. al.* 2012)

#### *Desarrollo del corazón*

Con la misma pauta se forma el esbozo del corazón, aunque lo que en realidad se está constituyendo es exclusivamente el endocardio, que posteriormente quedara revestido por músculo cardíaco y en la parte externa por serosa correspondiente. Durante la gastrulación, un grupo de células que emigran desde la línea primitiva hasta el área donde se localiza la membrana bucofaríngea se constituyen en islotes sanguíneos, esbozos de los tubos endocárdicos. Forzados por la intensa curvatura cefálica y cervical que experimenta el embrión en la región cefálica y cervical, estos primitivos tubos endocárdicos cambian su posición. Por un lado, el cambio es en el sentido del eje longitudinal hacia ventral y caudal, y por otro lo es en el plano transversal de lateral a medial o desde fuera hacia dentro. A resultas de esta segunda modificación los tubos derecho e izquierdo se aproximan y terminan por confluir formando un único tubo endocárdico o tubo cardíaco primitivo (TCP) de situación central. (McGeedy *et. al.* 2006)

#### *Sistema arterial venoso*

Ambos sistemas están constituidos por una triple red vascular: embrionaria, onfalomesentérica o vitelina, y umbilical o alantoidea. En las fases iniciales del desarrollo los vasos arteriales del embrión constituyen un sistema par, simétrico y segmentario, pero este triple carácter se pierde por anastomosis entre vasos, fusión de los mismos o involución de estructuras. Los vasos arteriales parten del común tronco arterial del que deriva un complejo árbol arterial en el que aparecen las aortas ventrales, las arterias formadoras de los arcos aórticos y las aortas dorsales. Las aortas dorsales se fusionan para dar lugar a la arteria aorta, las aortas ventrales son responsables de formar la mayor parte de los vasos craneales al corazón, en tanto que las arterias de los arcos branquiales evolucionan de diferente manera. Del tronco arterial surge igualmente la arteria pulmonar que establece una comunicación con la aorta por medio del conducto arterioso. La red arterial onfalomesentérica evoluciona a vasos que irrigan el intestino primitivo, mientras que la red arterial umbilical puede persistir permeable después del nacimiento e irrigar parte de la vejiga de la orina o bien atrofiarse y transformarse en el ligamento redondo de la vejiga. La conexión del sistema venoso y el corazón está representada por el seno venoso derecho e izquierdo, cada parte integrada por la desembocadura de la vena vitelina u onfalomesentérica, de la vena umbilical o alantoidea y de la vena cardinal común, esta última confluencia de las venas cardinales craneales y caudales. (Salazar 2013)

### **1.3. Morfofisiología de células Mesenquimales**

Morfológicamente, las células troncales mesenquimales presentan una morfología espigada, en forma de huso, con un núcleo alargado central, que contiene de dos a tres núcleos. Algunos autores han reportado que las capas de células troncales mesenquimales contienen células homogéneas en su morfología, sin embargo hay evidencia de que estas capas son heterogéneas y contienen células, morfológica y funcionalmente al parecer, distintas. (Verfaillie 2002)

Desde los primeros estudios de Owen *et al.* (1980) se observó que las colonias de progenitores de células mesenquimales contenían varios tipos de células, describiendo colonias que contenían células *fibrobastoides* y *fusiformes*, las cuales formaban colonias compactas y abiertas; otro tipo de células a las cuales denominaron de tipo epitelial eran células más pequeñas, con núcleos más intensamente teñidos y morfológicamente semejantes a células epiteliales. Mets y Verdonk (1981), enfatizó la presencia de dos tipos celulares, uno denominado como tipo I, en el que las células eran pequeñas y fusiformes, y el tipo II, que eran células más grandes, aplanadas y que proliferaban más lentamente. Recientemente, los estudios realizados por Prockop *et al.* (2009). han descrito tres tipos de células en los cultivos de células mesenquimales. A través de la citometría de flujo, separaron tres subpoblaciones, una de células pequeñas, fusiformes y agranulares, a la cual denominaron RS-1; una segunda de pequeñas y granulares, denominadas RS-2; y la última conformada por células grandes y granulares a las cuales denominaron como células mesenquimales maduras; por lo que postularon que las células RS-1 corresponden a células mesenquimales progenitoras, con un índice de proliferación elevado, que dan origen a células RS-2 y estas últimas a las células mesenquimales maduras. Sin embargo, hasta ahora esta es solo una hipótesis y es necesario realizar estudios funcionales que permitan corroborarla. En un estudio reciente publicado, también se reportó la presencia de dos tipos de morfología en cultivos de células troncales mesenquimales. La mayoría de las células eran espigadas con morfología fibrobastoide, y una proporción menor de células en el cultivo presentaban un mayor tamaño y morfología romboide. (Flores-Figueroa *et al.* 2006)

La *multipotencialidad* es la capacidad de una célula para dar origen a distintos tipos celulares dentro de un mismo tejido o capa embrionaria, es decir, son células cuyo destino ha sido determinado por su posición relativa a principios del blastocito y están destinados ya sea a la masa celular interna o al trofoectodermo. (7) La capacidad multipotencial de las células mesenquimales se ha demostrado al ser cultivadas *in vitro* y trasplantadas para la obtención de fibroblastos y osteoblastos. Más adelante se demostró la capacidad de producir condrocitos y tejido conjuntivo. Finalmente, la capacidad de diferenciarse en células adiposas, osteoblastos y condrocitos. Estos experimentos, realizados a partir de colonias mecanocitos estromales o unidades formadoras de colonias de fibroblastos (CFU-F) aisladas, demostraron además, que la diferenciación de



estas células depende de su ambiente, y que no todas las CFU-F tienen el mismo potencial de diferenciación. (Pourebrahim *et. al.* 2013)

La *plasticidad*: la capacidad que tienen las células de un determinado tejido de diferenciarse en células de un tejido diferente, y por lo tanto, éstos se han colocado bajo el paraguas de la plasticidad de células madre. La mayoría de los estudios dependía de características fenotípicas para definir la diferenciación en células provenientes de diferentes orígenes tisulares para así demostrar que las células del segundo tejido tenían características funcionales específicos de este linaje. (Verfaillie *et. al.* 2002)

Estudios recientes sugieren que las células mesenquimales pueden diferenciarse no solamente en células del mesodermo, sino también pueden adoptar un destino endodermal o ectodermal, lo que se ha denominado como plasticidad celular. La plasticidad celular se define como la capacidad de una célula para diferenciarse en células maduras distintas a las de sus tejidos de origen; es la “flexibilidad” de una célula para sobrepasar la barrera de linaje y adoptar perfiles de expresión y fenotipos funcionales de células de otros tejidos. Varios trabajos han demostrado la capacidad de las células mesenquimales de diferenciar células musculares o miocitos, así como la capacidad para diferenciarse *in vivo* en células de bazo, cartílago, medula y hueso. La plasticidad de las células mesenquimales hacia tejido nervioso ha sido demostrada no solamente *in vitro*, sino también *in vivo* en modelos de transplante. (Schneider *et. al.* 2010)

#### **1.4. Tipos de células madre.**

Las células madre han sido definidas de muchas maneras diferentes. Sin embargo, existen algunos criterios principales que les dan este tipo de definición:

- 1) Auto- renovación o la capacidad de generar al menos una célula hija con características similares a la celda inicial.
- 2) Diferenciación multi-linaje de una sola célula.
- 3) Reconstrucción funcional de un tejido dado. (Verfaillie *et. al.* 2002)

Por mucho tiempo, las células madre han sido consideradas células aquetipo (patrón ejemplar del que se derivan otras). Poseen la capacidad de dar lugar a dos células hijas idénticas (auto-renovación) así como la habilidad de comenzar la cadena de diferenciación celular, lo que permite que los tejidos sigan regenerándose por sí solos. Cuentan con dos formas distintas de división celular, la llamada forma simétrica que dan lugar a dos células hijas idénticas, que poseen propiedades de células madre y la asimétrica que dan lugar a una célula madre con las mismas características y a una célula progenitora que posteriormente se diferenciara en cualquiera de las líneas celulares. (Hall *et. al.* 2013)

En animales podemos diferenciar dos tipos de células madre: Células madre embrionarias, que están presentes en la masa celular interna del embrión y puede dar lugar a las tres capas germinales embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo) y las células madre adultas o somáticas que poseen mecanismos para mantener el control de la homeostasis tisular por lo que podemos considerar que cada sistema orgánico del cuerpo posee una estructura jerárquica celular. Pueden regenerarse por sí mismas en un tejido específico por un periodo de tiempo indefinido y poseen la habilidad única de retener el potencial de regeneración asimétrica (células hijas idénticas y progenitoras). (Blank 2007)

**Células madre embrionarias (Cme):** Son células pluripotenciales con la capacidad de diferenciarse en todos los tipos de células adultas de las tres capas germinales. En el microambiente apropiado, este tipo de células proliferan indefinidamente. (Gattegno-Ho *et. al.* 2012). Esta capacidad para formar descendencia es indiferenciada descrita en términos de su potencial de diferenciación o plasticidad. Arbitrariamente, las células pluripotenciales son aquellas cuyo destino ha sido determinado por su posición relativa a principio del blastocito y están destinadas a llevar a cabo cierta función la cual depende de la capa celular de la que provienen. (Goncalves *et. al.* 2014). En general, las **Cme**, son líneas celulares permanentes que se pueden mantener en estado indiferenciado y pluripotente hasta recibir los estímulos ambientales apropiados capaces de diferenciarlas en los tipos de células de las tres capas germinarles tanto *in vitro* como *in vivo*. (Schneider *et. al.* 2010)

**Células madre de adulto o somáticas(Cms):** Este tipo celular ha sido considerado como multipotente, es decir, poseen capacidad de producción de todos los tipos celulares para el sistema de órgano específico de la que se derivan y mantienen la capacidad de producir células de las tres capas germinales. La activación y proliferación de **Cms** es el mecanismo más común de regeneración tisular en los humanos y los animales. A pesar de que todas las Células madre de adulto tienen la misma capacidad innata de auto-renovación y de mantener la homeostasis tisular, su actividad depende mucho de su entorno. (Gattegno-Ho *et. al.* 2012)

Los investigadores han recurrido de las **Cms** como fuente para la medicina regenerativa. De todos los tipos disponibles, las obtenidas de medula ósea y las derivadas de tejido adiposo (mesenquimales) son las más comúnmente utilizadas. Estas últimas representan una población celular con potencial de diferenciación más restringido en comparación con las **Cme**, sin embargo, tienen la ventaja de que son fácilmente aisladas y sembradas en cultivos celulares. Existen algunos criterios utilizados por la Sociedad Internacional de Terapia Celular (International Society of Cellular Therapy) basados en algunos marcadores que definen la troncalidad celular. Por lo tanto, este campo, como el campo de las células madre embriológicas, se complica por el amplio rango de

marcadores que los investigadores utilizan para definirlos, esto dificulta la interpretación, la comparación y la replicación de datos. (Hall *et. al.* 2013)

La ingeniería tisular ósea es un campo que ha crecido rápidamente y que posee un enfoque prometedor. Cuando esta área puede ser combinada con la celular, la de la matriz extracelular y factores de crecimiento para diseñar nuevos materiales de injerto puede conducir la regeneración de tejidos y reparación basada en el potencial de curación natural. Existe un debate sobre la fuente ideal de células osteoprogenitoras para su uso en ingeniería de tejido esquelético. Las **Cme**, son por hoy el patrón de oro por su multipotencialidad ya que se derivan de la capa celular interna de la preimplantación blastocítica. Estas poseen la capacidad de diferenciarse en múltiples tipos tisulares procedentes de las tres capas embrionarias. Los riesgos de infección, rechazo inmune y la formación de tumores son limitados. Las **Cms**, derivadas de diferentes tejidos tienen la habilidad de regenerarse y diferenciarse en diversos fenotipos. (Pourebrahim *et. al.* 2013)

### **1.5. Células madre Mesenquimales y su aplicación terapéutica en el campo de la medicina.**

Las **células madre mesenquimales (Cmm)** se encuentran en varios tejidos adultos y representan una categoría atractiva para distintos fines dentro de la medicina regenerativa y la terapia celular. Posee un gran potencial de auto-renovación, muestran un crecimiento constante y proliferación cinética; además, son capaces, *in vitro*, para diferenciarse en numerosos tipos celulares distintos. El tejido adiposo presenta algunas ventajas con respecto a otras fuentes celulares ya que el número de células resultantes del aislamiento es muy alto y se ha demostrado que un pequeño trozo de grasa es suficiente para la obtención de las mismas. En los mamíferos el tejido adiposo se encuentra en diferentes compartimentos anatómicos y en perros la grasa visceral es particularmente fácil de recolectar dado que esta especie se somete a un gran número de cirugías como la oforosalingohisterectomias. La plasticidad de las células madre mesenquimales ha hecho posible las terapias basadas en el desarrollo celular. (Martinello *et. al.* 2010)

Estas células son consideradas no hematopoyéticas pluripotentes de la médula ósea aisladas a partir de otras fuentes, tales como, sangre del cordón umbilical, tejido adiposo, pulmón fetal, líquido amniótico y músculo esquelético. En particular las derivadas de tejido adiposo son las más caracterizadas y comparables. Poseen alta multipotencialidad con la diferenciación en diferentes linajes celulares, incluidas adipocitos, osteocitos y condrocitos. Su fracción vascular del estroma contiene no solo células madre, sino también, linfocitos T, macrófagos antiinflamatorios, células precursoras endoteliales y preadipocitos; que pueden diferenciarse en hueso y cartílago. La investigación de esta terapia se utiliza para tratar enfermedades inflamatorias incluyendo osteoartritis, también conocida como enfermedad articular degenerativa, caracterizada

por sinovitis, degeneración del cartílago articular con la pérdida de la matriz articular, fibrilación, dando como resultado la pérdida completa del cartílago de superficie. La osteoartritis en perros es la forma más común de artritis, que afecta a aproximadamente el 20% de los animales. Los estudios previos de tratamiento indican la utilización de antiinflamatorios no esteroideos, los cuales no dan alivio completo del dolor, por lo que las terapias celulares pueden proporcionar una alternativa terapéutica. En contraste con la terapia de medicamentos, las terapias celulares no se basan en un solo receptor diana o vía de acción, sino que desempeñan una función trófica reclutando células endógenas al sitio de la lesión. Para algunas lesiones ortopédicas en perros, se han encontrado reportes de este tipo de terapia, sin embargo, algunos veterinarios han reportado efectos benéficos de esta terapia en perros con artrosis crónica de la articulación coxofemoral. (Guercio *et. al.* 2012)

### 1.6. Breve historia de la terapia con células madre a nivel internacional

Durante la última década, el panorama para la investigación tecnológica veterinaria en embriones y la biología de células madre se ha reformado radicalmente. El enfoque inicial de tecnología de embriones de los animales domésticos fue optimizar la cría para la mejora de la producción y la salud. En algunos países como Argentina y Brasil las tecnologías embriológicas encontraron una aplicación práctica y gran número de embriones son producidos *in vitro* y transferidos a receptores de distintas regiones. En algunas otras partes del mundo el uso relacionado con tales tecnologías en el campo pecuario es cuantitativamente limitado. Las investigaciones sobre células madre embrionarias pluripotentes se inició hace más de dos décadas con el objetivo de utilizar la tecnología para la producción de animales domésticos genéticamente modificados. Sin embargo, estos esfuerzos fueron pronto abandonados debido al desalentador resultado y sobre todo, por la aparición de los pioneros cultivos embrionarios e incluso células somáticas que podían ser reprogramadas en totipotenciales dando lugar a animales genéticamente modificados por transferencia nuclear. (McGeady *et. al.* 2006)

Recientemente ha surgido un enfoque renovado en la tecnología y la biología de las células madre de embriones de animales domésticos debido a la necesidad para mejorar los modelos biomédicos de enfermedades humanas. Este desarrollo ha provocado la investigación a profundidad de aspectos fundamentales de desarrollo y biología de células madre en los mamíferos domésticos y por lo tanto, la comprensión de aspectos moleculares y celulares de embriología y fenómenos como pluripotencialidad y diferenciación celular. (Hall *et. al.* 2013)

Las células madre embrionarias pluripotenciales fueron el primer tipo de células madre reconocidos en tejidos totalmente diferenciados dado a la aparición de tumores murinos o teratocarcinomas. Estas células pudieron ser estimulas para diferenciarse *in vivo* así como *in vitro*. El primer reporte que se tiene sobre el aislamiento y crecimientos de células madre a partir de blastocitos humanos fue por Bongso. En su estudio, 9

pacientes pertenecientes a un programa de inseminación in vitro donaron 21 embriones para la reproducción de células madre. (Bogso *et. al.* 2004).

Una vez teniendo este tipo de investigaciones, los especialistas comenzaron la búsqueda de aquellas células pluripotenciales que todavía se encontraban en tejidos adultos, encontrando así las células somáticas, las cuales han dado pie a los diferentes tipos de terapias provenientes de estas mismas. En la bibliografía se puede encontrar un nuevo término utilizado para este tipo de células “plasticidad de células madres” el cual según las observaciones recientes describe el mayor potencial que podría existir en las células madre adultas postnatales a diferencia de lo que se pensaba. Sin embargo, aún no se ha encontrado un consenso sobre cual debiese ser la definición exacta de tal plasticidad. (Verfaillie *et. al.* 2012)

El cultivo de células madre embrionarias fue descrita por primera vez por Thomson, *et al.* en 1998. Estas células generan un considerable interés como importante fuente para la ingeniería de tejidos debido a su alta actividad de telomerasa que les permite proliferar indefinidamente in vitro manteniendo su potencial pluripotente. (Khan *et. al.* 2010)

## HISTORIA DE LAS CELULAS MADRE MESENQUIMALES

El estudio de las células troncales mesenquimales comenzó a finales de los años 60's y se extendió durante la década de los 70's(6) con los estudios realizados por Friedenstein, *et al.* Describieron la presencia de células madre mesenquimales en la médula ósea que podía ser aislada a través de su propiedad intrínseca de adherirse al plástico de los cultivos tisulares. (Khan *et. al.* 2010)

El experimento consto de la utilización de ratones y cobayos describiendo por primera vez una población de células adherentes de médula ósea que formaban parte del estroma medular y que daban origen al microambiente hematopoyético. Dichas células fueron denominadas como mecanocitos estromales o unidades formadoras de colonias de fibroblastos. En la década de los 80's, varios grupos de investigación se dieron a la tarea de caracterizar a la población celular de médula ósea, capaz de originar el estroma medular, hueso y cartílago. Durante esta etapa, los investigadores trabajaron intensamente en la caracterización y la biología de las células troncales mesenquimales. Los estudios se basaban en modelos animales, principalmente ratones, a los que se les trasplantaban células de médula ósea de ratones singénicos. (Pourebrahim *et. al.* 2013)

Piersma, *et al.* demostraron que las células de médula ósea contienen progenitores de fibroblastos, que podían ser trasplantados junto con las células hematopoyéticas. Por su parte, Owen *et al.* demostraron que estas células tenían la capacidad de originar tejido óseo, cartilaginoso y conjuntivo, y que a partir de una pequeña cantidad de células de médula ósea inoculadas en cámaras de difusión en modelos in vivo, se generaban una gran cantidad de células estromales, lo que dejaba claro el gran potencial de proliferación y diferenciación de estas células. Sin embargo,

faltaban estudios con clonas aisladas que permitieran establecer si los osteoblastos, condrocitos y fibroblastos que originaban estos tres tejidos provenían de un progenitor común en la médula ósea o de distintos progenitores estromales. (Flores-Figueroa *et. al.* 2006)

Friedenstein *et. al.* abordaron esta pregunta en 1987 arrojaron los primeros resultados. Estos autores encontraron que las colonias de morfología fibroblastoide, formadas al cultivar *in vitro* una suspensión de células provenientes de la médula ósea, derivaban de un solo progenitor (colony-forming unit-fibroblasts CFU-F); demostraron también la gran capacidad proliferativa de las CFU-F, su habilidad para autorrenovarse y su multipotencialidad. Con base en la evidencia experimental obtenida hasta ese entonces, a finales de los 80's Owen y Friedenstein propusieron que existía una célula troncal presente en el tejido conjuntivo asociado a la médula ósea, capaz de originar a diferentes tipos celulares, entre los que incluía el tipo osteogénico. Estos autores la denominaron como célula troncal estromal. Estos dos autores, por un lado, y más tarde Kuznetsov, demostraron que no todas las CFU-F tenían el mismo potencial para dar origen a células de distintos linajes. Por lo tanto, se hizo necesario estandarizar las condiciones para cultivarlas y diferenciarlas *in vitro*. Caplan *et al.*, en la década de los 90's, lograron obtener y diferenciar MSC de humanos adultos, modificando el método utilizado por Friedenstein. Actualmente algunos grupos continúan utilizando sus investigaciones para obtener MSC. Majumdar en 1998, realizó una comparación entre estos métodos sin encontrar datos concluyentes. En la actualidad, ambos métodos de obtención son aceptados. (Bogso *et. al.* 2010)

## **LESIONES PATOLÓGICAS COMUNES EN SISTEMA MÚSCULO- ESQUELÉTICO**

### **2.1 Musculares**

#### *2.1.1. Generalidades*

Las funciones del músculo estriado esquelético están muy relacionadas con los sistemas óseos y nerviosos periférico, sobre todo en lo que respecta a la locomoción, el mantenimiento de la postura normal y la respiración. El músculo estriado se caracteriza por la presencia de estrías transversales periódicas; histológicas y funcionalmente se subdivide en esquelético y cardiaco. (Bogso A. et al, 2004)

A las células que constituyen el tejido muscular estriado se les conoce como miocitos que derivan de los mioblastos; por lo general son fusiformes y pueden tener varios núcleos distribuidos a la periferia, a diferencia del músculo cardiaco cuyo núcleo es central. Cada miocito o fibra muscular está rodeada por una lámina basal y endomisio de tejido conjuntivo. Los miocitos se agrupan formando haces o fascículos envueltos por perimisio, que también está constituido por tejido conjuntivo, más grueso. Mas externamente y envolviendo a todos los fascículos que conforman un músculo esquelético voluntario, está el epimisio o aponeurosis. (Contran, 2000)

En *reparación del músculo esquelético*, entre la lámina basal y el sarcolema de las fibras musculares existen células satélite, que se observan al microscopio como células de abundante citoplasma, con varios núcleos redondos dispuestos en fila. Cuando se daña o muere un grupo de miocitos, pero se ha conservado la lámina basal, las células satélite migran y se acomodan a lo largo del área de necrosis, en donde se convierten en mioblastos que pueden diferenciarse a miocitos funcionales; de esta manera, se asegura la regeneración del músculo estriado esquelético. Pero si la necrosis es grave como sucede en los infartos o en áreas donde se inyectaron irritantes, en donde se dañan además laminas basales y mueren las células satélite, entonces la regeneración no será posible y la reparación será sustitución por fibrosis. (Trigo T. 2011)

#### *2.1.2. Trastornos del desarrollo.*

*La hernia diafragmática congénita*, es de carácter hereditario y consiste en agenesia parcial del diafragma; la consecuencia es que los órganos abdominales como estómago, parte del intestino delgado, bazo y parte del hígado pueden desplazarse al interior de la cavidad torácica. De esta manera, el pulmón del lado afectado no se desarrolla de modo completo, predisponiendo a insuficiencia respiratoria y a reflujo gástrico. (Ruari F. et. al. 2005)

*La Monotonía Congénita*, es la imposibilidad de las fibras musculares para relajarse, dando lugar a una contracción espasmódica. Se presenta en humanos y otras especies animales, tiene su origen por una función anormal de los canales de iones en las miofibrillas, por lo que el

flujo de sodio, potasio, cloro y calcio se ve afectado. En perro chow chow, schnauzer miniatura y Staffordshire, se relaciona con una disminución en la conducción de cloro. Los signos se manifiestan a partir de la sexta semana de vida, los cachorros caminan con las piernas abiertas o saltando como conejos y mejoran con el ejercicio, pero nunca se verán normales. Durante los episodios agudos pueden caerse y presentar laringo espasmo con disnea y cianosis. Conforme crecen, sus músculos se van hipertrofiando hasta que el aumento de volumen se vuelve muy evidente. Diagnóstico por electromiografía. (Schneider M. et. al. 2010)

*Las distrofias musculares y miopatías congénitas.* Ambas son un grupo de trastornos degenerativos hereditarios, caracterizados por debilidad muscular y atrofia. En las distrofias las miofibrillas presentan necrosis segmental y regeneración (necrosis polifásica), como en la miopatía de Duchenne (en humanos y carnívoros) por ausencia de distrofina (proteína citoesquelética). Los casos avanzados se caracterizan porque las fibras musculares son sustituidas por tejido fibroadiposo. También en las miopatías se observa hipotonía o flacidez muscular, pero se relaciona con problemas metabólicos, como la alteración en la síntesis y degradación de glucógeno, acumulación de lípidos en las miofibrillas o defectos en la función mitocondrial. (Hall et. al. 2013)

**2.2.2. Trastornos degenerativos.**

El tamaño de los músculos estriados puede cambiar en múltiples ocasiones a lo largo de la vida de los animales. Los músculos se hipertrofian o se atrofian dependiendo, entre otras cosas, de la frecuencia e intensidad con que se contraen.

*Atrofia:* Disminución de volumen de un músculo, relacionada con menor contractilidad. Se distinguen dos tipos de atrofia: *la cualitativa*, consiste en la disminución de tamaño de los miocitos por pérdida de citoplasma y organelos, y *la cuantitativa*, que es la disminución en el número de miocitos por lo general por necrosis de estos. Existen gran variedad de factores que conducen a la atrofia muscular, como son la isquemia, falta de movimiento, hipoproteinemia, denervación y trastornos hormonales entre otros. (Cuadro 1). (Trigo T. 2011)

Isquemia	Obstrucción de la circulación (torniquetes, trombosis, migración larvaria) Vasculitis Compresión neuromuscular por decúbito prolongado, anestesia, postración o neoplasias.
Falta de Movimiento	Jaulas y espacios reducidos, confinamiento prolongado Artropatías, rotura de ligamentos, pododermatitis, fracturas, inmovilización por férulas, dolor.
Hipoproteinemia	Desnutrición Anorexia Insuficiencia hepática o renal Parasitosis y enteritis crónicas.



Daño Neurológico	Lesión de la médula espinal (compresión o sección) y parálisis. Denervación por desgarre o traumatismo que afecte la placa neuromuscular Neuritis Neurotoxinas ( <i>Clostridium tetani</i> o <i>C. botulinum</i> )
Trastornos Endocrinos	Diabetes mellitus Hipotiroidismo Hiperadrenocorticismo
Trastornos Inmunomediados	Enfermedades autoinmunitarias (miastenia gravis, polimiositis) y desmieliniantes (Esclerosis múltiple).

**Cuadro 1.** Principales causas de atrofia muscular. (Trigo T. 2011)

La *miopatía de origen tóxico*, Es factible que sean consecuencia de sustancias aplicadas con fines terapéuticos o a intoxicaciones por ingestión de plantas. (Cotran R. et. al. 2000)

*Las miopatías por sobreesfuerzo.* Este grupo de padecimientos se caracterizan por degeneración muscular por ejercicio intenso como la miopatía por captura, la azoturia y la hipertermia maligna. Donde la demanda de energía provoca que las células activen su metabolismo anaeróbico, con la consecuente acumulación de ácido láctico, acidosis metabólica y necrosis o rabdomiolisis de las fibras musculares. Las concentraciones serias de deshidrogenas láctica, creatinincinasa (CK) y aspartato aminotransferasa están elevadas. Al destruirse las miofibrillas también hay liberación de mioglobina, por lo que en los músculos se observan áreas oscuras y puede presentarse mioglobinuria. Los animales muestran disnea, hipertermia, fibrilación o rigidez muscular. (Hall V. et. al. 2013)

### 2.2.3 Trastornos inflamatorios.

Los procesos inflamatorios de los músculos se conocen como *miositis* y suceden en el tejido conjuntivo intersticial y en las envolturas de los haces musculares que son el perimio y el epimio. Estas suelen ser de origen infeccioso, por bacterias, parásitos o virus, que llegan a los músculos por inoculación, heridas penetrantes o soluciones de continuidad desde la piel; los agentes infecciosos también pueden llegar por vía hematológica o por extensión de infecciones en tejidos adyacentes. Según el agente etiológico involucrado será el tipo de respuesta observada: hemorrágica, necrótica, purulenta, granulomatosa o eosinofílica. Otros tipos de miositis inflamatoria no infecciosas son las de origen inmunomediada y las producidas por traumatismo. (Trigo T. 2011)

En las *Miositis purulentas* están involucradas bacterias piógenas que pueden infectar a los músculos por inyecciones aplicadas sin asepsia o a través de soluciones de continuidad desde la piel; se caracterizan por exudado purulento hasta abscesos o flemones. Los agentes etiológicos que con mayor frecuencia se encuentran en este tipo de miositis son bacterias

Gram positivas como: *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Pasterella multocida* *Corynebacterium pseudotuberculosis*, entre otros. En las *miositis granulomatosas*, la más representativa es la tuberculosa, causada por *Mycobacterium bovis* o *M. tuberculosis*. La infección puede llegar por vía circulatoria o por contigüidad de tuberculosis pulmonar a músculos intercostales y diafragma. Por otro lado la *miositis necrótica*, se relaciona con algunas especies de clostridias, muchas de ellas están presentes en el suelo, el intestino o colonizando a los cadáveres. Cuando penetran a los tejidos por prácticas traumáticas como castraciones, cortes de cola o inyecciones con material contaminado y se encuentran en condiciones de anaerobiosis, esporulan y liberan sus toxinas, que son las que causan daño. A la palpación pueden provocar burbujas de gas entre las fibras musculares. Microscópicamente se observa necrosis coagulativa de las fibras musculares, edema intersticial, escasos leucocitos y pueden encontrarse bacilos. El tipo de exudado es hemorrágico, serosanguinolento o claro y transparente dependiendo del tipo de *Clostridium* que esté afectando el área. (Contran R. et. al. 2000)

Las *miositis parasitarias*, son procesos inflamatorios localizados. Según su localización los parásitos pueden ser intracelulares o extracelulares que se encuentran en el tejido conjuntivo interfascicular, como algunos metacestodos. Los parásitos que se encuentran dentro de la fibra muscular son *Toxoplasma gondii* cuyo huésped definitivo son los pertenecientes a la familia Felidae, sin embargo, la mayor parte de los mamíferos (incluyendo el humano) así como las aves pueden ser huéspedes intermediarios, en los que el parásito puede causar encefalitis, miositis, aborto o malformaciones congénitas en los fetos de hembras gestantes infectadas; *Neospora caninum*, cuyos ooquistes inmaduros o esporulados pueden estar en el suelo o contaminando el agua de bebida, y al ser ingeridos por hospedadores intermediarios (rumiantes y cánidos), forman quistes con bradizoitos en encéfalo, nervios periféricos, músculos esquelético y cardiaco. Los animales infectados pueden presentar paresia espástica en músculos de las piernas, maseteros y temporales, miocarditis; *Trichinella spiralis* parasita intestinos de muchos carnívoros y omnívoros, las larvas atraviesan la pared intestinal y se enquistan en el tejido muscular estriado (diafragma, intercostales, maseteros, laríngeos, lengua, oculares, miocardio), donde aparecen como pequeños gusanos de 1mm de longitud, enrollados dentro de un espacio quístico y envueltos en una membrana hialina. (Morgan J. et. al. 2001)

En las *miositis inmunomediadas*, una de estas entidades es la Miastenia gravis, que consiste en una inhibición de la transmisión del impulso en la placa neuromuscular; se ha observado en humanos, perros y gatos. Existen dos presentaciones: La *congénita* que se debe a un defecto estructural o funcional en los receptores nicotínicos para acetilcolina en la placa neuromuscular a nivel postsináptico. Se manifiesta entre las 6 y 8 semanas de vida. La *adquirida* es más común, causada por autoanticuerpos contra los receptores para acetilcolina (AC) en el músculo esquelético, disminuyendo poco a poco su número en la membrana postsináptica; por ello, la debilidad que presentan los pacientes es progresiva. Se han postulado varios mecanismos para explicar el daño que los anticuerpos producen a nivel de la placa neuromuscular: 1) fijando complemento y dañando de manera directa la membrana

postsináptica, 2) aumentando la internalización y degradación de los receptores y 3) inhibiendo la unión de la AC con sus receptores. La sinología clínica es debilidad muscular progresiva, que se agrava con el ejercicio. En algunos casos los pacientes presentan los parpados y orejas caídas, la boca abierta y disfagia que se relaciona con megaesófago. El tratamiento se da con inmunodepresores y anticolinesterásicos. (Schneider M. et. al. 2010)

La *miositis eosinofílica*, se presenta en los músculos de la masticación del perro (maseteros y temporales), por anticuerpos contra la miosina tipo 2M, esto provoca inflamación bilateral de dichos músculos, dolor e imposibilidad para abrir la mandíbula completamente, afectando tomar su alimento y masticarlo; se observa atrofia de los músculos afectados, e histológicamente hay infiltración por linfocitos, células plasmáticas y eosinófilos, así como áreas de mionecrosis; en casos irreversibles también se ve fibrosis. (Hall V. et. al. 2013)

La Polimiositis, es una inflamación difusa de los músculos esqueléticos; se presenta en animales adultos y hasta puede afectar a los músculos cardiaco y liso. En muchos casos se sospecha que la causa de la enfermedad es inmunomediada, ha encontrado hipergammaglobulinemia, anticuerpos antinucleares (AAN) séricos y anticuerpos antimúsculo por inmunohistoquímica. Esta enfermedad se manifiesta con debilidad que empeora con el ejercicio, paso regido, claudicación y dolor a la palpación muscular. A veces es evidente la pérdida generalizada de masa muscular. Diagnóstico por electromiografía y biopsia muscular. Desde el punto de vista histológico se aprecian linfocitos CD8+, células plasmáticas y en ocasiones eosinófilos en el endomisio y alrededor de las miofibrillas, así como mionecrosis con evidencia de regeneración. (Trigo T. et al 2011)

#### 2.2.4 Neoplasias

Las neoplasias del musculo esquelético, son malignos casi siempre. La variedad benigna, el rabdomioma, es sumamente rara. (Morgan J. et. al. 2001)

Los *rabdomiosarcomas* son más frecuentes en animales jóvenes (menores de dos años). Pueden desarrollarse en cualquier lugar, pero predominan en la cabeza y cuello, en el aparato genitourinario, paladar, lengua, flancos, músculos paraspinales y pulmones. El rabdomioblasto (la célula diagnostica de todas las variedades) pueden ser redondos o alargados; estos últimos se conocen como células en tachuela o renacuajo. (Cotran R. et. al. 2000)

Histológicamente los rabdomiosarcomas comprenden cuatro variedades. (Cuadro 2)

Tipo Histológico	Aspecto Macroscópico	Aspecto Microscópico	Localización
Embrionario	Masa infiltrante blanda de color gris. Algunas veces puede presentar hemorragias.	Las células tumorales se parecen a las del músculo esquelético en diversas etapas de la embriogénesis y forman láminas de células malignas fusiformes o redondas con una cantidad variable de estroma.	Cuello, músculos largos, cavidad nasal, órbita, oído medio, próstata y región paratesticular.
Botrioides	Racimo o polipoide que sobresale en la estructura de los órganos huecos donde se encuentra.	Cuando alcanzan las mucosas de un órgano, las células neoplásicas forman una zona de hiperplasia por debajo de la misma, conocida como capa de recambio. Pueden observarse rhabdomioblastos con estriaciones transversales.	Órganos huecos como vejiga urinaria, útero, nasofaringe y colédoco.
Alveolar	Carne de pescado, amarillento o rojo-café.	Red de tabiques fibrosos que divide a las células en racimos o conglomerados; conforme las células del centro degeneran y se desprenden, el tejido muestra un cierto parecido con los alveolos pulmonares. Células poco adheridas entre sí, son de tamaño moderado con escaso citoplasma.	Músculos profundos de los miembros, cara, retroperitoneo.
Pleomórfico	Carnoso y pálido.	Numerosas células tumorales eosinófilas, abigarradas, de gran tamaño y algunas veces multinucleadas.	Tejidos blandos en adultos.

**Cuadro 2.** Clasificación y características de rhabdiosarcomas. (Trigo T. 2011)(Cotran R. et al. 2000)

## 2.2. Hueso.

### 2.2.1. Generalidades.

El sistema esquelético se compone de huesos y articulaciones constituidos por tejidos óseo, cartilaginoso y conjuntivo. Desempeña funciones de protección, aloja a la médula ósea, almacena minerales, es esencial para mantener posturas y llevar a cabo la locomoción. La diáfisis de los huesos largos que necesitan ser resistentes a flexiones sin perder elasticidad ante la tracción muscular y tendinosa, presentan un conducto medular que les confiere fuerza para soportar el peso del cuerpo y una corteza de tejido óseo compacto conformado por osteones lo cual es la unidad funcional de este. Según su estructura histológica existen huesos esponjosos y compactos. El esqueleto es reservorio de minerales, por lo regular de calcio.

Gracias a un sistema de homeostasis en el que interviene la glándula paratiroides liberando calcio del tejido óseo, se mantiene constante el nivel de calcio sanguíneo (calcemia), a pesar de que disminuya o aumente su ingesta. (Schneider M. et. al. 2010)

*Células formadoras de hueso.*

*Ostroprogenitoras:* Son células madre (precursoras) mesenquimatosas pluripotenciales situadas cerca de todas las superficies óseas; bajo la acción de estímulos adecuados son capaces de dividirse y formar una descendencia que al diferenciarse da lugar a los osteoblastos. La formación de osteoblastos a través de células osteoprogenitoras es esencial para el crecimiento, la remodelación y la reparación ósea. (Morgan J. et. al. 2001)

*Osteoblastos:* Se encuentran en la superficie del hueso, y sintetizan, transportan y organizan muchas proteínas de la matriz. También ponen en marcha el proceso de la mineralización. Poseen receptores en su superficie, con los que captan hormonas (hormona paratiroidea, vitamina D y estrógenos), citocinas y factores de crecimiento, y proteínas de la matriz extracelular. En cuanto los osteoblastos, quedan rodeados de matriz, se les conoce como osteocitos. (Pourebrahim N. et. al. 2013)

*Osteocitos:* Son las células osteoformadoras más numerosas del hueso; están empotradas en la masa ósea, pero se comunican entre sí y con las células de superficie ósea a través de la intrincada red de túneles labrados en la matriz conocidos como canalículos. Las prolongaciones de los osteocitos atraviesan esos canalículos, y sus contactos mediante uniones de hendidura les permiten trasladar los sustratos y los potenciales de la membrana celular. Sus abundantes prolongaciones y su distribución por todo el tejido óseo convierten al osteocito en la célula principal de algunos procesos biológicos. (Schneider M. et. al. 2010)

*Osteoclastos:* Están encargadas de la reabsorción ósea y procede de las células progenitoras hematopoyéticas que producen también los monocitos y los macrófagos. Para que los osteoclastos se diferencien y maduren son esenciales algunas citocinas, como las interleucinas (IL)-1, IL3, IL6, IL-11, el factor de necrosis tumoral (TNF), el factor estimulante de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y el factor estimulante de las colonias de macrófagos (M-CSF). El osteoclasto maduro multinucleado, se forma por fusión de unos precursores mononucleados circulantes y está íntimamente unido a la superficie del hueso. Cuando los osteoclastos comienzan a funcionar, se unen a las proteínas de adhesión de la matriz, y labran en el hueso las lagunas de resorción de forma festoneada. La parte de la membrana del osteoclasto situada sobre la superficie de resorción contiene numerosas expansiones vellosas, conocidas como borde rizado, que sirve para aumentar la superficie de la membrana. El plasmalema que rodea esta región está especializado y cierra herméticamente el hueso para impedir que se escapen los productos de la digestión ósea. Este espacio extracelular autónomo es análogo a un lisosoma secundaria, y el osteoclasto lo acidifica mediante una bomba de hidrogeno que solubiliza el mineral. El osteoclasto vierte también en este espacio muchas enzimas que sirven para descomponer la proteínas de la matriz en aminoácidos y para liberar y

activar factores de crecimiento y enzimas (como las colagenasas) que los osteoblastos ya habían depositado anteriormente y que estaban unidas a las matriz. Así pues, cuando el hueso se descompone en sus unidades elementales, se liberan sustancias que inician su renovación. (McGeady P. et al. 2006)

*Proteínas del hueso:* Son el colágeno tipo I y un grupo de proteínas no colágenas que proceden principalmente de los osteoblastos. El primero forma la sustancia fundamental de la matriz y constituye el 90% de la porción orgánica del hueso. Las segundas están unidas a la matriz y se dividen, según su función, en proteínas de adherencia, proteínas de captación de calcio, proteínas de mineralización, enzimas, citocinas y factores de crecimiento, estas últimas, regulan la proliferación, maduración y metabolismo de las células óseas. Funcionalmente, son importantes porque sirven para trasladar las señales mecánicas y metabólicas a la actividad local de las células óseas y adaptarlas finalmente al esqueleto. (Salazar I. 2013)

### *Tipos de Hueso*

*Hueso entretejido o reticular (no laminado):* Los osteoblastos depositan el colágeno entretejido al azar. Normalmente se encuentra en el esqueleto fetal y se forma en las placas de crecimiento. Se produce rápidamente y que resiste por igual a las fuerzas que se ejercen en cualquier dirección. En cambio, la presencia de hueso reticular en adulto indica siempre la existencia de un proceso patológico. (17) En la vida posfetal aparece en los procesos de neoformación ósea, durante la reparación de fracturas, focos de infección y en los sarcomas osteogénicos; por tanto, puede considerarse como un tejido provisional que será reemplazado por el laminado o laminar, más organizado, en el esqueleto adulto. Existen pocas excepciones en donde el hueso reticular permanece toda la vida, siendo algunas de estas las zonas alrededor de las suturas craneales, los sitios de inserción de tendones y ligamentos, los alveolos dentarios y en la capsula ósea del laberinto del oído. Consta de espacios vasculares irregulares separados por paredes de grosor variable que constituyen las trabéculas. La matriz trabecular está formada por manojos de fibras de colágeno burdas entretejidas, que corren en todas direcciones. Los osteocitos están repartidos en esta matriz de modo irregular, conectados con los vasos sanguíneos por medio de sus canalículos que emanan de lagunas osteocíticas. Se caracteriza por una mayor metacromasia que el laminado y reacciona en forma más evidente con colorantes. (Flores-Figueroa E. et al. 2006)

*Hueso laminado o laminar:* Este sustituye gradualmente al hueso reticular durante el crecimiento, se deposita mucho más lentamente y es más resistente. Existen cuatro clases de hueso laminar. Tres están solo en la zona cortical: circunferencial, concéntrico e intersticial. La cuarta clase, las láminas trabeculares, forman las trabéculas óseas, donde las láminas están orientadas paralelamente al eje mayor de la trabécula.(17) En un hueso cortical se distinguen láminas circunferenciales debajo del periostio y del endostio, formadas por células osteoprogenitoras, y láminas concéntricas que rodean los conductos de Havers y forman los osteones. El osteón es como un cilindro con conducto vascular en el centro; estos cilindros pueden ramificarse cuando el hueso es sometido a grandes tensiones o esfuerzos. Los vasos sanguíneos del hueso laminar de los osteones están en comunicación con vasos del periostio y

del endostio por medio de los conductos de Volkmann. Además, existe una abundante red de vasos que comunican a los diferentes vasos haversianos (ductos comunicantes). Cada espacio vascular está limitado por una capa de células osteógenas activas y con gran poder de multiplicación que se transforman en osteoblastos para formar capas de matriz osteoide. A medida que se va formando estas, los osteoblastos quedan atrapados entre la matriz. Durante el proceso de mineralización, los osteoblastos se transforman en osteocitos. Se forman capas concéntricas, limitadas cada una por una línea de osteocitos dentro de espacios llamados lagunas osteocíticas. Por medio de prolongaciones citoplasmáticas de los osteocitos dentro de finísimos canalículos, las células en un sistema de Havers se comunican entre sí, pero no entre estos. (Trigo T. 2011)

*Hueso compacto o cortical:* Se encuentran en las diáfisis de los huesos largos, en el periostio se distinguen tres capas: la fibrosa y las dos osteógenas, que no cubren las superficies articulares ni los sitios de inserción de tendones y ligamentos. Debajo del periostio se encuentra el hueso laminar con láminas circunferenciales y en la zona más profunda, los sistemas de Havers u osteones con las láminas concéntricas. Debajo del endostio se halla otra zona de láminas circunferenciales que es más delgada que la subperióstica. (Cotran R. 2000)

*Hueso esponjoso o trabecular:* Se encuentra en las vértebras, huesos planos y extremidades de los largos (epífisis y parte de la metáfisis). La diferencia física más importante entre el hueso trabecular y el cortical es el alto grado de porosidad del primero. Está compuesto por una red de trabéculas óseas limitadas por células osteógenas formando espacios que contienen tejido medular. Los bordes del tejido óseo están limitados por células osteógenas. El examen microscópico de un hueso esponjoso maduro muestra que en las trabéculas pueden encontrarse conductos vasculares, rodeados de láminas concéntricas como en el hueso cortical. Estos espacios vasculares quizá se originan por depósito de osteoide por parte de las células osteógenas que revisten las trabéculas de los espacios medulares. Conforme se van depositando láminas de osteoide que después se calcifican, se hacen más angostos los espacios hasta que por ultimo quedan conductos vasculares con láminas concéntricas que corresponden al osteón. (Morgan J. et al. 2001)

*Hueso fibrolaminar o plexiforme.* Se encuentra en los grandes mamíferos en los que el diámetro de sus huesos crece con rapidez. El hueso entretejido no tiene la fuerza suficiente para dar la estabilidad necesaria, y el hueso laminar con los osteones se forma con demasiada lentitud, por lo que existe otra variedad de hueso de crecimiento rápido, pero muy resistente: el hueso fibrolaminar, con fibras paralelas o plexiforme, que poco a poco será reemplazado por hueso laminar definitivo. (Salazar I. 2013)

#### *Modelación y Remodelación ósea.*

Los osteoblastos y los osteoclastos actúan coordinadamente y se consideran como la unidad funcional del hueso llamada unidad multicelular básica. Los procesos de formación y resorción del hueso están íntimamente acoplados, y el equilibrio entre ambos depende el volumen que alcanza la masa esquelética en todo momento. Cuando el esqueleto alcanza su

madurez, la degradación y renovación óseas que permiten el mantenimiento del esqueleto se llama remodelación. La masa ósea máxima depende de varios factores, como el tipo de receptores de la vitamina D que se han heredado, el estado de nutrición, el grado de actividad física, la edad y el estado hormonal. La masa ósea máxima se alcanza al comienzo de la etapa adulta. Durante la formación y mantenimiento del sistema esquelético, los osteoblastos tienen a su cargo gran parte de la regulación local, ya que estos elementos no solo producen matriz ósea, sino que desempeñan también un papel importante mediando la actividad de los osteoclastos. Gran parte de los factores estimulantes primarios de la resorción ósea, como la hormona paratiroidea, la proteína relacionada con la hormona paratiroidea, la IL-1 y el TNF, ejercen efectos mínimos o nulos sobre los osteoclastos. El osteoblasto posee receptores para esas sustancias, tras recibir una señal adecuada, el osteoblasto libera un mediador soluble que estimula la resorción ósea osteoclástica. De esta forma, la formación y resorción óseas están relacionadas en el tiempo y en el espacio, y pueden ser reguladas por factores locales y generales. (Cotran R. et al. 2000)

El concepto de flujo óseo explica que una lámina de tejido osteoide alrededor del conducto de Havers va siendo mineralizada de manera gradual y desplazada hacia la periferia del sistema por nuevas láminas. Las periféricas son las más mineralizadas. Un osteón no se comunica con otro y cuando ha alcanzado un radio de alrededor de 0.1mm medido desde el conducto de Havers, los osteocitos se degeneran por falta de irrigación y la lámina correspondiente será resorbida (osteólisis osteocítica) a través de un proceso enzimático. Células indiferenciadas en el conducto de Havers pueden formar osteoclastos para iniciar la resorción del osteón. Más tarde los osteoblastos se activan e inician el rellenado de la cavidad. El mantenimiento del esqueleto se logra a través de la actividad equilibrada de osteoblastos y osteoclastos. Las láminas de hueso circunferencial externo e interno son remodeladas de manera semejante, a partir de las estructuras del periostio y del endostio. (Morgan J. et al. 2001)

### *Osteogénesis.*

Los huesos se forman durante la época embrionaria por medio de dos procesos: Osteogénesis intramembranosa: Se lleva a cabo a través de células osteoprogenitoras del periostio, que se transforman de manera directa en osteoblastos y por Osteogénesis endocondral: Es el proceso por el cual crecen y son osificados los huesos largos. (McGeady T. et al. 2006)

Durante la *embriogénesis*, las células del mesénquima se diferencian en condroblastos que se agrupan que se agrupan esbozando moldes de forma morfológica semejantes a los huesos definitivos. Más tarde en la etapa fetal, las estructuras cartilagosas embrionarias precursoras de los huesos, son paulatinamente horadadas por acción de los condroblastos, y el espacio resultante es ocupado por células mesenquimatosas que se diferencian en osteoblastos y sintetizan la matriz osteoide en la que se depositan la hidroxapatita de calcio y



magnesio (mineralización), que proporciona a los huesos su dureza. Esa sustitución de tejido cartilaginoso por óseo se inicia en los focos o centros de osificación, ricos en vasos sanguíneos y células embrionarias indiferenciadas, localizadas en las metáfisis de los huesos largos. El cartílago que debe ser sustituido sufrió de modo previo cambios morfológicos que han sido interpretados de manera errónea como hipertrofia celular, ya que la vacuola en que suelen encontrarse los condrocitos se dilata mucho. El término es inadecuado para hacer mención de este fenómeno, ya que el agrandamiento de los condrocitos en la osificación endocondral se debe a desintegración (cariolisis) que se aprecia con claridad al microscopio de luz. Cuando la célula sufre necrosis, las lisozimas liberadas digieren la matriz condroide adyacente. Una condición indispensable para que se lleve a cabo la osificación endocondral es que los condrocitos están dispuestos en cordones o columnas perpendiculares a la palca de crecimientos, que cuente con irrigación suficiente y que los condroclastos erosionen el cartílago formando espacios que después serán ocupados por osteoblastos. (Trigo T. et al. 2011)

Las diferentes formas en que el hueso puede reaccionar cuando es lesionado son:

- a) Alteración en la osificación endocondral, lo que afecta la metáfisis.
- b) Cambios en la forma del hueso para tratar de adaptarse al daño (deformación).
- c) Alteración de la masa ósea en respuesta a la enfermedad sistémica.
- d) Depósito de hueso trenzado más que de laminar.
- e) El periostio lesionado o inflamado responde formando hueso. (Contran R. et al. 2000)

### *2.2.2. Trastornos metabólicos del hueso.*

Comprenden un grupo de osteopatías generalizadas de origen multifactorial (nutricional, endocrino o toxico) que se caracterizan por una disminución en la masa ósea y fragilidad de los huesos, por lo que de manera radiográfica se les conoce como osteopenias. Cuando la producción de osteoide en apariencia es normal, pero la mineralización es deficiente, puede ocurrir raquitismo, osteomalacia u osteodistrofia fibrosa. (Morgan J. et al. 2001)

El raquitismo y la osteomalacia representan un grupo de enfermedades de etiología variada, caracterizadas por un defecto de mineralización de la matriz, relacionado casi siempre con la falta de Vitamina D o con algún trastorno de su metabolismo. El termino raquitismo se refiere a un trastorno del crecimiento óseo de los jóvenes que produce unas deformidades características del esqueleto. En el adulto, este proceso se llama osteomalacia, porque el hueso que se forma en la remodelación esta poco mineralizado. Esto se traduce en osteopenia y predisposición a las fracturas por estrés mínimos. En el raquitismo se afecta la osificación endocondral en las placas de crecimiento, por depósito insuficiente de calcio en la matriz osteoide; en tanto en adultos da lugar a un exceso de matriz sin calcificar. Al presentarse un cuadro de hipocalcemia debido a la falta de vitamina D, el osteoide no se puede mineralizar y el hueso carecerá de la dureza suficiente para soportar el peso del individuo. De forma macroscópica la zona del cartílago de crecimiento (metáfisis) esta aumentada, pero en adultos

el huso cortical tiene aspecto normal, aunque puede exhibir microfracturas y su consistencia esta reblandecida. (Contran R. et al. 2000)

Dentro de la resorción ósea, la *osteodistrofia fibrosa*, es una condición en donde la masa ósea también esta disminuida (osteopenia), pero sucede por resorción osteoclástica del hueso que es reemplazado por tejido conjuntivo fibroso. En consecuencia de hiperparatiroidismo primario o secundario. El hiperparatiroidismo primario, a su vez, se presenta por un adenoma o un adenocarcinoma en las paratiroides, pero es poco frecuente; en cambio, el hiperparatiroidismo secundario es mucho más común, es desencadenado por estados prolongados de hipocalcemia, lo que estimula a las paratiroides a producir mayor secreción de paratohormona, la cual promueve la actividad osteoclástica para liberar calcio de los huesos y elevar los niveles séricos (hipercalcemia). Por una parte, la paratohormona estimula la diferenciación y activación de los osteoclastos y, por otra, estimula a las células estromales de la médula ósea para que se transformen en fibroblastos. La osteodistrofia fibrosa por hiperparatiroidismo secundario nutricional se presenta en animales domésticos cuando son alimentados con dietas mal balanceadas, ricas en fosforo y bajas en calcio, rompiéndose el equilibrio entre Ca y P sanguíneos, cuya relación normal se considera en promedio 2:1 de manera respectiva. Este desequilibrio es originado por una hipocalcemia propiamente dicha, en donde la ingesta y absorción de calcio es insuficiente, pero además puede darse de forma indirecta, como cuando hay hiperfosfatemia por exceso de fosforo en la dieta, en la que aunque las concentraciones séricas de calcio se encuentren normales, al perderse la relación que debe tener con respecto al fósforo. En el examen histológico muestra resorción osteoclástica y reemplazo por tejido conjuntivo fibroso, responsable del aumento de los huesos; se acompaña de incremento en la actividad osteoblástica que intenta reparar el tejido óseo resorbido. (McGeady T. et al. 2006)

Por razones desconocidas, la actividad osteoclástica exagerada del hiperparatiroidismo afecta al hueso cortical (subperióstico, de las osteonas y del endostio) más intensamente que al hueso esponjoso. La resorción subperióstica produce adelgazamiento de la cortical y perdida de la lámina dura que rodea a los dientes. La resorción ósea intracortical se debe a una disposición de los osteoclastos, que erosionan los conductos de Havers y de Volkmann y los van ensanchando. Estos conos de erosión cortical son característicos de hiperparatiroidismo. En el hueso esponjoso, los osteoclastos labran túneles que disecan longitudinalmente la parte central de las trabéculas, produciendo una imagen de rieles de tren a lo que se conoce como Osteítis Disecante. Como la resorción y la formación de hueso son dos procesos acoplados, no debe extrañar el aumento de la actividad osteoblástica. En las áreas con células óseas en actividad, los espacios medulares que rodean a las superficies afectadas son reemplazados por tejido fibrovascular. Se producen hemorragias secundarias y microfracturas que estimulan la llegada de macrófagos multinucleados y un crecimiento de tejido fibroso reactivo que forma una masa evidente conocida como tumor pardo. Es frecuente que estas lesiones sufran degeneración quística. La mezcla de mayor actividad celular, fibrosis peritrabecular y tumores pardos quísticos es un cuadro característico de hiperparatiroidismo grave que se conoce como osteítis fibroquística. (Contran R. et al. 2000)

La *osteodistrofia fibrosa por hiperparatiroidismo secundario renal* (mandíbula de caucho), se presenta en animales adultos con nefropatía. La insuficiencia renal disminuye la excreción de fosforo en orina (hipofosfaturia), aumentando su retención (hiperfosfatemia) y, por otra parte, reduce la producción del metabolito activo de la Vitamina D, además de acompañarse de acidosis metabólica (que estimula la resorción ósea); todo lo anterior se conduce a hipocalcemia lo que provoca hiperparatiroidismo secundario, se extrae calcio de los huesos y se produce un cuadro que se conoce como osteodistrofia renal. También en perros con el padecimiento hay deformidad ósea, claudicación por dolor y la descalcificación esquelética llega al grado de que sus huesos pueden doblarse, en especial los nasales y maxilares, por esto la enfermedad se conoce como mandíbula de caucho. De modo microscópico se observa de forma práctica, lo mismo que en la osteodistrofia nutricional: exceso de osteoide y hueso esponjoso sin mineralizar a causa de la resorción osteoclástica (osteomalacia), además de sustitución por tejido conjuntivo fibroso. (Hou Y. et al. 2013)

La *osteodistrofia de origen tóxico*, corresponde a la más importante es la intoxicación por flúor o fluorosis. Los animales pueden intoxicarse cuando ingieren entre 12 a 27 ppm de flúor por día. La concentración sanguínea de flúor desaparece con rapidez, depositándose en los huesos y dientes, se elimina por riñón (> 6 ppm) y puede atravesar la placenta. Inhalado o ingerido en forma crónica causa lesiones en dientes y en huesos, estos se caen o muestran manchas de color pardo o verde oscuro, con hipoplasia del esmalte y reblandecimientos de la dentina. Las concentraciones altas pueden estimular la proliferación del periostio aumentando su grosor (ostosclerosis) y la osificación de los ligamentos. (Trigo T. 2011)

Por otro lado la *osteoporosis*, es un tipo de osteopenia que se caracteriza por una disminución de la masa ósea, dando lugar a huesos porosos y frágiles, predispuestos a fisuras y fracturas. En la mayor parte de los casos se relaciona con la edad avanzada y falta de estímulos estrogénicos. Sucede cuando la resorción osteoclástica supera a la osteosíntesis osteoblástica; dichos procesos por lo general están en equilibrio a lo largo de la vida. Los mecanismos patogénicos implicados en la osteoporosis tienen que ver con factores genéticos, hormonales, nutricionales e inactividad física, que conducen a una deficiente formación ósea, ya sea por resorción excesiva, o por escasa formación de matriz osteoide al disminuir la actividad osteoblástica. La mineralización de la matriz es menor de lo normal porque no se forma suficiente osteoide donde puede depositarse el calcio. Las causas principales en animales son: disminución de las fuerzas de tensión y la irrigación ósea por falta de actividad física, la deficiencia de vitamina D y proteína en la dieta, disminución de estrógenos (estimulantes de los osteoblastos), hiperparatiroidismo, aumento del catabolismo proteínico, exceso de corticosteroides, ya sea por síndrome de Cushing o por terapias prolongadas con antiinflamatorios. A la observación microscópica se aprecia reducción del grosor de la corteza de los huesos, con aumento del diámetro de los conductos de Havers, ausencia de osteoide, adelgazamiento notorio de las trabéculas óseas y escasez de osteoblastos sin incremento de osteoclastos. (Morgan J. et al. 2001)

### 2.2.3. Trastornos inflamatorios del hueso.

La inflamación del hueso se conoce como osteítis cuando afecta al periostio se le llama *periostitis* y si involucra el canal medular se le designa osteomielitis. Ésta es la inflamación del periostio, puede ser aguda o crónica, aséptica o infecciosa. La periostitis aséptica se origina por traumatismos, presiones sobre superficies óseas que sobresalen y que no están protegidas por masas musculares. Las lesiones varían dependiendo de la cronicidad y la extensión de la lesión; se observa desde una ligera hiperemia hasta hematomas entre el periostio y la superficie ósea. La periostitis aguda infecciosa (séptica) sucede por la penetración de bacterias piógenas que llegan por medio de heridas en la piel y tejidos blandos, pero además puede ser consecuencia de osteomielitis que se extiende por contigüidad. (Contran R. et al. 2000)

La *osteomielitis*, es la inflamación del canal medular y hueso adyacente, se relaciona a infecciones bacterianas y micóticas. Los agentes infecciosos pueden penetrar a través de lesiones traumáticas y perforaciones en piel y tejidos blandos, por fracturas expuestas, por maniobras ortopédicas como la colocación de clavos, cerclajes e implantes, o a consecuencia de sinusitis y periodontitis. Los agentes patógenos pueden llegar a hueso por vía circulatoria, como en casos de septicemia, lo que explica su presentación multifocal. Los cambios morfológicos de la osteomielitis dependen de la fase (aguda, subaguda o crónica) y la localización de la infección. Las bacterias, una vez que se implantan en el hueso, proliferan e inducen una reacción inflamatoria aguda acompañada de muerte celular. El hueso afectado se necrosa en las primeras 48 horas, y las bacterias y la inflamación se extienden por la diáfisis y pueden penetrar en los conductos de Havers y alcanzar el periostio. (Trigo T. 2011)

Por otro lado en la *osteomielitis purulenta*, las bacterias más frecuentes aisladas son: *Staphylococcus aureus*, *S. intermedius*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Actinomyces pyogenes* y *E. coli*. El exudado purulento se distribuye de manera difusa en el conducto medular (flemón) o forma abscesos; más tarde, penetra al sistema canalicular de la matriz ósea, formando émbolos y trombos en los vasos del sistema de Havers. Al despegar y elevar el periostio se reduce más el riego sanguíneo de la región afectada, y tanto la supuración como la lesión isquémica pueden causar una necrosis ósea segmentaria; la porción del hueso muerto se conoce como secuestro. La rotura del periostio produce un absceso del tejido blando que acaba formando una fístula de drenaje. (Morgan J. et al, 2001)

El proceso se puede extender hasta periostitis y osteítis purulenta. Cuando tan exudado se encuentra cerca de una superficie articular puede afectar la articulación y el hueso adyacente, produciendo artritis. Microscópicamente se observa tejido necrótico, neutrófilos, picocitos y osteoclasia. Al tiempo de que ocurre la destrucción del tejido óseo hay neoformación de hueso trabecular (entrettejido), a partir de las células osteógenas de periostio y endostio. (Pourebrahim N. et al, 2013)

Así mismo en la *osteomielitis granulomatosa*, sus principales causas son las micosis y la tuberculosis. Entre los hongos destacan *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis* y *Aspergillus sp*, que suelen provocar infecciones en piel o aparato respiratorio, y por vía

hematógena llegan a los huesos, produciendo necrosis y lesiones semejantes al granulomatoma tuberculoso; estos granulomas pueden confluir, destruir hueso cortical y llegar al periostio y cartílagos articulares, dando lugar a artritis granulomatosa. Los granulomas se ven mejor en los espacios medulares del hueso esponjoso, como vértebras, epífisis, costillas, esternón y huesos del cráneo. En ocasiones es factible confundirlos en la radiología con osteosarcomas. (Trigo T, 2011)

#### *2.2.4. Fracturas.*

Se refieren a la pérdida de la continuidad anatómica del hueso y constituyen uno de los trastornos patológicos más frecuentes en los animales domésticos. Las fracturas, traumáticas o no, son uno de los procesos patológicos que afectan al hueso con más frecuencia. Las fracturas pueden ser: completas o incompletas; cerradas (simples), cuando el tejido que las cubre esta indemne; compuestas o expuestas, cuando el foco de fractura comunica con la superficie de la piel; conminutas, cuando hay astillas o esquirlas óseas; o con desplazamiento, cuando los extremos óseos no están alineados. Si la fractura se produce sobre un hueso previamente enfermo, se conoce como fractura patológica. Una fractura por sobrecarga es la que aparece lentamente después de un período de ejercicio físico durante el cual se somete al hueso a esfuerzos a cargas repetidas. También se les nombra dependiendo de la línea de fractura, si es transversa, oblicua, en rama verde, etc. (Contran R. et al. 2000)

Gracias a que puede llevar a cabo procesos semejantes a los que experimento durante su embriogénesis, el hueso tiene gran capacidad de reparación, la cual sigue un patrón similar al proceso inflamatoria, en el que los eventos se suceden en forma de cascada, superponiéndose en muchas ocasiones, todo con el fin de eliminar detritos tisulares, restablecer el riego sanguíneo y formar tejido óseo nuevo. El proceso de reparación consta de tres fase importantes: inflamatoria, reparación y remodelación. (Salazar I, 2013)

Inmediatamente después de la fractura, la rotura de los vasos sanguíneos produce un hematoma que ocupa la línea de fractura y rodea al área ósea lesionada. Esto proporciona también una malla de fibrina, que ayuda a cerrar el foco de fractura y al mismo tiempo permite la llegada de células inflamatorias y el crecimiento de fibroblastos y nuevos capilares. Simultáneamente, la degranulación de las plaquetas y las células inflamatorias que emigran al foco liberan citosinas, que activan a las células osteoprogenitoras del periostio, la cavidad medular y los tejidos blandos circulantes, y estimulan la actividad osteoclástica y osteoblástica. De esta manera hacia el final de la primera semana, el hematoma se está organizando, los tejidos vecinos se han reparado para producir la futura matriz y los extremos del hueso fracturado se están remodelando. Este tejido fusiforme todavía sin calcificar, llamado procallo o callo de tejido blando, sirve en parte para que los extremos óseos queden fijos aunque el hueso no posea todavía la rigidez estructural suficiente para soportar pesos. (Hou Y. et al. 2013)

A continuación, las células osteoprogenitoras activadas forman trabéculas subperióstica de hueso no laminar dispuestas perpendicularmente al eje cortical y dentro de la cavidad medular. Las células mesenquimatosas activadas de los tejidos blandos que rodean al foco de fractura también pueden diferenciarse en condroblastos capaces de formar cartílago fibroso y hialino que envuelve al foco fractura. Ahora bien, no todas las fracturas tienen cartílago como componente de callo. En las fracturas no complicadas, el tejido de reparación alcanza su máximo desarrollo al final de la segunda o tercera semana, y ayuda a estabilizar la fractura, pero todavía no es lo bastante resistente para soportar pesos. A medida que el hueso reticular reactivo (intramedular y subperióstico) se aproxima al cartílago recién formado en el foco de fractura, el cartílago experimenta una osificación endondral análoga a la que ocurre normalmente en la capa de crecimiento. De esta forma, los extremos del hueso fracturado se fusionan gracias a un callo óseo, que cuando se mineraliza aumenta en rigidez y resistencia hasta el punto de ser capaz de tolerar una carga o peso moderado. (Pourebrahim N. et al. 2013)

En las primeras fases de la formación del callo se produce un exceso de tejido fibroso, de cartílago y de hueso. Si los extremos óseos no están perfectamente alineados, el callo es más voluminoso en el lado cóncavo del foco de la fractura. A medida que el callo madura y transmite las fuerzas generadas por el peso, se produce la resorción de las partes que no soportan esas fuerzas, y de esa manera el callo disminuye de tamaño hasta que se restablece la forma y el perfil del hueso fracturado. También se recupera la cavidad medular y, una vez terminado todo esto, puede ser imposible demostrar el sitio donde se produjo la fractura. (Morgan J. 2001)

Los principales factores que complican la reparación de una fractura son: el deficiente aporte sanguíneo, la inestabilidad y las infecciones. Mientras más oxígeno llegue al callo más pronto el cartílago será reemplazado por osteoblastos y osteocitos. Si la fractura no está bien inmovilizada y sufre tensiones continuas, se formará tejido fibroso en exceso en el sitio de unión, lo que conducirá a la formación de tejido fibrocartilaginoso en vez de tejido óseo; este es flexible y se comporta como si fuera una articulación, por ello se le conoce como pseudoartrosis. Otros factores que interfieren con el proceso de reparación normal de una fractura son la desnutrición y la presencia de tejido necrótico. (Contran R. et al. 2000)

### *2.2.7. Lesiones degenerativas óseas.*

*Sinostosis:* Es la unión de dos estructuras óseas que se encuentran adyacentes. Cuando esta unión se realiza entre cartílago se llama sincondrosis y si es entre tejido fibroso se conoce como sindesmosis. (Morgan J. et al. 2001)

*Anquilosis:* Es la unión anormal de los huesos adyacentes a una articulación, que limita sus movimientos. En los perros se presenta por lo regular entre las vértebras torácicas y lumbares; sucede por una proliferación del periostio de los cuerpos vertebrales, que dan lugar a

osteofitos que a su vez forman puentes óseos entre una vértebra y otra, limitando el movimiento y flexibilidad de la columna.

*Quiste óseo aneurismático:* Es un proceso osteolítico no neoplásico, formado por espacios de tamaño variable que contiene sangre, separados entre sí por tabiques de tejido conjuntivo que tienen osteoide y osteoclastos. Se localiza en la metáfisis de huesos largos y en las vértebras. Se cree que se origina por malformaciones o lesiones vasculares que dan lugar a pequeñas hemorragias repetidas. Microscópicamente, se aprecia como una fina cáscara ósea que contiene tejido blando con aspecto de panal, formado por cavidades con sangre; desde el punto de vista histológico se perciben las cavidades divididas por septos formados por fibroblastos, osteoclastos y osteoide; incluso en ocasiones hay material fibromixoide calcificado. (Schneider M. et al. 2010)

### 2.2.5. Lesiones proliferativas no neoplásicas.

Incluyen una gran variedad de lesiones de distinto origen, desde formación de hueso reactivo, callos óseos exuberantes, hasta procesos degenerativos como los osteofitos. Desde la perspectiva macroscópica se caracterizan por un exceso en la formación de hueso. (Trigo T. 2011)

La *osteoartropatía hipertrófica*, también se le conoce con osteoartropatía hipertrófica pulmonar y es la formación de hueso nuevo perióstico, en la diáfisis de las extremidades distales de los huesos largos, los metacarpianos, metatarsianos y falanges (acropaquia), macroscópicamente se observan superficies rugosas en forma de arrecifes (hiperostosis) que sobresalen del periostio. Produce dolor, claudicación, signos de inflamación y sensibilidad a la presión de modo que a menudo se le confunde con artritis. Se ha vinculado con procesos inflamatorios o neoplásicos intratorácicos que dan lugar a hipoxemia, como tuberculosis, bronquiectasia, neoplasias o migraciones de *Spirocerca lupi* en perros, así como por otras lesiones que intervienen con la circulación cardiopulmonar y repercuten en la oxigenación. Se cree que se estimula el nervio vago, que al producir vasodilatación periférica, incrementa el flujo de sangre a las extremidades; esta hiperemia local podría activar factores de crecimiento que estimularían la proliferación del periostio en huesos distales, ya que se ha visto que la vagotomía revierte las lesiones de osteopatía hipertrófica. (Contran R. et al. 2000)

Así mismo la *panosteítis eosinofílica*, es un trastorno no inflamatorio de origen desconocido, no infeccioso y autolimitante; se caracteriza por dolor y cojeras periódicas y en algunos casos cursa con eosinofilia. Ha sido observado en perros de talla grande, entre los seis meses y los dos años de edad. Se distinguen zonas de densidad aumentada en la cavidad medular y en ocasiones en el periostio. Histológicamente corresponden a tejido fibroso y hueso inmaduro (entretelado). Se cree que la proliferación del hueso esponjoso puede presionar nervios del canal medular y del periostio. (Morgan J. et al 2013)

La *exostosis*, es la proliferación ósea normal y no maligna de un hueso, por lo que se le conoce como osteoma u osteocondroma. Pueden ser solitarios o múltiples, crecen en las metáfisis cercanas a las palcas de crecimiento. Tienen forma de hongo o seta y poseen una cavidad medular que se continúa con la del hueso de donde emerge. Suelen formarse en carpos, tarsos y falanges, así como la mandíbula. (Pourebrahim N. et al. 2013)

Por otro lado la *periostitis osificante*, es una lesión pseudotumoral reactiva que puede confundirse con osteomielitis o con tumores óseos malignos. Se presenta en el periostio de falanges, metacarpos y metatarsos; suele ser secundaria a traumatismos o a uso intenso de las extremidades. Histológicamente tiene aspecto de un callo, con proliferación de tejido fibroso, osteoblastos y componente cartilaginoso atípico. (Trigo T., 2011)

La *hiperostosis o sobrehueso*, corresponde, a un hipercrecimiento óseo que produce tanto una alteración de su contorno como aumento de la densidad de los huesos. A partir de traumatismos repetidos de intensidad moderada se dan lugar a inflamación local y vasodilatación que estimula la proliferación y diferenciación de las células osteoblásticas del periostio. En casos graves, se llegan a anquilosar las articulaciones. (Morgan J., 2013)

### 2.2.7. Neoplasias de hueso y tejidos blandos adyacentes.

Casi siempre todas son de origen maligno. Los tumores no malignos de hueso y articulaciones, así como otros tipos de lesiones óseas no agresivas, muestran un crecimiento lento y se muestra una adecuada demarcación entre el hueso lesionado y el sano. Por lo contrario, los sarcomas de hueso como las metástasis, presentan límites poco definidos y evidente proliferación periosteal o lisis ósea. Casi todas las neoplasias óseas o cartilaginosas primarias provienen de células mesenquimatosas que pueden dar origen a osteoblastos, condroblastos, fibroblastos, angioblastos o histiocitos. (Morgan J., 2013)

El *Osteosarcoma o sarcoma osteogénico*, se define como un tumor mesenquimatoso maligno cuyas células neoplásicas producen matriz ósea. Además pueden presentarse de modo primario fuera de los huesos, como en glándula mamaria e hígado. En perros constituyen 80% de los tumores malignos de hueso, la edad promedio de los perros afectados es de 7 años, aunque en aquellos de talla grande se presentan a edades más tempranas. Los sitios anatómicos más afectados por esta neoplasia, en orden decreciente son: radio y ulna (27%), fémur (25%), tibia (20%), escapula (14%), húmero (9%) y falanges (5%). Son dolorosos, predisponen a fracturas, crecen con rapidez y dan metástasis a distancia, por lo regular a pulmones. Según su localización en el hueso pueden ser intramedulares, yuxtacorticales o intracorticales y periosteal. Histológicamente se clasifican con base en el tipo celular predominante, pueden ser osteoblásticos, condroblásticos, fibroblásticos, telangiectásicos (el cual se llega a confundir con agiosarcoma), de células gigantes y anaplásicos o indiferenciados (cuando no produce matriz osteoide). Microscópicamente se caracterizan por trabéculas óseas primitivas, osteoide y osteoclastos (células gigantes multinucleadas) con características



malignas. Incluso se observan células osteoblásticas fusiformes o estelares, de bordes mal definidos, muchas veces binucleadas, que exhiben mitosis atípicas; puede haber hemorragias y necrosis. (Contran R. et al. 2000)

Por otro lado el *condrosarcoma* y *condroma*, son tumores malignos que en su mayor parte se originan de la región medular de huesos planos y producen matriz cartilaginosa. Se han descrito en nariz, pelvis y huesos planos de perros de entre 6 y 8 años de edad. Macroscópicamente forman nódulos de color gris blanquecino, semejantes al cartílago hialino. El de tipo mixoide suele tener consistencia gelatinosa, degeneración mucoide y espacios quísticos; el de células claras es muy agresivo, muestra condrocitos malignos con abundante citoplasma claro, celas gigantes tipo osteoclastos y hueso reactivo; otra variedad es el poco diferenciado. Las características histológicas de malignidad más relevantes son: hiper celularidad, células condroides con uno o dos núcleos vesiculosos, cromatina grumosa, mitosis atípicas y cartílago maligno. Los condromas son tumores no malignos de cartílago hialino; cuando se presentan en la cavidad medular son llamados encondromas, ya que en su periferia puede haber osificación endocondral. (Trigo T., 2011)

El *tumor óseo multilobular*, debido a su aspecto macroscópico también se le conoce como condroma multilobular. No se puede asegurar cual es la histogénesis, pero se ha postulado que se origine de elementos embrionarios periósticos del condrocráneo. Se localiza por lo general en los huesos de las regiones frontales, parietales y maxilares del cráneo de perros y puede alcanzar un gran tamaño, provocando graves deformidades en la cabeza de los animales afectados, así como compresión cerebral, ocular, sinusal, desviación nasal y pérdida de piezas dentarias. Macroscópicamente está conformado por múltiples nódulos grisáceos, de aspecto condroide delimitados por trabéculas de tejido fibroso. Microscópicamente se caracteriza por un patrón lobular separado por un rico estroma fibrovascular; se aprecian zonas de osificación endocondral con islas de cartílago hialino o hueso inmaduro, rodeados por células que parecen osteoblastos dispuestos en palizadas. (Pourebrahim N. et al., 2013)

Mientras el *sarcoma sinovial*, presente frecuente en las grandes articulaciones, como el codo, hombro, tarso y carpo; además se presenta en tendones. Se ha observado en perros de todas las edades. Crece de manera lenta y va infiltrando la articulación. Macroscópicamente son firmes, lobulados, con áreas oscuras, cavidades quísticas llenas de líquido mucinoso y zonas de calcificación. Histológicamente están compuestos por células mesenquimatosas fusiformes, semejantes a fibroblastos, tienen núcleo alargado con anisocariosis y nucléolos evidentes; se disponen en fascículos hiper celulares que alternan con áreas más laxas compuestas por células con prolongaciones citoplasmáticas de aspecto estelar que están inmersas en una matriz mixoide. Cuando tiene un componente epiteloide, recibe el nombre de bifásico y se relaciona con un mejor pronóstico. Una característica distintiva es que a diferencia de otros sarcomas las células fusiformes que lo componen son positivas para el antígeno de membrana epitelial y las citoqueratinas. (Morgan J., 2013)

El *histiocitoma fibroso maligno* (fibrohistiocitoma maligno), comprende a un grupo de sarcomas de tejidos blandos que desde el punto de vista microscópico muestran los siguientes

elementos: células fusiformes dispuestas en un patrón estoriforme (arremolinado), células de aspecto histiocítico y gigantes multinucleadas. Entremezcladas pueden observarse células inflamatorias de estirpe linfoide y áreas de hemorragias. Las células que componen esta neoplasia tienen núcleo grande, nucléolo prominente y mitosis atípicas. Desde la perspectiva macroscópica son de color gris blanquecino, no encapsulados. Se presentan en perros y gatos entre 8 y 9 años de edad, en el tejido subcutáneo, bazo, pulmones, linfonodos, huesos y tejido periarticular. Se diseminan con rapidez por vía circulatoria, provocando metástasis. (Trigo T., 2011)

Al *fibrosarcoma*, se le considera primario de tejidos blandos que invaden a los huesos; aunque es factible que se originen de los fibroblastos de la capa externa del periostio de los huesos de la cara y cabeza, con menor frecuencia afecta escapulas y huesos largos. Ha sido observado en perros. Causa deformidad en nariz y maxilares, desplazamiento de piezas dentales e imposibilidad para comer y respirar. Es infiltrante, blando, con aspecto de carne de pescado y áreas de necrosis. Su aspecto macroscópico varía según su grado de diferenciación; el bien diferenciado semeja un fibroma y aunque de manera histológica tenga un aspecto inofensivo. En los muy malignos se aprecian células fusiformes pleomórficas, que se arreglan en espigas o espina de pescado, mitosis y necrosis. (Pourebrahim N. et al. 2013)

### **2.3. Articulaciones.**

#### **2.3.1. Generalidades.**

Las articulaciones sinoviales o diartrosis se encuentran entre los extremos de las epífisis de los huesos largos, tienen un espacio que contiene líquido y se caracterizan por una amplia capacidad de movimiento. Están formadas por los siguientes elementos: (Ruairi F. et al, 2005)

- Superficies articulares, que son lisas y pulidas, excepto cerca de la inserción ósea.
- Cartílago hialino que recubre las superficies articulares, es blanco y brillante, está formado por colágeno tipo II, agua, proteoglucanos y condrocitos, que contribuyen a absorber los impactos y ayudan a resistir las cargas, facilitando el deslizamiento de una superficie sobre otra.
- Membranas sinoviales que cubren la superficie interna de la capsula fibrosa, están revestidas por sinoviocitos, que suelen ser de tipo macrófago (células fagocíticas que sintetizan ácido hialurónico) o tipo fibroblastos.
- Cápsula fibrosa, una especie de cilindro hueco que recubre la articulación y se inserta en los extremos de los huesos que une.
- Espacio articular, está rodeado por la membrana sinovial, contiene líquido amarillo claro translúcido y viscoso que es un dializado del plasma libre de proteínas, enriquecido con mucopolisacáridos y ácido hialurónico producidos por los sinoviocitos.
- Ligamentos articulares de tejido conjuntivo fibroelástico, que unen un hueso con otro, por lo común son de color blanco.

El recambio de matriz cartilaginosa está controlado por enzimas degradantes y por inhibidores enzimáticos secretados por los condrocitos. La degradación del cartílago puede ser desencadenada por interleucina 1 (IL-1) y TNF. (Contran R. et al. 2000)

La reparación de las articulaciones estas es muy restringida, ya que en los cartílagos y cápsula articular la irrigación es deficiente y el proceso inflamatorio discreto. En contraste, las membranas sinoviales que recubren la capsula presentan una red vascular amplia, por lo que cuando se lesionan la reacción inflamatoria es intensa, lo cual genera gran cantidad de exudado que al mezclarse con el líquido sinovial contribuye a dilatar la cápsula e incrementar el volumen de la articulación. (Gattegno-Ho D. et al, 2012)

Ante agresiones químicas, físicas o biológicas, los sinoviocitos sufren hiperplasia, sobre todo en la zona de transición entre la membrana y el periostio y el pericondrio de los bordes articulares. En la artritis el líquido sinovial se incrementa al mezclarse con el exudado, lo cual distiende la cápsula, mientras que las enzimas líticas liberadas lesionan el cartílago. El dolor conlleva a la disminución de movimientos en las articulaciones afectadas, esta inmovilidad impide la difusión del líquido sinovial a través de los minúsculos poros que atraviesan el cartílago, por tanto, los condrocitos se degeneran, se necrosan y se desprenden, dejando erosiones en la superficie articular. Estas oquedades o erosiones del cartílago articular no son jamás reparadas por sí mismas, ni por reneogación ni por sustitución; solo se repararán si el tejido óseo trabecular queda en contacto con el líquido sinovial y al cabo de algún tiempo las células mesenquimatosas que tapizan los espacios intertrabeculares empiezan a diferenciarse en osteoblastos, condroblastos y fibroblastos, formando una protuberancia que sobresale de la superficie e interfiere con los movimientos articulares. (Morgan J., 2013)

### 2.3.2. *Trastornos inflamatorios.*

Cuando se afecta a toda la articulación se denominan artritis y pueden ser infecciosas (sépticas), de origen traumático, autoinmunitario o degenerativo (artrosis). Los tipos morfológicos de artritis dependen del exudado, que está relacionado con la etología; desde el punto de vista macroscópico es factible distinguirlas como serosas, fibrinosas y purulentas, de las cuales las últimas dos son de evolución crónica. (Blank L. et al, 2008)

Las *artritis serosas* se desarrollan por lo general a consecuencia de traumatismos que causan esguince o luxación, se acompañan de hiperemia de la membrana sinovial, rotura o distensión excesiva de algunas fibras de colágeno e incremento de líquido sinovial que dilata la cavidad articular. En las luxaciones graves puede haber rotura de ligamentos, por lo que la reacción inflamatoria es más intensa y duradera, la función no se recupera por completo y se incrementa la probabilidad de que la articulación vuelva a luxarse. En los esguinces la recuperación suele ser total y sin secuelas notables. Sin embargo, aunque sea leve, si el traumatismo se repite con frecuencia las lesiones en la membrana sinovial se tornan progresivas, apreciándose degeneración del cartílago, erosiones, hiperplasia de vellosidades y dilatación permanente de la capsula por excesiva cantidad de líquido sinovial. (Trigo T., 2013)

Las *artritis Infecciosas* y entre ellas las *fibrinosa* y *linfoplasmocítica*, se relaciona por lo regular con bacterias que llegan por vía sanguínea hasta la red vascular de la membrana sinovial, pasan al líquido sinovial desencadenando reacción inflamatoria, aumento de la permeabilidad vascular y daño endotelial, por lo que se extravasa la fibrina, incrementándose la cantidad de líquido articular, que se torna amarillo turbio y mucinoso. En la membrana sinovial puede apreciarse edema, petequias y escaso infiltrado por mononucleares. Las vellosidades están hiperémicas, los sinovitos proliferan y se inicia la fibroplasia de la capsula. A partir de este momento, si el agente infeccioso es eliminado, la inflamación se terminara de modo favorable siendo posible la recuperación de la función hasta cierto grado. A medida de que pasa el tiempo, las lesiones se vuelven más graves, el pericondrio prolifera y da origen a tejido de granulación conocido como *pannus*. A veces se generan adherencias. Las artritis fibrinosas suelen evolucionar a purulentas. En perros este tipo de artritis puede ser causada por el agente etiológico *Borrelia burgdoferi*, también conocida como enfermedad de Lyme. (Rychel J., 2010)

Por otro lado la *artritis purulentas*, son de curso crónico y resultan de la acción de gérmenes piógenos como *Streptococcus sp.*, *Arcanobacterium pyogenes*, *Corynebacterium ovis*, *E. coli* y *Brucella sp.*, que penetran a través de incisiones y laceraciones en piel y tejidos blandos periarticulares o por extensión de infecciones en tejidos adyacentes, como en el caso de pododermatitis y osteomielitis. En recién nacidos es frecuente que las bacterias piógenas lleguen a las articulaciones por vía hematógena, a consecuencia de onfaloflebitis o de neumonía. El exudado contiene gran cantidad de enzimas líticas que pueden erosionar al cartílago. A través de las zonas erosionadas, la infección suele difundirse hacia el tejido óseo esponjoso subyacente generando osteomielitis. La infección además puede diseminarse hacia los tejidos periarticulares y llegar hasta la piel provocando fístulas. (Contran R. et al. 2000)

## PROCESOS DEGENERATIVOS ARTICULARES Y ÓSEOS HEREDITARIOS EN EL PERRO. GENERALIDADES Y DEFINICIONES.

### 3.1 *Trastornos del desarrollo del esqueleto*

Las anomalías del desarrollo debidas a problemas en la migración de las células mesenquimatosas se conocen como *disostosis*. Las agenesias, escoliosis, lordosis y deformaciones craneales como la palatosquisis, pueden ser consecuencia de alteraciones de alteraciones neurales y no solo del tejido conjuntivo. Las alteraciones del crecimiento de la mandíbula resultan en un acortamiento de la misma, provocando braquignatia (hipoplasia) o agnatia (agenesia), sin que exista aumento de tamaño del maxilar. El prognatismo, en el que se aprecia un alargamiento de la mandíbula en relación con el maxilar, se debe a la hipoplasia o falta de desarrollo de los huesos de la base del cráneo, etmoides y cornetes, y no porque exista un excesivo desarrollo de la mandíbula. La palatosquisis o paladar hendido también se deben a hipoplasia. (McGeady P. et al., 2006)

La *Amelia* se refiere a la falta de extremidades y por el contrario cuando se llegan a duplicar o triplicar algunos huesos de las falanges se le conoce como polidactilia. Los huesos adquieren su forma y crecen por medio de la proliferación intersticial del cartílago y por remodelación, que reduce el hueso en algunos sitios, por lo que algunas malformaciones pueden deberse al desequilibrio entre la resorción y la síntesis de tejido óseo. Otros factores generadores de anomalías son las lesiones traumáticas en las placas de crecimiento (metáfisis). Los defectos en el aporte sanguíneo en la región metafisiaria por fracturas restringen la mineralización, la irrigación y la remodelación del cartílago. Los huesos no son cuerpos minerales inanimados, sino órganos celulares dinámicos, que continuamente se remodelan de forma estructural, desde que se forman en el embrión y durante toda la vida, por lo que pueden deformarse no solo en el útero, sino además durante el crecimiento, madurez y vejez del animal. (Ruari F. et al., 2005)

#### 3.1.1. *Osteocondrosis y osteocondritis disecante.*

La osteocondrosis es una enfermedad ósea del desarrollo de gran consecuencia clínica que tiene varias localizaciones anatómicas. Su característica básica es un error en la forma en la cual el cuerpo convierte el cartílago en hueso durante el proceso de crecimiento. Olsson (1978) ha definido a esta enfermedad más claramente como un disturbio en la diferenciación celular en las placas de crecimiento metafisiarias y en el cartílago articular (cartílago de crecimiento epifisario). Las células cartilaginosas se dividen en una tasa normal o aumentada, el rápido crecimiento es mantenido pero las células no maduran ni se vesiculan y la matriz no se calcifica. Esto conduce a la retención del cartílago, que puede necrosarse y morir. En el hueso adyacente se pueden ver cambios secundarios, tales como fibrosis de la médula y engrosamiento de las trabéculas. Las lesiones ocurren en sitios específicos en todo el cuerpo y se pueden presentar como enfermedades uni o bilaterales en un sitio, o como una enfermedad más generalizada. (Rychel J., 2010)

Más allá de esta enfermedad pueden estar involucradas zonas de crecimiento tanto de la epífisis como de la diáfisis, las lesiones de las epífisis tienen una consecuencia clínica más directa, porque dan lugar a la alteración de superficies articulares y, de esta forma, inician el desarrollo de una artrosis. La alteración de la zona de crecimiento metafisiaria puede afectar el crecimiento en largo de los huesos (condrosis metafisiaria), teniendo especial importancia en distal del cubito. (Trigo T., 2011)

El uso del término *osteochondrosis* implica una enfermedad tanto del hueso (osteo) como del cartílago (condro), mientras que las lesiones en la osteochondrosis se localizan principalmente en el cartílago y solo afectan al desarrollo óseo de manera secundaria. Sin embargo, este nombre ha sido aceptado ampliamente. Un mejor término sería condrodisplasia utilizado ya por algunos autores. (Morgan J., 2001)

Las *condrodisplasias* y *condrodistrofias*. El cartílago crece de manera longitudinal por proliferación intersticial, y de manera transversal lo hace por aposición, a partir de proliferación del pericondrio. En la condrodisplasia fetal el cartílago epifisario deja de crecer en sentido longitudinal y solo lo hace en forma transversal. La hipoplasia por detención prematura del crecimiento longitudinal se debe a que los condrocitos de las placas de crecimiento e interóseos se disponen de modo irregular en vez de alinearse en columnas. Este defecto en el acomodo de los condrocitos hace que el proceso de sustitución de cartílago por hueso en la placa de crecimiento sea desordenado y lento. Las condrodisplasias se relacionan con alteraciones genéticas que disminuyen la proliferación de condrocitos en las metáfisis. (Hall V. et al, 2013)

Las condrodistrofias se relacionan con deficiencias de manganeso, biotina, riboflavina y colina en animales que están creciendo. Estas alteraciones (condrodistrofias y condrodisplasias) pueden dar lugar a enanismo desproporcionado, con piernas y brazos cortos, abombamiento de los huesos del cráneo y prognatismo, ya que el maxilar se desarrolla de manera normal al crecer a posición, en tanto que los huesos de la base del cráneo (etmoides y cornetes), que crecen de manera endocondral, sufren hipoplasia. En perros malamute y gigante de los Pirineos, se idéntica una mutación en el gen del receptor para el factor de crecimiento de fibroblasto-3. Macroscópicamente las epífisis están ensanchadas y deformes, las diáfisis parecen más cortas y gruesas. Histológicamente en las placas de crecimiento los condrocitos se observan en grupos desorganizados sin alineación. (Pourebrahim N. et al., 2013)

En las lesiones en la placa de crecimiento epifisaria, la fase temprana de la enfermedad epifisaria de los osteochondrosis se evidencia, desde el punto de vista histológico, por la demora en la formación de hueso, dando lugar a un cartílago de mayor espesor. Un poco más tarde, la lesión se caracteriza por la demora en la osificación del hueso. El cartílago articular engrosado no es evidente en una radiografía convencional debido a que es radiolúcido. En este momento la artroscopia permite una evaluación más detallada del cartílago articular. A medida que el cartílago continúa creciendo sin la normal conversión a hueso, pierde parte de la nutrición debido a su mayor espesor. Es importante tener en cuenta que el cartílago no tiene vasos

sanguíneos dentro de su matriz y recibe su nutrición desde el líquido sinovial adyacente y desde los vasos sanguíneos de las epífisis, los que normalmente penetran en la matriz cartilaginosa calcificada en la unión hueso-cartílago. Algunos estudios sugieren que los canales vasculares (canales cartilaginosos) de las epífisis pueden permitir la vascularización de una parte de los estratos cartilaginosos. En el sitio donde la deficiencia de irrigación alcanza una gravedad suficiente, el cartílago se necrosará en su porción más profunda (próximo a la epífisis ósea). Las espículas esponjosas del hueso adyacentes del área triangular subcondral aumentan su espesor en respuesta a una alteración en el apoyo, que ocurre como resultado de la ausencia de cartílago articular funcional. (Morgan J., 2001)

Después de la necrosis del cartílago, el cartílago de cobertura se separa del hueso subyacente, posiblemente influenciado por fuerzas traumáticas que ocurren como resultado de la actividad normal del paciente. La extensión de la hendidura desde la profundidad de la lesión hacia la superficie del cartílago articular permite la entrada de líquido sinovial, provocado dolor a causa de la hiperemia y por mediadores liberados ante la exposición de la esponjosa epifisaria. Estos cambios también inician un proceso inflamatorio estéril en la membrana sinovial. Más allá de la hendidura, ocurre una intensa reacción mesenquimática con tejido de granulación, fibrogénesis activa, formación de fibras óseas y actividad osteoclástica. En la profundidad de la lesión se puede observar necrosis cartilaginosa. Rodeando la lesión, las espículas esponjosas del hueso aumentan su espesor. A medida que las fisuras aumentan de tamaño, el fragmento cartilaginoso se afloja hasta un punto en que pueda ser denominado “colgajo”. Cuanto más grande es la lesión mayor es la probabilidad de asociarse con ruptura y separación del cartílago articular, causando los primeros signos clínicos de dolor y claudicación. Es en estos momentos cuando la lesión se denomina osteocondritis disecante. (Contran R. et al., 2000)

Debido a que puede existir una gran diferencia en el tamaño de la lesión y su gravedad clínica, hay dos términos muy relacionadas y han sido utilizados para describir esta enfermedad del desarrollo óseo: 1) osteocondrosis y 2) osteocondritis disecante. Durante su estadio inicial del desarrollo, la lesión es denominada osteocondrosis. Esto describe la falla de la osificación de la epífisis que deja una sección de cartílago engrosado, la cual puede contener cartílago necrótico y desechos. Si el fragmento del cartílago que forma una lesión de osteocondrosis se separa en forma parcial de la superficie articular, el material que surge del cartílago degenerado puede fluir con facilidad hacia la cavidad articular. Esto causa una reacción inflamatoria estéril en la membrana sinovial, dando por resultado deformación, calor y dolor en la articulación, permitiendo el uso de la terminación “itis”, como osteocondritis, para indicar una enfermedad inflamatoria. El término “disecante” indica la separación del cartílago enfermo suprayacente de la epífisis subyacente. Sin tener en cuenta el futuro estado del colgajo de cartílago, la irritación sinovial perpetúa el proceso inflamatorio y los signos clínicos resultantes. (Vilar J. et al. 2014)

La osteocondritis es una enfermedad no clínica que puede resolverse o progresar a una osteocondritis disecante, la cual es la forma clínica de la enfermedad, causando dolor y claudicación y, eventualmente, artrosis. Sin embargo, ambas presentaciones son parte de una

enfermedad hereditaria. Una característica importante de la osteocondritis disecante es el colgajo cartilaginoso. (Rychel J. et. al, 2010)

Una lesión temprana de osteocondrosis puede: 1) progresar a una osteocondritis disecante con importancia clínica, 2) permanecer sin cambios o 3) cicatrizar por medio de la restauración del proceso de osificación. La lesión que permanece sin cambios o cicatriza puede desarrollar una artrosis mínima mientras que las lesiones que progresan a una osteocondritis disecante desarrollaran un importante grado de artrosis. (Blank L. et al., 2008)

Es factible que la profundidad de la necrosis del cartílago con mayor espesor sea tan extensa que se forme un quiste subcondral. (Morgan J., 2001)

En las placas de crecimiento metafisaria, las lesiones osteocondróticas también ocurren y pueden alterar la forma y la longitud del hueso. Una forma primaria común de osteocondrosis metafisaria ocurre sin asociarse a una lesión osteocondrótica epifisaria en distal del cubito, donde la forma única de la placa de crecimiento es la de una cono invertido. Debido a esta forma, la nutrición de la porción central del cartílago puede verse impedida, dando por resultado la demora en la maduración del esqueleto. En lugar de una conversión normal del cartílago en hueso, la demora en la remoción de las células cartilaginosas necróticas conduce a la presencia de grandes columnas de células cartilaginosas, que se meten en la porción distal de la metafisis. Este error en la maduración del esqueleto da como resultado una demora en el crecimiento y un acortamiento del cubito, que puede tener un efecto importante sobre el crecimiento del radio adyacente y puede afectar la congruencia de la articulación antebraquiocarpal y del codo. (Contran R. et al., 2000)

Una lesión metafisaria observada con menor frecuencia se produce en forma independiente en el área de crecimiento transversa del cuello femoral, donde el crecimiento anormal del cartílago puede causar debilidad y conducir la epifisiólisis o al desprendimiento de ambas cabezas femorales. Un efecto más distante de una osteocondrosis epifisaria puede provocar un cierre prematuro de la placa de crecimiento metafisaria adyacente. Esto ha sido observado con mayor frecuencia en la porción proximal del humero junto con la osteocondritis disecante de la cabeza humeral. (Blank L. et al., 2007)

### *3.1.2. Displasia.*

Las displasias de la articulación de la cadera y el codo son otras enfermedades óseas hereditarias del desarrollo. El termino displasia significa literalmente una falla en el desarrollo y se deriva del griego “*dys*”, que significa anormal, y “*plassein*” que equivale a formar. La displasia fue la primera enfermedad ósea y articular del desarrollo descrita. No es una enfermedad congénita, las articulaciones son normales al nacimiento, pero un crecimiento irregular ente los músculos y el esqueleto da como resultado que la cabeza femoral sea forzada fuera del acetábulo, hacia dorsal y lateral. La displasia de codo es causada por una escotadura troclear cubital con una circunferencia demasiado pequeña en comparación con la tróclea humeral creando, de esta manera, incongruencia articular. Dependiendo en parte de la raza, el efecto de esta incongruencia puede producir diferentes tipos de displasia, incluyendo: 1)



apófisis ancónea no unida, 2) enfermedad de la apófisis coronoides medial y 3) osteocondritis disecante del cóndilo humeral medial. Este desarrollo anormal ocurre en edades tempranas, cuando los componentes articulares son cartilagosos y, de esta manera, blandos y maleables, produciéndose la deformación del acetábulo (“aplanamiento” acetabular) o deformación de la escotadura troclear, conduciendo el desarrollo de una artrosis dolorosa. (Marx C. et al., 2014)

La fase inicial de la displasia articular puede ser asintomática y se caracteriza por una sinovitis no supurativa leve con: 1) aumento del volumen del líquido sinovial, 2) engrosamiento de la membrana sinovial, 3) engrosamiento de la capsula fibrosa articular y 4) lesiones degenerativas focales en el cartílago articular. Cualquier factor que influya sobre la conformación apropiada del hueso puede, solo o junto con otros factores tales como un desarrollo corporal rápido, causar el desarrollo de una artrosis secundaria. La displasia articular debe ser considerada el resultado de un desbalance entre las fuerzas de apoyo y la maduración de cartílago a hueso. Si el cartílago puede convertirse a hueso dando la forma de la superficie articular normal previo al estrés anormal que se está ejecutando sobre la cadera, se podrá evitar la displasia. Sin embargo, si el modelo cartilagosos se malforma previo a la conversión final a hueso la articulación será displásica. La gravedad de cada forma de displasia varía, provocando enfermedades con diferencias clínicas significativas. (Vilar J. et al., 2014)

Las displasias también son caracterizadas por anomalías en el tamaño y la forma no solo de las extremidades, sino también del cráneo o huesos del tronco. Por lo que se clasifican como displasias la Osteogénesis imperfecta, las osteodisplasias posturales y la osteopetrosis, en las que la densidad ósea está alterada. En la osteopetrosis se muestra una actividad insuficiente de los osteoclastos. Macroscópicamente, los huesos no tienen canal medular y existe un engrosamiento redondeado de las epífisis de los huesos largos. Los orificios de los nervios son pequeños y comprimen los troncos nerviosos a su salida. La esponjosa primaria, que normalmente desaparece durante el crecimiento, persiste y ocupa la cavidad medular sin dejar espacio, para la médula hematopoyética ni permitir la formación de trabéculas maduras. El hueso que se forma no se remodela y suele tener estructura reticular. Al final, estas alteraciones intrínsecas hacen que el hueso sea frágil. Histológicamente, no hay alteraciones constantes del número de osteoclastos. (Morgan J. 2001)

Las *osteodisplasias* resultan de trastornos en la formación embrionaria del hueso, en tanto que las osteodistrofias derivan de trastornos nutricionales o metabólicos. Las osteodisplasias y condrodisplasias se deben a alteraciones en factores de crecimiento y sus receptores, por mutaciones en los mecanismos de señalización celular que intervienen en la organogénesis ósea. Hay osteodisplasias que no son identificables en el periodo perinatal y solo se manifiestan o se acentúan tiempo después del nacimiento, tal es el caso de la displasia de cadera en los perros. (Rychel J. et al., 2010)

Las *osteodisplasias posturales*, corresponden a un grupo de malformaciones locales, en donde de inicio no hay alteración ósea, sino que son consecuencia de la desviación postural de un miembro, provocada por contracciones permanentes de músculos vecinos o por ligamentos demasiado cortos o largos, que al hacer tracción, desvían la dirección normal del hueso

doblando las epífisis. La posición anormal de miembros y falanges se conoce como artrogriposis. Las desviaciones de algunos segmentos de la columna vertebral pueden dar lugar a escoliosis, que es una rotación hacia los lados, a xifosis, en donde la desviación es hacia arriba formando una joroba o a lordosis, que consiste en un arqueamiento en dirección ventral. (Csaki C. et al., 2008)

Por otro lado la *osteogénesis imperfecta*, es un padecimiento osteopéxico, caracterizado por disminución de la masa ósea, conocida también como enfermedad de los huesos frágiles. Ocurre por una mutación genética que codifican cadenas de colágeno y osteonectina, impidiendo que las moléculas de colágeno sean funcionales. La formación anormal de colágeno no se restringe a los huesos, sino también al tejido conjuntivo de ligamentos, tendones y dientes. Predispone fracturas desde la vida intrauterina, laxitud de articulaciones y dentina defectuosa, que da lugar a dientes pequeños y deformes. Es característico el arqueamiento de los miembros dado a la masa cortical escasa y porosa, así como poco hueso trabecular en la epífisis. Histológicamente es notable la desproporción entre la cantidad de osteoblastos y la matriz ósea, que se observa disminuida por la deficiente síntesis de colágeno. (Trigo T., 2011)

### 3.1.3. Artrosis.

La *artrosis* es una de las alteraciones observadas con mayor frecuencia, tanto en el hombre como en los animales, causante de dolor, sufrimiento e incapacidad. Aunque el efecto de la osteocondrosis o la displasia articular en el perro joven puede dar lugar a una claudicación dolorosa, es la consecuente artrosis la causante de molestias permanentes. La artrosis asociada con la enfermedad ósea del desarrollo en perros es una enfermedad articular no inflamatoria. Al afectar las extremidades de los huesos en crecimiento (epífisis), el desarrollo anormal influye de modo directo en la forma y el contorno final de las superficies articulares. La falla para desarrollar una superficie articular perfecta que sea congruente con la superficie articular opuesta conduce al desarrollo de una artrosis que progresa en la medida que el perro envejece. La progresión de la artrosis es influenciada por muchos factores, tales como actividad física inapropiada o excesiva y aumento del peso corporal. Aunque es poco frecuente, el trauma bajo la forma de fractura articular, luxación o infección intraarticular también produce una artrosis similar de naturaleza no hereditaria. (Blank L. et al., 2008)

En los estadios tempranos, la artrosis se caracteriza por la ruptura del cartílago articular con un aumento en la producción del líquido sinovial, con la consecuente distensión de la cápsula articular. Además, un aumento en la producción de hidrolasas lisosomales causa exacerbación del daño cartilaginoso. El cartílago articular carece de vasos sanguíneos y linfáticos, como también de nervios, y depende de la difusión desde el líquido sinovial para su nutrición. Las lesiones de la membrana sinovial y de la cápsula articular comprometen el soporte nutricional del cartílago, limitando el rango y la extensión de los mecanismos de reparación. La falta de terminaciones nerviosas es, en realidad, un factor importante en la progresión de la enfermedad articular porque es factible que se desarrolle un daño irreversible antes de que los signos clínicos indiquen lesión articular. Si la lesión cartilaginosa tiene la

gravedad suficiente, un entramado de estroma fibrovascular puede extenderse sobre el defecto del cartílago articular. Este aparente mecanismo de reparación compromete aún más el aporte nutricional al cartílago dañado. (Hou Y. et al., 2013)

También se menciona que el aumento en el contenido de fibronectina en el cartílago con aspecto macroscópico normal en perros con alto riesgo de desarrollo de displasia de cadera indica que las articulaciones de aspecto normal en el perro no son, de hecho, totalmente normales. Esto coloca a la artrosis en una posición primaria igual a la displasia de cadera, sin embargo, la artrosis se describe como secundaria a la displasia o a la osteocondrosis, como enfermedades primarias, ya que esta es la forma en que las alteraciones se manifiestan clínicamente. (Morgan J. et al., 2001)

### **3.2. Enfermedad articular degenerativa. (EAD)**

La EAD es conocida como osteoartritis u osteoartrosis y es la forma más común de afección articular; puede presentarse en una o varias articulaciones, sobre todo en las zonas de mayor presión. Se caracteriza por deficiente reparación y degeneración del cartílago hialino, con esclerosis subcondral, bajo grado de inflamación (sinovitis) y proliferación ósea de los bordes articulares (osteofitos), dando como resultado daño funcional de la articulación, inestabilidad y dolor. Esta patología suele presentarse en forma primaria, sin lesión o causa obvia, o de manera secundaria, por traumatismos, por defectos en la conformación o estabilidad de las articulaciones o a consecuencia de inflamación. Las secuelas postraumáticas que producen desestabilidad (esguince, ruptura de ligamento cruzado craneal, etc.) o algunas malformaciones anatómicas (displasias, cierre prematuro de cartílago de crecimiento), influyen en la actividad metabólica de los condrocitos. (Serigano K. et al., 2010)

El cartílago tiene la capacidad de proliferar solo durante el periodo de crecimiento, por lo que cuando se lesiona, no es reemplazado por cartílago nuevo, salvo en la zona de transición entre la membrana sinovial y el periostio o el pericondrio. En la EAD el cartílago sufre degeneración, ya que los condrocitos van perdiendo la capacidad de mantener la matriz condroide en condiciones satisfactorias. Hay un aumento en la retención de agua en la matriz, reducción del tamaño de las fibras de colágeno y disminución en la síntesis de proteoglicanos, en especial de sulfato de condroitín, lo que puede interferir con la lubricación de la articulación y conducir la ruptura de las fibras de colágeno. El cartílago se reblandece (condromalacia) y más tarde se erosiona; el hueso que queda expuesto o sobresale de la superficie articular y que, por la continua fricción, adquiere el aspecto de marfil pulido; el periostio prolifera dando lugar a osteofitos, que cuando se forman de ambos lados de una articulación, cuales pueden llegar a formar puentes entre los dos extremos de los huesos articulados, lo que conduce a anquilosis de la articulación. (Csaki C. et al., 2008)

Cuando se observan fragmentos de hueso o cartílago libres en el líquido sinovial, se denominan ratones articulares y al quedar prensados entre las superficies articulares provocan dolor intenso. En las artrosis aparece fibrosis de la capsula articular con hiperplasia de los sinoviocitos de la íntima, formándose vellosidades enrojecidas y filamentosas que con

frecuencia son pellizcadas durante los movimientos articulares de flexión y extensión, provocando más inflamación y dolor intenso. (Trigo T., 2011)

### **3.3. Herniación de disco Intervertebral.**

Del mismo modo que el cartílago, los discos intervertebrales se degeneran de forma progresiva conforme avanza la edad. Además de esta, los factores predisponentes son la conformación anatómica o racial y la función zootécnica que desempeñan los animales. El núcleo pulposo de los discos se compone en gran parte por agua y proteoglicanos, en perros condrodisplásicos como Dachshund, Basset hound y Bulldog este núcleo suele sufrir metaplasia condroide y calcificación desde edades tempranas, se endurece al igual que el disco y puede fragmentarse. Muchos otros perros de edad avanzada (no condrodisplásicos) son susceptibles de sufrir herniación discal, aunque la patogenia es diferente: con el paso del tiempo, el núcleo pulposo (de consistencia blanda) se va deshidratando y sufre fibroplasia (colagenización); de manera simultánea, el anillo fibroso del disco que lo rodea también se degenera, y por efecto de impactos repetidos puede fragmentarse, dejando salir el material que constituye al núcleo hacia la zona de menor presión (que en los animales es en dirección dorsal al cuerpo vertebral), por lo que el deslizamiento ocurre hacia la cavidad medular, con lo que llega a presionar las raíces de los nervios espinales y vasos sanguíneos o comprimir las meninges y la médula espinal. Las consecuencias suelen ser radiculoneuritis, mielitis, desmielinización e incluso necrosis medular (mielomalacia). Las manifestaciones clínicas dependerán del grado y sitio de compresión de la médula, siendo la región lumbar la más propensa para el prolapso o herniación discal. Cuando el desplazamiento del disco o su núcleo están en dirección ventral, puede favorecer la formación de osteofitos en los cuerpos vertebrales y espondilosis anquilosante. (Serigano K. et al., 2010)

### **3.4. Osteocondrosis de la cabeza humeral.**

La osteocondrosis de la cabeza humeral es una enfermedad hereditaria del desarrollo, que es el resultado de la alteración de la osificación endocondral en la cual las células cartilaginosas no son reabsorbidas ni remplazadas por hueso, como ocurre en estado normal. Esta es una localización frecuente para la ocurrencia de osteocondrosis en perro. Con la formación de una fisura entre el cartílago engrosado y el hueso subcondral, la osteocondrosis no dolorosa progresa una osteocondritis disecante clínicamente dolorosa. El defecto resultante causa incongruencia en la superficie articular de la cabeza humeral, que conduce al desarrollo de una artrosis. A menudo, la lesión es bilateral. El termino osteocondrosis se usa como termino general haciendo referencia a ambas formas de la enfermedad (osteocondrosis y osteocondritis disecante). (Blank L. et al., 2007)

El curso natural de la enfermedad consiste en la liberación gradual del colgajo cartilaginoso dejando un defecto en la epífisis. Posterior al desprendimiento del colgajo, éste puede caer en el saco caudal y: 1) desintegrarse en su totalidad, 2) romperse en fragmentos muy pequeños que persisten o 3) permanecer como un fragmento intacto. El futuro aspecto de los fragmentos depende, en gran medida, de si logran adherirse a la membrana sinovial. Los fragmentos sueltos no son absorbidos pueden unirse a partir del líquido articular y aumentar su tamaño (creando un ratón articular u osteocondromas). De esta manera, los fragmentos pueden incrementar su tamaño nutriéndose del líquido sinovial dentro de la cavidad articular y continuar cartilagosos o adherirse a la cobertura sinovial, ser invadidos por vasos sanguíneos y sufrir osificación endocondral. Los cuerpos cartilagosos libres (ratones articulares) alojados en el saco caudal de la articulación pueden permanecer quietos o moverse de forma tal de inducir, posteriormente, el desarrollo de una tenosinovitis aguda. Debido a que la vaina del tendón bicipital es una continuación de la cápsula de la articulación del hombro, los fragmentos pueden migrar a esta localización y producir una grave tenosinovitis. En muchos casos, ésta produce adherencias entre el tendón y la vaina que lo rodea; la condición resultante es muy dolorosa, necesitándose la transposición del tendón de origen del bíceps braquial desde el tubérculo supraglenoideo hacia la porción proximal del húmero. La inflamación puede extenderse hacia los tejidos adyacentes, pudiéndose desarrollar la inflamación e incluso la osificación del ligamento intertubercular, el cual mantiene al tendón bicipital entre los tubérculos mayor y menor. El patrón más grave de las complicaciones de una osteocondritis disecante ocurre con el desarrollo de una artrosis persistente y progresiva de la articulación junto con el desarrollo de una tenosinovitis bicipital. En el perro en el cual el colgajo ha sufrido un desprendimiento espontáneo, la extracción quirúrgica de los fragmentos cartilagosos está indicada para minimizar la sinovitis crónica. Si el colgajo se remueve por la vía quirúrgica, el lavado articular es crítico para eliminar todos los productos cartilagosos irritantes y los ratones articulares. Es factible que esta política por limpiar la cavidad articular juegue un pequeño papel en la cicatrización del defecto cartilaginoso, pero es necesaria para disminuir el dolor. Además de la lesión primaria se pueden observar los cambios secundarios típicos de la artrosis, incluyendo a: 1) adelgazamiento generalizado del cartílago articular; 2) eburnificación (superficie ósea brillante); 3) osteofitos (en el borde periarticular) y 4) entesofitosis (en los puntos de inserción de tejidos blandos). El patrón de cambios depende, principalmente, del tamaño de la lesión original de osteocondrosis disecante. Con la ausencia de una porción del contorno cartilaginoso de la cabeza humeral debido a la lesión de la osteocondritis disecante, el cartílago opuesto de la cavidad glenoidea no logra nutrirse en la manera adecuada y muere, creando una lesión consecuente. Por lo general, se evidencian engrosamientos de la capa fibrosa de la cápsula articular e hiperemia e hipertrofia de la membrana sinovial. Algunos de estos cambios, aunque no todos, se observan con claridad en el momento de la cirugía. (Morgan J. et al., 2001)

Los signos clínicos de la osteocondrosis del hombro corresponden a una claudicación inespecífica del miembro anterior. Por lo general, es detectada por primera vez entre los 4 y los 8 meses de edad. En este momento, la claudicación está causada por una sinovitis dolorosa precipitada por los desechos cartilagosos presentes dentro de la cavidad articular. Mientras

que muchos pacientes se presentan a edades tempranas, en algunos otros no se reconoce su claudicación hasta tiempo después. Esta demora es especialmente comprensible en aquellos pacientes con lesiones bilaterales, en los cuales la claudicación no es notoria porque ambos hombros presentan el mismo grado de enfermedad y muestran una marcha alterada con ambos miembros anteriores en lugar de mostrar una claudicación obvia en uno de los miembros. Dependiendo de la duración de estos signos clínicos, la atrofia muscular, en especial en los músculos supraespinoso, infraespinoso y deltoides es evidente, debido al menor uso del miembro. En el inicio del curso de la osteocondritis disecante de los perros jóvenes no tratados, la claudicación aumenta con el ejercicio y disminuye con el reposo. El dolor en la fase aguda como resultado de sinovitis, se complica con el desarrollo del dolor producido por artrosis. El grado de dolor variará según la gravedad de la artrosis. En estos perros se puede observar una rigidez importante del miembro afectado al levantarse en la mañana; esto puede verse exacerbado si duermen sobre piso o en un ambiente frío. Sin embargo, estos signos tienden a disminuir con el ejercicio a medida que el perro va “calentando”, por lo que eventualmente este paciente podrá realizar actividad física más tarde durante el día sin mostrar molestias. Sin embargo, si el ejercicio es excesivo, el perro podrá presentar una claudicación aguda y rechazar el uso del miembro. En las razas más livianas, la lesión por la osteocondrosis disecante es pequeña, los signos clínicos suelen comenzar en forma tardía hay la posibilidad de recuperación espontánea es buena. Por el contrario, si la raza es grande, el inicio de los signos comenzará en un periodo más precoz y la cicatrización del defecto será posible, pero con una alta probabilidad de desarrollo de artrosis grave. (Blank L. et al., 2007)

### **3.5. Cartílago retenido.**

Entre la diáfisis y la epífisis de los huesos largos están las placas cartilaginosas, denominadas placas de crecimiento metafisiaria; la mayoría de éstas proporcionan crecimiento en largo. Hacia el lado epifisario, las células cartilaginosas se multiplican y crecen en columnas hacia la metafisis. A medida que las células cartilaginosas se extienden hacia el lado metafisario de la placa de crecimiento se van vesiculando, mueren y su matriz intercelular se calcifica. Al mismo tiempo, parte de la matriz cartilaginosa se extiende hacia el lado hipofisario de la placa de crecimiento se van vesiculando, mueren y su matriz intercelular se calcifica. Al mismo tiempo, parte de la matriz cartilaginosa calcificada es removida por una población de células especializadas, derivadas de las células mononucleares circulantes. Estas células, los osteoclastos, abren canales por donde penetran los vasos sanguíneos. Una segunda población de células formadoras de hueso se originan desde células osteoprogenitoras, que se encuentran adyacentes a la superficie ósea. Estas células son capaces de realizar división celular y producir osteoblastos, los que sintetizarán matriz ósea. Estas células depositan osteoide sobre las paredes de los canales en el cartílago, seguido por el depósito de minerales dentro de la matriz osteoide, resultando en la formación de tejido óseo inmaduro. Sin embargo, si la irrigación sanguínea es deficiente, la matriz cartilaginosa no se mineraliza y no es remplazada por hueso. En la porción distal del cúbito, la metafisis es acampanada y de gran diámetro. Esto puede influir en la irrigación sanguínea para el cartílago y causar un gran corazón de cartílago acumulándose dentro de la metafisis. La falla para efectuar la conversión

a hueso produce la alteración de la tasa de crecimiento en la porción distal del cúbito. El crecimiento más lento da como resultado un acortamiento de dicho hueso provocando el arqueamiento del radio o, en algunos perros, causando la falla del normal desarrollo del codo, caracterizado por la subluxación distal de la porción proximal cubital. El cartílago retenido en esa porción ocurre con frecuencia en las razas gigantes y en general causa los primeros signos clínicos entre los 4 y 7 meses de edad siendo bilateral en la mayoría de los casos. (Cotran R. et al., 2000)

Un cartílago endocondral retenido fue descrito como una condición patológica particular de la región metafisaria del cúbito que afecta el crecimiento óseo longitudinal por Riser y Shirer en 1965. Se sugirió como etología a la insuficiente irrigación que provoca la interferencia de la osificación endocondral en la metáfisis distal del cúbito. Tres factores pueden influir sobre este problema de irrigación de la porción distal cubital. Uno es el gran diámetro de esta región fisaria, en comparación con otros huesos largos, lo que compromete la invasión metáfisis-físis de la irrigación hacia el centro de la placa de crecimiento. En segundo lugar, debido a que los vasos nutrientes ingresan al cúbito por proximal, pueden perder contribución de sangre en la medida que se desplazan hacia la placa de crecimiento del cúbito distal. El tercer factor es el crecimiento requerido por la porción distal del cúbito. En los perros con cartílago retenido, el diámetro del cono varía desde un pequeño cartílago retenido hasta uno que involucre más del 50% del área de sección de la metáfisis distal, lo cual sugiere la gravedad de la alteración de la irrigación sanguínea en el anillo metafisario-fisario entre la periferia y el centro. El tamaño del corazón cartilaginoso presenta una relación inversa con el área de la placa de crecimiento visible, en la cual existe una conversión más normal de cartílago a hueso. (Morgan J. et al 2001)

La físis radial y cubital crecen a un ritmo diferente. La físis cubital distal aumenta a una velocidad igual al equivalente de la combinación de la físis proximal y distal del radio. El crecimiento en largo del cúbito, proximal a la articulación humerorradial, es producido por medio de la físis apofisaria (de tracción) de la porción proximal del cúbito y por el cartílago que cubre el extremo proximal del olécranon. Los ligamentos proximales y distales presentan la misma relación anatómica a todo lo largo del crecimiento normal. El ligamento interóseo corre en dirección transversa y sufre un cambio gradual asociado con el crecimiento cubital, por lo que posteriormente sus fibras presentaran una dirección oblicua hacia distal desde el cubito hacia el radio, en la medida que el cúbito se desliza hacia proximal a lo largo del radio. La disminución del crecimiento en la físis cubital distal debido a la retención del cartílago puede ocurrir por una falla en la irrigación metafisaria-fisaria. Esto puede estar influenciado por la característica forma de cono de la epífisis cubital distal, que impide que la epífisis se desplace lateralmente de la metáfisis. En este caso, el vértice de la metáfisis cubital tiende a ser forzado hacia la epífisis, provocando un tipo de lesión por aplastamiento en la irrigación. Según la resistencia de las articulaciones humerocubital y carpocubital, el cubito con crecimiento retardado puede subluxarse hacia distal en la articulación del codo o la apófisis estiloides del cúbito puede ser desplazada hacia proximal en la articulación del carpo, o sufre ambas alteraciones. Si la apófisis ancónea no está unida aún o se rompe, la subluxación logra ser aún más grave y puede minimizarse el grado de arqueamiento craneomedial del radio. El cartílago

retenido cubital distal ocurre con frecuencia en un estadio subclínico, debido a que la porción viable de la placa de crecimiento tiene un tamaño suficiente como para sostener el crecimiento normal del cúbito. A pesar de que la presencia del cartílago retenido no provoca dolor, eventualmente este signo se hará presente dependiendo de la edad de comienzo de la lesión y la gravedad de la disminución de la tasa de crecimiento del cúbito. (Hou Y. et al., 2013)

Los signos clínicos del cartílago cubital distal son:

- a) Arqueamiento craneomedial del radio.
- b) Desviación lateral y rotación externa de la garra (deformación en valgo).
- c) Acortamiento del miembro.
- d) Claudicación, debido a la relación alterada de la articulación radiocarpal, Más grave ante la subluxación distal de la porción proximal del cúbito.
- e) Alteración en la marcha. (Cotran R. et al., 2000)

### **3.6. Osteocondrosis del cóndilo femoral.**

La osteocondrosis fue definida como una alteración de la diferenciación celular en la placa de crecimiento metafisiaria y el cartílago articular. Las células cartilaginosas no pueden madurar y vesicularse, y la matriz no se calcifica, conduciendo a la retención del cartílago. Como resultado, el cartílago de la epífisis aumenta el espesor y demora o evita la conversión a hueso. La resultante deficiencia en la irrigación causa la necrosis del cartílago en su porción más profunda. Después de la muerte del cartílago se puede formar una fisura, permitiendo el flujo del líquido sinovial dentro de esta apertura, dando lugar a un mayor trauma a las células cartilaginosas viables. Las nuevas lesiones adquieren importancia clínica debido a que el material proveniente del cartílago degenerado puede alcanzar la cavidad articular causando una reacción inflamatoria estéril en la membrana sinovial y en consecuencia produciendo dolor. Esta osteocondritis disecante es en general poco profunda y crea un colgajo cartilaginoso similar al observado en la cabeza humera; sin embargo, el colgajo rara vez se calcifica in situ. A menudo, la lesión parece profundizarse en el cóndilo y aparece como una cavidad similar a un quiste, con una abertura hacia la superficie articular sin mostrar un colgajo cartilaginoso. Este patrón sugiere que la lesión tomó origen en el estadio temprano del desarrollo del cóndilo y posiblemente comenzó en una zona de cartílago de crecimiento defectuoso, aun previo a la osificación. La mayoría de los casos involucra la cara de apoyo del cóndilo femoral lateral; sin embargo, también fueron descritas lesiones en el cóndilo medial. (Marx C. et al., 2014)

Lafeber y col. (1959) describieron por primera vez la osteocondrosis de la rodilla del canino en razas de gran talla y la descripción de la lesión fue incluida en el texto por Hickman (1964). Luego, parece haber sido olvidada y no se la volvió a describir hasta los '70 (Robins, 1970, 1978; Morgan, 1972; Olsson, 1975; Knecht y col., 1977; Berzon, 1979), siendo la mayoría de los casos informados de Europa continental. La reseña, los antecedentes y los signos clínicos de los pacientes fueron similares en todos los informes. Se ha descrito repetidamente



que los machos son más afectados que las hembras (Arbesser, 1974; Denny y Gibbs, 1980) y que la enfermedad es en general bilateral (Arbesser, 1974). Se han descrito camadas afectadas por la enfermedad (Knecht y col., 1977; Woodard, 1979). Hay muchas referencias acerca de la osteocondrosis que afecta la rodilla y también a otras articulaciones en el mismo perro (Knecht y col., 1977; Alexander y col., 1981; Morgan y col., 1999). La mayoría de los perros afectados pertenecen a razas de gran talla, incluyendo al Wolfhound irlandés, Pastor alemán y Gran danés. Según los informes, el Labrador retriever no es afectado con frecuencia. En las razas afectadas (Wolfhound y Gran danés) la claudicación es claramente originada en la rodilla no complicada con una asociación de displasia de cadera, como ocurre en Pastor alemán. (Morgan J. et al., 2001)

El signo clínico primario en pacientes jóvenes descrito en todas las publicaciones es la claudicación en los miembros pélvicos, más evidente después del ejercicio. La edad más temprana de inicio de los signos clínicos es 3 a 4 meses; la mayoría de los perros presentan el inicio de su cuadro clínico a los 5 a 9 meses, mientras que algunos lo hacen después de los 9 meses. Los casos más tardíos se deben por lo general al reconocimiento demorado de los signos, posiblemente al compromiso bilateral. Sin embargo, en la mayoría de los casos hay una presentación gradual de la claudicación, siendo ésta persistente. A menudo, la claudicación se observa durante 2 a 4 meses antes de presentarse el animal para tratamiento y se puede volver intermitente en los casos de mayor duración. En los perros afectados con afección bilateral, es posible que el diagnóstico de osteocondrosis sea algo difícil de alcanzar porque más allá de la claudicación, hay una marcha alterada caracterizada por una disminución en el rango de movimiento de la rodilla dando como resultado una marcha forzada. Debido al patrón alterado de la marcha es factible que se sospeche que el perro tenga displasia de cadera. Habiendo descartado la displasia de cadera como causa del problema, se debe dirigir la atención hacia la rodilla, en especial si se percibe cierto grado de engrosamiento de la cápsula articular sobre la cara medial de la rodilla. La facilidad de detección de la lesión depende directamente del tamaño de ésta. En los perros más viejos, se observa la claudicación solo en aquellos casos con lesiones grandes, aquellos con ratones articulares o con artrosis secundarias. (Csaki C. et al., 2008)

### **3.7. Displasia de codo.**

La displasia de codo es una enfermedad del desarrollo hereditaria poligénica que lleva a la creación de una escotadura troclear cubital con una circunferencia demasiado pequeña como para acompañar a la tróclea humeral generando, de esta manera, incongruencia dentro de la articulación. Dependiendo en parte de la raza del perro, el efecto de esta incongruencia puede dar diferentes formas de displasia. Estas incluyen la apófisis ancónea no unida, la enfermedad de la apófisis coronoides medial y la osteocondritis disecante del cóndilo medial del húmero. Cuando la incongruencia es menor, la única consecuencia puede ser una leve artrosis, sin causar signos clínicos obvios. Se sabe que todas las formas producen claudicación. Hay que comprender que todas estas lesiones se originan en la medida que los modelos cartilagosos del radio, del cúbito y la extremidad distal del húmero sufren la conversión a hueso. (Blank L. et al 2007)

En un principio, el término “displasia de codo” fue introducido para describir una artrosis generalizada de la articulación del codo en la cual en algunas, pero no en todas las articulaciones, se presentaba una apófisis ancónea no unida (Corley y Carlson, 1965). Estas lesiones, descritas como displasia de la articulación cubital, fueron claramente ilustradas en el Pastor alemán y el San Bernardo en el libro de Wamberg (1966). Luego, se reconocieron asociadas con esta artrosis generalizada a la fragmentación de la apófisis coronoides medial del cubito y la osteocondritis disecante de la cara medial del cóndilo humeral. Históricamente, estas tres enfermedades fueron descritas como entidades individuales. Sin embargo, un concepto moderno de la displasia de codo es que todas tienen una etiología común, la incongruencia articular, que puede dar lugar a alguna de las formas antes mencionadas de displasia de codo. Estas distintas formas de displasia de codo causan claudicación y dolor en la articulación mencionada de perros de razas grandes y gigantes (Pobisch y col., 1972; Hayes y col., 1979; Mason y col., 1980; Grondalen 1979, 1982; Guthrie, 1989). Con frecuencia, el compromiso es bilateral. Las razas afectadas con mayor frecuencia son aquellas intermedias y pesadas, observándose una alta incidencia en el Pastor de Bernese, el Rottweiler, el Pastor alemán, el Golden retriever y el Labrador retriever. Otras razas afectadas incluyen el Newfoundland, el San Bernardo, el Mastiff, el Springer Spaniel, el Pastor australiano, el Chow Chow y el Pastor Shetland. Estas lesiones también se han descrito en el Shar Pei (Ticer y col., 1991). De las principales formas de displasia de codo, la osteocondritis disecante y la enfermedad de la apófisis coronoides no son fáciles de diagnosticar en el examen físico y radiológico de rutina. Desde que algunos médicos confiaron plenamente en la identificación de lesiones específicas para hacer un diagnóstico de displasia, estas articulaciones enfermas no se diagnostican con seguridad. Sin embargo, los más experimentados interpretan la artrosis y los signos sutiles (tales como leves malformaciones de la apófisis coronoides medial o la incongruencia) en la forma correcta como signos diagnósticos indirectos para la detección de la displasia de codo.

Es factible encontrar la misma forma de displasia en ambos codos, o se puede observar una combinación de las formas. También es factible descubrir dentro de una misma articulación más de una forma de la enfermedad. A menudo, la enfermedad de la apófisis coronoides medial y la osteocondritis se presentan en la misma articulación (Wolfe, 1976; Robbins, 1978; Mason y col., 1980; Bennett y col., 1981; Olsson, 1983; Hazewinkel y col., 1988). En aquellos codos que poseen sólo la enfermedad de la apófisis coronoides, se han observado diferentes estadios, siendo 3 veces más frecuentes la apófisis coronoides fragmentada que la fisura de la misma apófisis. Esta información es importante para considerar en la evaluación de los perros con claudicación. Se observó en un primer momento que todas las formas de displasia de codo son el resultado de la incongruencia y la interferencia con la formación de las superficies articulares y la manera en la cual ellas articulan y, en consecuencia, con el tiempo se desarrolla una artrosis como una enfermedad articular secundaria. Cuando la artrosis es grave, la formación ósea reactiva adyacente puede ser tan extensa que es difícil identificar por medio de un estudio radiográfico la forma específica de la lesión en el codo. Más tarde, la identificación de la causa específica de una artrosis de codo puede ser imposible, ya sea en el momento de una cirugía o de una necropsia. En los pacientes más viejos, es factible que la artrosis, en

especial si es bilateral, sea secundaria a una displasia de codo. Sin embargo, una artrosis con aspecto similar puede ser secundaria a otra etiología, tales como trauma o inflamación. Se ha generado cierto grado de confusión respecto del diagnóstico radiográfico de la displasia de codo, ya que algunos sienten que es necesaria la identificación de la anomalía del desarrollo específica (osteocondritis disecante, apófisis ancónea no unida, enfermedad de la apófisis coronoides medial) antes de diagnosticar una displasia de codo. (Cotran R. et al., 2000)

Lesiones específicas observadas con frecuencia en las diferentes razas con displasia de codo:

RAZA	LESIONES
Pastor de Bernese	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enfermedad de la apófisis coronoides medial.</li> </ul>
Pastor alemán	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enfermedad de la apófisis coronoides medial.</li> <li>• Apófisis ancónea no unida.</li> </ul>
Golden Retriever	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enfermedad de la apófisis coronoides medial.</li> <li>• Osteocondritis disecante.</li> </ul>
Labrador Retriever	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Enfermedad de la apófisis coronoides medial.</li> <li>• Osteocondritis disecante.</li> </ul>
Rottweiler	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Apófisis coronoides fragmentadas.</li> </ul>

Teniendo en cuenta que en las diversas formas de displasia de codo existe la incongruencia, la idea de una causa común es atractiva. La incongruencia observa entre el borde distal de la escotadura troclear cubital (apófisis coronoides medial) y el radio sugiere un crecimiento asincrónico del radio y el cúbito, o un desarrollo insuficiente de la escotadura troclear cubital. Las mediciones de la longitud del radio y el cúbito indicaron un aumento relativo en razas con displasia de codo. Una explicación alternativa es el subdesarrollo de la escotadura troclear del cúbito, dando como resultado una escotadura con una curvatura demasiado pequeña como para acompañar la curvatura de la tróclea humeral. El aumento de tamaño relativo de la porción proximal del cúbito en las razas (pesadas) afectadas representa, muy probablemente, una adaptación para acomodar la escotadura troclear del cúbito a un tamaño suficiente como para acompañar a la gran tróclea humeral. Debido a que la escotadura troclear del cúbito rodea en considerable extensión a la tróclea humeral, la velocidad de producción de hueso por la placa de crecimiento epifisaria articular de la escotadura troclear del cúbito necesita trabajar a un ritmo más rápido que la placa de crecimiento de la tróclea humeral. La falla para mantener el ritmo de crecimiento podría ser la causa subyacente de la incongruencia observada. Otra posibilidad de enfermedad ocurre en el desarrollo de una apófisis ancónea no unida en perros en los cuales un centro separado de osificación dentro de la apófisis ancónea esta aun presente después de iniciada la incongruencia. Esta no unión es más probable que se

deba a un micromovimiento del puente cartilaginoso entre el centro separado de osificación y el olécranon. Este movimiento se debe a que la apófisis ancónea se encuentra muy junto al húmero como resultado de una curvatura demasiado pequeña de la escotadura troclear. Una forma final de la enfermedad se observa en el desarrollo de una lesión de osteocondritis disecante sobre la cara medial del cóndilo humeral, en la cual la interferencia con la osificación endocondral de la placa de crecimiento epifisario está causada por la excesiva presión generada por apófisis coronoides medial. Las combinaciones de cualquiera de las alteraciones mencionadas es factible encontrarlas en un mismo codo o entre ambos codos de un mismo perro. (Morgan J. et al., 2001)

Pueden aparecer a los 4 a 6 meses de edad. Estos signos incluyen episodios de claudicación, marcha con pasos cortos en “remada” y una parada con base ancha con los miembros anteriores, posiblemente en un intento por minimizar el dolor causado por el apoyo. Además, el animal puede pararse con los codos hacia afuera o adentro, o con la garra rotada hacia afuera. Sin embargo, los perros afectados por otras enfermedades del codo también pueden poner dicha articulación en aducción. Los signos clínicos están particularmente influenciados por la uni o bilateralidad de la enfermedad. La marcha normal “en remo” corto se observa en especial cuando ambos codos están involucrados y además puede caracterizarse por la excesiva supinación de las garras del miembro anterior durante la extensión del miembro. Sin embargo, esta observación no es patognomónica porque muchos perros aparentemente normales de las razas afectadas con frecuencia también supinan la garra con el miembro en extensión. Debido al dolor, y en especial al compromiso bilateral, la resistencia al ejercicio puede estar limitada, afectando la personalidad del perro. Con el tiempo, la artrosis progresa y se desarrolla un patrón de signos clínicos más crónicos. En esta situación, el perro pasa más tiempo sentado o echado, y juega durante cortos periodos. Es en este estadio que la claudicación se vuelve más mecánica debido a la limitación de movimientos por parte de la articulación, por el engrosamiento de la cápsula articular y la producción de hueso nuevo. En general, se informa que los perros con osteocondritis disecante parecen tener signos clínicos a una edad más temprana que aquellos con otras formas de displasia. Los hallazgos en el examen físico son similares en los codos más allá de la forma específica de la displasia. Es decir, los signos clínicos identificados con la displasia de codo son: En la enfermedad aguda, tenemos dolor en la flexión y la extensión y efusión articular, mientras que en la enfermedad crónica, se observó engrosamiento de la cápsula articular, aumento de la prominencia del epicóndilo humeral medial, atrofia muscular y limitación mecánica del movimiento. (Marx C. et al., 2014)

### *3.7.1. Apófisis ancónea no unida.*

En el Pastor alemán y los Greyhounds se puede presentar un centro de osificación separado por la apófisis ancónea a una edad más avanzada que en otras razas. El Pastor alemán, con una incidencia relativamente alta de displasia de codo, la combinación del centro de osificación separado de la apófisis ancónea y una circunferencia troclear demasiado

pequeña crea micromovimientos en el puente cartilaginoso existente entre el centro de osificación y la porción principal del cúbito. Esto causa una falla en la osificación endocondral de este puente y da lugar a esta particular forma de displasia de codo. El movimiento crónico del fragmento, produce el remodelado de éste mientras que la incongruencia causa trauma en la superficie articular de la escotadura troclear. (Blank L. et al., 2008)

La histopatología de las muestras ósea tomadas de los codos con apófisis ancónea no unida muestra el puente cartilaginoso o físis entre el centro de osificación separado y el cúbito. Las zonas dentro de esta inusual físis presentan un espesor irregular debido a la presencia de numerosos intentos no satisfactorios para el cierre de la físis, produciéndose solo unos pocos sitios de unión ósea ente la apófisis ancónea y la esponjosa metafisaria de la porción proximal del cúbito. Por lo general, hay evidencias de hemorragia, necrosis y fibroplasia, que a menudo forman la “línea de fractura” a través de la físis remanente. En otros miembros de la raza Pastor alemán, la unión de la apófisis ancónea con el cubito ocurre previo al desarrollo de la incongruencia articular. En estos perros sin los micromovimientos que causan la no unión de la apófisis ancónea se puede desarrollar la enfermedad de la apófisis coronoides medial. En perros de otras razas, también puede presentarse una apófisis ancónea no unida debido, probablemente, a un patrón de eventos similares. Si el puente cartilaginoso permanece estable, los signos clínicos pueden ser solo mínimos, si es que se presenta alguno. Sin embargo, si el puente se fractura tiempo después, se producirán rápidamente dolor, inestabilidad y artrosis. Esta fractura puede ocurrir en forma temprana en un perro activo, o permanecer estable por algún tiempo y fracturarse posteriormente (3 a 4 años). . (Vilar J. et al., 2014)

### *3.7.2. Enfermedad de la apófisis coronoides medial.*

Desde 1974 (Olsson) se están presentando un mayor número de perros de razas grandes y gigantes con claudicaciones uni o bilaterales originadas en el codo por fragmentación con separación parcial o incompleta de la apófisis coronoides medial del cúbito. Los autores suscriben la creencia acerca de que la displasia de codo está unida por el retraso temporario o persistente en el crecimiento de la escotadura troclear cubital dando lugar a un desarrollo de la escotadura troclear, que también puede ser temporario o permanente. Este subdesarrollo causa que la apófisis ancónea y la apófisis coronoides medial queden demasiado cerca de la tróclea humeral, mientras que el centro de la escotadura troclear del cúbito pierde contacto con la superficie articular que se le opone. Desde un punto de vista radiográfico, esto se presenta como una subluxación craneal del cóndilo humeral. El retardo en el desarrollo de la escotadura troclear comienza en el momento en que la apófisis es aun cartilaginosa y flexible, previo al momento en que sufre una osificación gradual. El daño a la apófisis coronoides medial se explica por el hecho que ésta queda algo por encima del nivel de la inclinación medial de la cabeza radial. En esta posición queda sujeta al soporte de una inusual pérdida. El daño de la apófisis coronoides medial varía mucho. Puede permanecer cartilaginosa, tener una demora en la osificación o puede osificarse en un tiempo más normal. Es posible que la lesión aparezca como una fisura dentro del cartílago, con separación completa del fragmento cartilaginoso o

puede aparecer como una fisura dentro del hueso con una fractura incompleta o la separación completa del fragmento óseo. (Marx C. et al., 2014)

### *3.7.3. Osteocondrosis de la cara medial del cóndilo humeral.*

La osteocondrosis de la cara medial del cóndilo humeral es similar a la de otras partes del cuerpo, presentando un cartílago articular engrosado en una epífisis en desarrollo, en la que hay demora de la osificación endocondral. Involucra a la porción medial del cóndilo humeral en el perro y se identifica con frecuencia junto con la enfermedad coronoide medial. Tal como se describió con anterioridad, la osteocondrosis puede progresar a una osteocondritis disecante y esto es lo que ocurre en el codo. En el momento en que se identifica la lesión en el cóndilo humeral, esta es una osteocondritis disecante con un colgajo cartilaginoso simple o fragmentado. En la evaluación radiográfica se identifica un defecto óseo en la cara medial del cóndilo humeral. Esta lesión se encuentra en un punto opuesto a la apófisis coronoide medial. El fragmento puede permanecer in situ. Si el colgajo no es removido por la vía quirúrgica se transformará en un cuerpo libre y se movilizará hacia la fosa radial craneal, donde algunas veces se adhiere a la capsula articular y se osifica. Estos fragmentos también pueden desprenderse y presentarse en el espacio articular medial distendido. Esta lesión de osteocondritis disecante no debe ser confundida con la “lesión por rozamiento”, la cual es una abrasión del cartílago articular que algunas veces puede extenderse hacia el hueso subyacente. Ambas lesiones se pueden localizar en el punto opuesto a la apófisis coronoide medial. Sin embargo, la lesión de la osteocondritis disecante se encuentra opuesta al cuerpo principal de la apófisis, mientras que la “lesión por rozamiento” se halla opuesta al fragmento coronoideo, el cual se encuentra más hacia lateral. Es factible que la lesión por osteocondritis disecante se desarrolle a una edad más temprana y es más probable que sea el resultado de una gran fuerza de contacto entre el cartílago de la apófisis coronoide en posición más alta y el cartílago articular opuesto sobre el húmero. Es probable que la “lesión por rozamiento” se desarrolle después de la osificación de la apófisis coronoide en posición más alta y sea el resultado de los efectos abrasivos. La presentación algo más temprana de los signos clínicos en la osteocondritis disecante dan apoyo a este punto de vista. Posiblemente la osteocondritis disecante sea el resultado de dos problemas por separado: una predisposición racial para la osteocondrosis combinada con una predisposición racial por un subdesarrollo de la escotadura troclear cubital. Las lesiones son más comunes en los machos. Con predisposición racial en ciertas familias de Labrador retriever, Rottweiler y Newfoundland las que son afectadas con mayor frecuencia por estas formas de displasia de codo. (Morgan J. et al., 2001)

## **DISPLASIA DE CADERA**

La displasia de cadera es otra enfermedad ósea hereditaria del desarrollo, fue la primera de las enfermedades óseas y articulares en ser reconocidas. En un comienzo se pensó que afectaba sólo a las razas de gran talla; sin embargo, en la actualidad se sabe que puede ocurrir en razas gigantes, grandes, medias y pequeñas. La displasia de cadera no es una enfermedad congénita y no puede ser diagnosticada por medio de métodos convencionales en el momento del nacimiento (Henricson y col., 1966; Lust y col., 1973). Así, la abreviatura inglesa de CHD *Canine Hip Displasia* (displasia de cadera canina) y no *Congenital Hip Displasia* (displasia de cadera congénita). Las caderas son normales en el momento del nacimiento pero un desarrollo desequilibrado entre el aparato esquelético y el muscular hace que la cabeza femoral sea forzada fuera del acetábulo, hacia dorsal y lateral. Se piensa que el desarrollo anormal de la cadera es causado por una demora en el desarrollo de la masa muscular junto con un crecimiento rápido del esqueleto (Riser y Shirer, 1967; Riser, 1974). La subluxación de la cabeza femoral ocurre a una edad temprana cuando los componentes de la articulación son aun cartilagosos y, de esta manera, blandos y maleables. Esto conduce a la deformación del acetábulo (pérdida de la profundidad) y a la remodelación de la cabeza femoral, cambios que llevan al desarrollo de una artrosis dolorosa. El curso de la enfermedad en un perro en particular está influenciado por la tasa de crecimiento (Lust y col., 1973; Hedhammer y col., 1974; Lust y Farrell, 1977), el peso corporal (Kealy y col., 1997) y el patrón de ejercicios, como así también por otros factores ambientales. La displasia de cadera es bien reconocida como una enfermedad poligénica. (Morgan J. et al., 2001)

El término de displasia de cadera significa, en forma literal, la falla del desarrollo de la cadera y fue descrito en 1935 (Schnelle). La palabra displasia deriva del griego *dys*, que significa anormal y del griego *plassein*, que equivale a formar. Una definición más descriptiva de la displasia de cadera es “un grado variable de laxitud de la cadera que permite la subluxación durante la etapa inicial de la vida, originando un grado variable de pérdida de la profundidad acetabular y aplanamiento de la cabeza femoral y, por último, alcanzar la inevitable artrosis” (Henricson y col., 1966).

Se han encontrado fuertes evidencias acerca de que la principal característica de la displasia de cadera era la laxitud articular presente en el comienzo de la vida (Mansson y Norberg, 1961) que conduce a la subluxación de la cabeza femoral, resultando en la falla del desarrollo del acetábulo respecto a la formación de una cavidad profunda que mantenga en posición adecuada a la cabeza femoral. Todos estos factores conducen al desarrollo de una superficie articular incongruente que causa el progreso de una artrosis secundaria. La fase inicial de la enfermedad es típicamente asintomática, caracterizada por una sinovitis leve no supurativa relacionada con: 1) aumento del volumen del líquido sinovial, 2) engrosamiento de la membrana sinovial, 3) engrosamiento de la cápsula fibrosa articular, 4) engrosamiento del ligamento redondo de la cabeza femoral, 5) prominencia del labio acetabular cartilaginoso y 6) lesiones degenerativas focales en el cartílago articular. La subluxación en esta etapa temprana

de la vida no siempre es detectada con seguridad en las evaluaciones radiográficas al utilizar técnicas sin estrés (Lust y Summers, 1981; Morgan, 1992, 1997).

Cualquier factor que influya en el asentamiento apropiado de la cabeza femoral dentro de la cavidad acetabular, solo o junto con otros factores tales como crecimiento rápido, causaran el desarrollo de una artrosis. Un factor importante en el desarrollo de la artrosis es que la articulación de la cadera del perro soporta cargas mucho mayores que las del peso corporal (Kealy y col., 1977).

Se podría considerar la displasia de cadera como el resultado de un desafío entre las fuerzas de apoyo y la maduración del cartílago a hueso. Si el cartílago puede convertirse a hueso formando una cadera normal antes de que fuerzas anormales ejerzan su acción sobre la cadera será factible evitar la displasia. Sin embargo, si el modelo cartilaginoso sufre malformación previa a la conversión final a hueso, la articulación será displásica. Se ha sugerido que la demora en la osificación de la cabeza femoral conduce, a menudo, al desarrollo de la displasia de cadera en perros de edad más avanzada (Madsen y col., 1991; Todhunter y col., 1977).

Muchos han demostrado que la tasa de crecimiento en las razas de talla grande influye en el desarrollo de la cadera (Riser y col., 1967; Lust y col., 1973, 1985; Hedhammer y col., 1974; Kasstrom, 1975, Kealy y col., 1992). Una tasa de crecimiento lenta parece proveer la oportunidad para el desarrollo más rápido, como resultado de una dieta con mayor nivel energético, dará a lugar una mayor frecuencia de presentación de displasia. También se observó que en una rápida ganancia de peso causada por un incremento en la ingesta calórica, la enfermedad ocurrirá antes y con una mayor gravedad. Es importante considerar que un rápido crecimiento puede estar influenciado genéticamente, así como también por el nivel de energía en la dieta de un perro en particular. El nivel de energía en la dieta es lo que influye en el desarrollo de la displasia de cadera en las razas con predisposición genética y no un aspecto en particular de la formulación (Tvedten y col., 1977).

En un congreso sobre patología comparativa de artritis y reumatismo, Riser (1987) describió cómo Lent C. Johnson propuso que la displasia de cadera era una enfermedad biomecánica como resultado de una disparidad entre la masa muscular primaria y un rápido crecimiento esquelético. Propuso que una demora o falla para lograr el desarrollo muscular y para que este tejido alcance la madurez al mismo tiempo que el esqueleto, permitió que los componentes de la cadera (que dependen de las fuerzas musculares para la estabilidad) se separen, iniciando una serie de eventos que terminan en la displasia de cadera y la artrosis.

El músculo iliopsoas es uno de los más poderosos de todo el cuerpo. Los dos principales componentes son el ilíaco (se origina en la fosa ilíaca craneal y en el borde medial de la espina ilíaca craneal) y el psoas mayor (originado en las apófisis transversas de las vértebras lumbares y estructuras adyacentes). El músculo, es un solo vientre muscular, se inserta en el trocánter menor del fémur. Es el único músculo que se inserta en la columna vertebral lumbar, la pelvis y el fémur. Debido a que se oculta dentro del abdomen y la pelvis, recibe escasa atención. Parecería extraño si un músculo de tal envergadura y poder no tiene



una función importante y que no contribuya de manera sustancial con las alteraciones de la cadera. La longitud insuficiente del músculo iliopsoas, debido a la falla de acompañamiento con el desarrollo esquelético, causa una presión deletérea sobre la articulación de la cadera, incluyendo la cabeza femoral, el acetábulo y la capsula articular, provocado una subluxación.

El músculo pectíneo toma su origen en la pelvis y se inserta en la cara medial de la porción distal del fémur. Si este músculo no puede seguir el desarrollo del hueso y padece un acortamiento relativo, al empujar el fémur junto con el músculo iliopsoas causa la subluxación de la cabeza femoral (Bardens y Hardwick, 1968). Se ha interpretado la composición histológica anormal del músculo pectíneo en el perro joven como un indicador de que el crecimiento anormal del músculo causaría laxitud de la cadera y, de esta manera, sería una importante asociación o factor causal en el desarrollo de la displasia de cadera (Bowen y col., 1972). (Trigo T., 2011)

#### **4.1 Anatomía, desarrollo de la cadera y evidencia radiográfica.**

La anatomía macroscópica y radiográfica normal de la cadera del perro fue bien descrita (Rhodes y Jenny, 1960; Smith, 1963; Lawson 1963). El acetábulo está compuesto por cuatro huesos: ilion, isquion, pubis y hueso acetabular. Los tres grandes huesos pélvicos (ilion, pubis e isquion) se encuentran parcialmente osificados al nacimiento, mientras que la gran área triangular presente entre estos huesos se transformará en el hueso acetabular y comenzara a osificarse en las 6 a 8 semanas de vida. El hueso acetabular puede presentar más de un centro de osificación. El anillo acetabular permanece cartilaginoso hasta los 3 a y meses de edad. La porción dosocraneal del acetábulo puede tener un centro de osificación separado que se unirá más tarde con el ilion. Desde el punto de vista histológico, este anillo puede tener cambios similares a los vistos en la osteocondrosis. (Morgan J. et. al., 2001)

La cabeza femoral está formada por un solo centro de osificación que se forma sobre una base cartilaginosa y se ve solo parcialmente osificada a las 2 o 3 semanas de edad. El cierre de la placa de crecimiento se completa a los 9 meses de edad, con excepción de las razas gigantes en las cuales demora unos 2 a 3 meses más. La radiografía solo permite la evolución de las porciones osificadas del hueso hasta el tiempo de alcanzar la maduración esquelética. El momento de la presentación y subsecuente osificación de todos los centros depende de la raza y del individuo. (Hou Y. et. al., 2013)

La cadera es la única articulación en el perro que posee solo una superficie de apoyo sobre la cabeza femoral teniendo un apoyo horizontal incompleto. Es decir, el acetábulo no forma una cobertura completa sobre la cabeza femoral permitiendo, de esta manera, un escape o luxación más fácil hacia dorsal y lateral. (Morgan J. et. al., 2001)

El contorno de la cabeza femoral es liso, formando casi las dos terceras partes de una esfera y se une en forma pareja con el cuello femoral. La cabeza está cubierta por cartílago articular, excepto en la fosa y sobre un área medial en forma de cuña que se extiende hacia

distal desde la fosa hacia la placa de crecimiento fisaria y asume forma de herradura. Un defecto medial natural en el contorno de la cabeza se denomina fosa y representa el sitio de inserción del ligamento redondo de la cabeza femoral. Este defecto se visualiza en la radiografía según la posición del miembro posterior. La fosa se puede identificar en una radiografía en la cual los miembros son extendidos hacia caudal con un ligero grado de rotación externa, creando un aspecto de área aplanada sobre la cabeza femoral. En este tipo de radiografía, la fosa puede ser mal descrita como causante de un aplanamiento anormal de la cabeza femoral, habiéndose pensado que es una parte de la artrosis de la displasia de cadera. Este posicionamiento, a pesar de que no es apropiado por la evaluación de la displasia de cadera, suele aceptarse con este fin. Por lo general, la fosa no se ve si los miembros se colocan en la forma apropiada o si los miembros son parcialmente abducidos con rotación externa. En cualquiera de estas posiciones, la cabeza femoral tiene un aspecto redondeado. (Vilar J. et. al., 2014)

El acetábulo normal es una depresión profunda con la forma de una copa situada en la pelvis, con un prominente anillo en posición dorsocraneal y se forma por la unión de cuatro huesos:

1. Ilion en craneal.
2. Isquion en caudal
3. El pequeño hueso acetabular en la zona profunda de la cavidad acetabular.
4. Pubis, que juega un papel ínfimo sobre la porción ventral. (Rychel J. et. al., 2010)

El extremo abierto de la cavidad se dirige hacia lateral y ventral. La consecuencia de esto es una cobertura dorsal incompleta de la cabeza femoral. Debido al cartílago presente en estos huesos y a la posibilidad de ver solo la porción osificada del acetábulo, la profundidad acetabular no puede ser apreciada correctamente en una radiografía hasta los 5 meses de edad. Aun a esta edad, debido a que el borde o anillo acetabular no está osificado por completo, el acetábulo parece más abierto y no se ve como un copa, tal como aparecerá posteriormente. De esta manera, la evaluación radiográfica del acetábulo en el cachorro es limitada. En el adulto normal, el borde acetabular describe un círculo parcial que se interrumpe por la escotadura acetabular, localizada en ventral; esta es cruzada como un puente por el ligamento acetabular transverso. En la radiografía pélvica ventrodorsal, el borde craneal se ve como algo distintivo, como una línea curva que se extiende desde la escotadura acetabular (en medial y ventral) hacia el borde acetabular craneolateral (localizado en dorsal y craneal). El borde acetabular dorsal se ve proyectado a través de la cabeza y el cuello femorales. El borde acetabular caudal es corto y subdesarrollado. (Blank L. et. al., 2008)

La determinación de la profundidad acetabular en la radiografía es importante para la evaluación de las características de la cadera, porque esto permite la decisión acerca de cuán profundamente asienta la cabeza femoral dentro del acetábulo. La profundidad del acetábulo es algo difícil de determinar, aun en el adulto, ya que la parte más profunda de la cavidad (fosa acetabular) no está formada por hueso y por lo tanto es radiolúcida. Además, la detección de la verdadera profundidad depende de la posición del perro durante la radiografía ventrodorsal.

Con la oblicuidad pélvica, la cavidad acetabular parece más profunda, mientras que el otro acetábulo parece más superficial según la siguiente regla: la mitad de la pelvis asociada con el orificio obturador más pequeño presentará la cavidad acetabular más superficial, mientras que la mitad de la pelvis con el orificio obturador más grande tendrá la cavidad acetabular más profunda. (Morgan J. et. al., 2001)

La forma en la cual la cabeza femoral asienta dentro de la cavidad acetabular determina la calidad de la articulación de la cadera. En la radiografía ventrodorsal convencional, realizada en decúbito dorsal con los miembros extendidos, el centro de la cabeza se localiza medial a la línea que se extiende, paralela a la columna vertebral, hacia caudal desde el ángulo craneodorsal del acetábulo. (Marx C. et. al., 2014)

Otro método para evaluar la correlación entre la cabeza femoral y el acetábulo es medir el ángulo creado por la intersección de la líneas que se extiende entre el centro de ambas cabezas femorales y la línea que se extiende entre el centro de ambas cabezas femorales y la línea que se extiende hacia craneal desde el dentro de la cabeza femoral hasta el ángulo craneodorsal. El ángulo que se forma hacia medial es denominado de Norberg y en el perro normal éste será de 105° o mas (Norberg 1961). Este ángulo se midió originalmente en radiografías obtenidas con los miembros en posición de rana, en la cual la cabeza femoral será, probablemente, forzada hacia la profundidad del acetábulo. Hoy, este ángulo se mide en radiografías con los miembros extendidos en las que la posición de la cabeza femoral es más cuestionable. El ángulo se mide más apropiadamente después de la maduración esquelética, porque el ángulo disminuye en forma artificial en los cachorros inmaduros debido a la falta de osificación del borde acetabular dorsal. (Vilar J. et. al., 2014)

La medición está muy influenciada por la posición de la cabeza femoral dentro del acetábulo. Esto puede variar dependiendo de cómo se sujeten los miembros. La oblicuidad pélvica causa que la cabeza femoral parezca asentada más profundamente dentro del acetábulo, generando un menor ángulo de Norberg y dando lugar a una interpretación más normal. La osificación acetabular incompleta, característica que depende de la edad, da lugar a la medición de un menor ángulo. Los cambios en el borde acetabular pueden artificialmente aumentar o disminuir la medición del ángulo. De esta manera, se puede llegar a una evaluación errónea según la posición pélvica o la edad del animal. La determinación de un índice de distracción precoz ha mostrado una mejor correlación con el subsecuente desarrollo de artrosis, en comparación con el ángulo de Norberg (Smith y col., 1993).

La naturaleza del espacio articular sólo puede ser estimada en las radiografías debido a que el cartílago articular es radiolúcido. Una estimación de la congruencia articular se puede realizar entre el arco formado por el borde acetabular y el arco del borde de la cabeza femoral son congruentes uno con el otro, sobre un arco de 60° aproximadamente. En consecuencia, las presiones de carga se distribuyen sobre un área más grande causando uniformidad en la densidad radiográfica del hueso subcondral subyacente a este arco. A medida que la cabeza femoral se luxa hacia lateral, el tamaño del arco de la congruencia disminuye hasta constituir

sólo un punto de contacto, y la densidad del hueso subcondral en este sitio esta significativamente aumentada. (Rychel J. et. al., 2010)

Durante la maduración esquelética del cuello femoral, un labio de cartílago epifisario se extiende desde el centro de osificación de la cabeza junto a la cara dorsal del cuello femoral hacia distal, al centro de osificación del trocánter mayor. La osificación del labio del cartílago comienza a partir de ambos centros y avanza hasta que se articula en el centro. En ocasiones, el puente de osificación se une al subyacente del cuello femoral, creando un cuello femoral con un borde liso entre la cabeza y la región trocantérica del fémur. La unión de estos dos labios de hueso entre sí y con el cuello femoral, creando un cuello femoral se produce a los 6 meses y esto causa un engrosamiento del cuello femoral en la radiografía de un perro adulto. Las radiografías hechas en animales jóvenes antes del cierre fisario presentan un aspecto rugoso sobre el dorso del cuello femoral, que puede ser malinterpretado como una remodelación ósea secundaria. (Trigo T. 2011)

El trocánter mayor se ubica en lateral de la porción proximal del fémur y está constituido por hueso trabecular denso. Los músculos glúteos se insertan en el trocánter, con el glúteo medio insertándose por dorsal, el glúteo profundo ubicado algo hacia craneal y el glúteo superficial más hacia distal. La función de los músculos y el iliopsoas es, principalmente, la extensión de la cadera mientras que la función de la pequeña asociación pélvica es la rotación externa del húmero. Ninguno de estos grupos contribuye con la estabilidad lateral de la cadera y de esta manera parece, como se pensaba, que la cápsula articular y ligamento redondo de la cabeza femoral son los que tienen el principal papel en el mantenimiento de la estabilidad articular, tanto en las caderas normales como en las displásicas. Las razas influyen sobre las diferencias en la morfología del trocánter mayor. La profunda fosa trocantérica se encuentra entre el cuello femoral y el trocánter mayor, caudal al puente óseo conector. (Morgan J. et. al. 2001)

#### **4.2 Razas Afectadas.**

La displasia de cadera se ha identificado en la mayoría de las razas caninas (Larsen y Corley, 1972; Corley, 1983; Corley y Hogan, 1985). Sin embargo, tiende a ocurrir con mayor frecuencia en las razas de talla grande y con crecimiento rápido. Se presenta, aunque rara vez produciendo un problema clínico, en perros cuyo peso adulto está por debajo de los 12kg, en especial aquellos con miembros cortos. Si se presenta en estos perros, es subdetectada debido a la ausencia de signos clínicos. (Hou Y. et. al., 2013)

El San Bernardo tiene un mayor riesgo de displasia, mientras que el Collie parece ser el único perro grande sin riesgo significativo (Priester y Mulvihill, 1972). La frecuencia de displasia en el San Bernardo fue, según la OFA, del 47.4% en los Estados Unidos (Corley y Hogan, 1985; Corley, 1987). La OFA ha informado otras 24 razas con una incidencia de displasia superior al 20%. Los Greyhounds y otras razas "hound" tienen una frecuencia baja y esto es factible debido a la gran presión de selección para la velocidad. A pesar de que la frecuencia por raza parece estar influenciada por el uso esperado para el perro, esto no siempre es así. Un perro de trabajo (Pastor yugoeslavo, Sarplaninac) fue criado selectivamente para ser un

perro pastor y tiene una frecuencia de presentación de displasia de cadera del 25%. (Rychel J. et. al., 2010)

Mientras la mayoría piensa que la displasia de cadera se da en perros puros, es importante comprender que la enfermedad también existe en las cruas. La mayoría de los investigadores mencionan que la displasia de cadera se desarrolla en razas de perros en las que el hombre ha estado involucrado en la selección de apareamiento. (Morgan J. et. al., 2001)

Estudios mucho más recientes (2013) muestran una mejora en la variación genética exhibida entre razas. Algunas razas presentan mejoramiento genético constante como Akita, Braco Alemán, Labrador Retriever, Husky Siberiano, y Weimaraner. Sin embargo y pese a esto, algunas razas no mostraron ninguna mejora, como Basenji, Bloodhound, Curly-Coated Retriever y el Boxer, mientras que el San Bernardo mostró deterioro de la calidad genética de la cadera. (Hou Y. et. al., 2013)

### **4.3 Prevalencia de la displasia de cadera.**

La displasia de cadera canina (HD) es un trastorno de la articulación del desarrollo heredable. La característica de malformación conduce a la osteoartritis, con la manifestación clínica como claudicación o alteración de la marcha que empeora con la edad. Debido a que la osteoartritis causada por HD es incurable y progresiva, es cada vez más importante mejorar la conformación conjunta de la cadera y por lo tanto reducir la incidencia de la artrosis en esta articulación a través de la cría selectiva. (Hou Y. et al., 2013)

La información general en relación con la distribución de la displasia de cadera en el mundo se puede obtener dirigiéndose a un informe sobre el control de la enfermedad realizado en Suiza con información de los pasados 24 años, donde el 42% de todos los perros de razas puras permanecen afectados a pesar de los programas de control en los últimos 30 años (Fluckiger y col., 1995). Se sugiere que el apareamiento de los perros displásicos y la falla para estudiar el estado de la progenie en la selección del plantel reproductivo son los responsables de la falta de progreso. La frecuencia de displasia disminuyó: 1) en Pastores alemanes, del 35 al 21%, 2) en el Rottweiler, del 36 al 18% y 3) en el Labrador retriever, del 25 al 15%. En el San Bernardo, por otro lado, la frecuencia de displasia permaneció cerca del 60% a través de todo este periodo (Swenson, 1987; Swenson y col, 1997). La prevalencia depende del sexo, siendo la displasia de cadera significativamente más frecuente en la hembra que en el macho en el Pastor alemán, el Golden retriever y en el San Bernardo (Henricson y Olsson, 1959; Hedhammar y col., 1979; Swenson y col., 1997). Esta diferencia relacionada con el sexo se podría explicar por medio del efecto directo de genes sobre los cromosomas sexuales. Sin embargo, una explicación más apta estaría en relación con las características sexuales, tales como diferencia en la tasa de crecimiento, hormonas sexuales o patrones de conducta. (Contran R. et al., 2000)

Datos más recientes indican que hay una población canina que se estima en 60-70 millones de mascota en los hogares estadounidenses. La prevalencia de la displasia de cadera, según las estimaciones de la Fundación ortopédica para los animales (OFA), varió ampliamente del 1 al 75 por ciento. La OFA estableció un registro voluntario para certificar perros basados en sus conformaciones de cadera, con el fin de proporcionar criterios de selección y los principios de cría para los criadores de perros y propietarios para reducir la aparición de la displasia de cadera heredada y artrosis secundaria en los perros. Los radiólogos asignados por la OFA evalúan la conformación de la cadera sobre la base de la radiografía pélvica (cadera-extendida ventrodorsal) recomendado por la Asociación Americana de Medicina Veterinaria (AVMA). A finales de 2010, había 1.066.596 registros de las 329 razas registradas en la base de datos pública de la OFA. (Hou Y. et al., 2013)

Este estudio arrojo como resultado que desde 1974, el número de perros afectados en la conformación de la cadera, evaluados por la OFA, aumentó continuamente cada año. La cantidad de afecciones alcanzó su punto máximo en 1997. Sin embargo, en base a lo obtenido a partir de éste año, la prevalencia de esta afección ha disminuido, es decir, de más de 32 500 casos registrados en 1997, se observó un aproximado de poco menos de 25 000 casos diagnosticados en el 2009. Las incidencias de alta definición en las 74 razas oscilaron entre 0.07% y 6%, con Boykin Spaniel y San Bernardo que tiene las mayores incidencias, y Siberian Husky y afgano, con incidencias más bajas. (Keller G. et al., 2011)

En promedio, se encontró una mejora genética limitada en las puntuaciones de cadera 1970-2009 en las 74 razas, lo que indica una tendencia general para el alivio de la displasia de cadera. El estudio también muestra que hubo un mejoramiento genético lo que disminuye los casos relacionados con esta enfermedad. Es importante destacar que en este estudio, las mejoras genéticas para la displasia de cadera se subestimaron en cierta medida debido a los parámetros de notificación de OFA. No había ningún registro de osteoartritis u osteocondritis disecante (con un valor alto) reportado en los primeros 15 años, y el número de registros artrósicos aumentó continuamente en los últimos diez años. También, como los fenotipos se recogieron en todo el país, había muchas fuentes de variación, por ejemplo, raza, edad, sexo y otros factores del entorno. El fenotipo reportado no representaba una tendencia estable en los últimos 40 años. Sin embargo, mediante el uso de un modelo mixto, que tuvo todos los factores ambientales en cuenta vinculados a los perros reportado recientemente y la que informó hace 40 años, se logró juntar los linajes raciales. (Hou Y. et al., 2013)

#### **4.4 Signos Clínicos.**

El diagnóstico de displasia de cadera se basa, principalmente en:

- Historia del propietario, reporta anormalidad de la marcha, patrón de conducta, dolor percibido en las caderas.
- Hallazgos clínicos.
- Diagnostico radiográfico.

Aun cuando los signos clínicos estén presentes, es difícil predecir el curso de la enfermedad. Estos signos también varían mucho según la edad del animal. Los estadios clínicos de la displasia de cadera son:

1. Estadio del cachorro.

La marcha puede variar y podemos tener alteración de la marcha, con dolor o sin dolor o bien la marcha puede ser clínicamente normal.

2. Síndrome del preadolescente.

Se observa dolor articular agudo e inestabilidad articular.

3. Paciente joven.

Se observa dolor articular e inestabilidad articular.

4. Paciente adulto joven.

Se observa enfermedad articular, con artrosis e inestabilidad articular.  
La articulación mucho menos dolorosa.

5. Paciente adulto con artrosis.

Se observa una marcha alterada  
Presencia de dolor articular crónico.

El diagnóstico radiográfico es de menor valor en el cachorro y en el preadolescente debido a la osificación incompleta de los huesos. De esta manera, a esta edad el examen físico tiene mayor importancia diagnóstica. Más adelante, en el perro joven (>6 meses de edad) la radiografía gana importancia diagnóstica. El estrés radiográfico puede ser de ayuda en el diagnóstico en el perro joven. (Morgan J. et al., 2001)

En *cachorros*, el dolor en la palpación de las caderas o mientras camina es una característica observada, pero solo en unos pocos cachorros durante los primeros meses de vida. Sin embargo, existen algunos otros signos clínicos observados en cachorros con displasia de cadera. A la marcha pueden mostrar debilidad en los miembros posteriores así como tambaleo mientras camina, salto de conejo en lugar de trotar y puede pararse con los miembros posteriores muy juntos. Si el cachorro se encuentra en actividad física, se puede observar que este prefiere sentarse evitando el movimiento o también correr distancias cortas y luego sentarse. (Blank L. et al., 2008)

A los 3 o 4 meses de edad, el cachorro afectado, cuando se lo observa desde atrás puede parecer ancho de la cadera, pero hundido en el muslo y la rodilla debido a la falta de desarrollo muscular. Cuando se para, los miembros posteriores pueden estar juntos o hasta cruzarlos. En el estadio "libre de dolor" de esta enfermedad articular, se pueden presentar sinovitis no supurativa leve, aumento del volumen del líquido sinovial, aumento de tamaño del ligamento redondo de la cabeza femoral y lesiones degenerativas focales en el cartílago

articular. Mientras, el perro sin dolor presenta cambios patológicos precoces dentro de la articulación. Los signos se presentan durante el estadio agudo de la enfermedad cuando el perro tiene aproximadamente 6 meses de edad. En una marcha algo más rápida que el paso, el animal tiene tendencia a una marcha a saltos utilizando ambos miembros posteriores hacia delante en forma simultánea “marcha de conejo”. Algunas razas gigantes como el Newfoundland y el San Bernardo pueden extender el largo del paso por una hiperextensión adicional del tarso para limitar el rango de movimiento requerido por la cadera en estadio doloroso, pareciendo que el perro está débil de talones. Cuando esto se observa en ambos miembros es indicativo de una enfermedad bilateral. (Keller G. et al., 2011)

En el paciente joven previo al desarrollo de una artrosis importante, la laxitud articular puede sentirse. En la articulación afectada, la cabeza femoral se mueve hacia adentro y afuera del acetábulo. Los perros afectados muestran falta de desarrollo muscular de los miembros pélvicos, mientras que la musculatura de los miembros torácicos está bien desarrollada debido al mayor estrés proel desviamiento del peso hacia delante. (Marx C. et al., 2014)

En el *preadolescente* (juvenil), muchos cachorros tienen un rápido pico de crecimiento entre los 4 y los 6 meses de edad, con aumento de peso. Además, la actividad física está muy aumentada. El dolor puede ser evidente al levantarse, al subir o al saltar y el perro puede rechazar la palpación y hasta las caricias en los miembros posteriores. De hecho, puede estar tan dolorido que tenga dificultades para levantarse y al querer echarse se “tira” hacia abajo en lugar de ir agachándose gradualmente. (Hou Y. et al., 2013)

Estos hallazgos clínicos son el resultado de los cambios que ocurren en el cartílago del borde acetabular. El borde acetabular es redondeado como resultado de la demora en la condrogénesis y osteogénesis. La sobrecarga de fuerzas sobre el anillo acetabular demora la conversión de fibrocartilago a cartilago hialino y luego a hueso. El dolor, manifestado por gritos ante el movimiento del miembro durante la palpación, es probable que se deba al daño precoz dentro del borde acetabular. Esto es el resultado de estrés repetido por una cabeza femoral asentada con tal laxitud que excede los límites elásticos del hueso y el cartilago. En este momento pueden ocurrir microfracturas productoras de dolor dentro del borde acetabular, haciendo que el cachorro manifieste dolor de presentación súbita. El dolor demostrado por la claudicación también puede deberse al estrés anormal ejercido sobre los tejidos blandos de la cadera como la cápsula articular y ligamento redondo de la cabeza femoral. (Vilar J. et al., 2014)

Cuando se detecta laxitud, ya sea en un cachorro despierto o en uno sedado, su importancia es, con frecuencia, cuestionable. Esto puede ser: 1) una laxitud articular verdadera y con importancia clínica, 2) laxitud forzada o 3) laxitud no detectada debido a la delicadeza del examinador. En el paciente joven con displasia de cadera que tiene entre 6 a 12 meses de edad, la laxitud articular puede reconocerse por radiografías o palpación. Las radiografías pueden incluir técnicas en posición estándar neutra y en estrés para determinar mejor la extensión del movimiento de la cabeza femoral dentro del acetábulo. Si se utiliza solo la técnica radiográfica con posición neutra, la laxitud articular puede no ser detectada, siendo necesaria la palpación de las articulaciones para lograr un examen completo de las caderas. El dolor puede



variar desde grave a casi inexistente. Es factible que a esta edad, la crepitación, como un indicador de artrosis, aún no esté presente. La marcha permanece, esencialmente, tal como se la ve en el cachorro joven, con el salto de conejo, el bamboleo pélvico y la disminución de la extensión del movimiento de cadera. (Morgan J. et al., 2001)

En la medida que el cachorro tiene más edad, es posible que otras enfermedades puedan causar signos clínicos similares. Estas incluyen a traumas pélvicos y en la cadera, y una enfermedad ósea generalizada vista con frecuencia en los perros adultos jóvenes: la panosteítis. Esta enfermedad inflamatoria causa inflamación del periostio que cubre al hueso de forma tal que cuando se toman los huesos largos para el examen de la cadera se puede provocar dolor y creer erróneamente que se origina en la cadera. La infección de esta articulación podría causar signos clínicos similares, pero esto es una causa poco frecuente en cachorros. Es factible que estas enfermedades se presenten en el paciente con caderas normales y causen signos clínicos similares a los observados en la displasia de cadera. El diagnóstico diferencial para el inicio súbito de una claudicación en el miembro posterior en los que se piensa que un perro es normal o un incremento en el grado de claudicación en un perro con signos clínicos previos de displasia de cadera son:

1. En un paciente joven
  - Panosteítis (frecuente)
  - Ruptura del ligamento cruzado craneal (poco frecuente)
  
2. En un paciente adulto.
  - Ruptura del ligamento cruzado craneal (frecuente)
  - Miopatía idiopática del Pastor Alemán (frecuente)
  - Síndrome de la cauda equina o hernia discal en la región lumbar (frecuente)
  - Enfermedad del disco lumbosacro (frecuente)
  - Infección aguda en una de las caderas (poco frecuente)
  - Neoplasias óseas o de tejidos blandos (poco frecuentes)
  - Panosteítis (poco frecuente). (Blank L. et al., 2008)

Los signos clínicos en un paciente adulto son el resultado de una artrosis dolorosa en la cadera y tienen naturaleza crónica. Pueden aparecer en forma súbita y probablemente se deben a traumas sobre los tejidos blandos con una exacerbación aguda de la sinovitis existente no evidenciada en el perro en reposo. El perro puede evidenciar rigidez de los miembros después de periodos de reposo. Persiste la marcha de conejo. El perro adulto permanece en reposo y con el paso del tiempo puede observarse atrofia muscular en los muslos debido a que el dolor provoca restricción de uso. (Guercio A. et al., 2012)

Patrón frecuente de signos clínicos en el curso de la displasia de cadera.

#### 1. Dolor

- a) A menudo, el animal está libre de dolor hasta los 5 a 6 meses de edad.
  - b) Se desarrolla dolor agudo a los 6 meses de edad.
  - c) Rango de movimiento del miembro pélvico disminuido pero aceptable.
  - d) Aumenta la molestia, en especial cuando se levanta o hace ejercicio a los 6 a 7 años de edad.
  - e) La mayoría de los movimientos de la cadera provocan dolor cuando el animal tiene más de 8 años.
2. Marcha anormal persistente durante toda la vida adulta.
- a) "Salto de conejo"
  - b) Bamboleo pélvico.
  - c) Disminución de la extensión de la cadera; dificultad para saltar y dificultad para subir escaleras.
  - d) Marcha alterada.
3. Inestabilidad Articular.
- a) Inestabilidad articular visible o palpable hasta los 12 a 18 meses de edad.
  - b) La articulación se vuelve más estable con el inicio de la artrosis.
4. Artrosis.
- a) Comienza lentamente durante el primer año.
  - b) Radiográficamente se evidencia después de los 12 meses de edad.
  - c) Marca la desaparición de la fase aguda de dolor.
  - d) Provoca una articulación más estable. (Morgan J. et al., 2001)

#### **4.5. EXAMEN FISICO.**

La revisión del paciente en decúbito lateral es más sencilla para éste y para el médico. El examen puede efectuarse con el paciente despierto, sedado o anestesiado. Al examinar un paciente despierto, la tensión muscular puede ser fuerte impidiendo de este modo la detección de dolor o el movimiento normal de la articulación. Si el paciente esta sedado, se obtiene una mayor relajación muscular y el examen puede efectuarse con mayor seguridad. El dolor se pierde bajo anestesia. Quizás el mejor método para llevar a cabo el examen sea con el perro despierto, ya sea en estación o en decúbito lateral, y luego terminar el examen con el perro anestesiado para efectuar la radiografía pélvica. (Blank L. et al., 2007)

La palpación durante el examen físico permite la determinación del rango de movimiento de la cadera, la detección del dolor y la crepitación. La articulación puede ser examinada forzando el miembro a los movimientos de: 1) extensión y flexión, 2) abducción y aducción y 3) rotación interna y externa. Durante el movimiento del miembro, se puede percibir la crepitación o la sensación de un movimiento tosco de las superficies de cartílagos articulares. Ambas situaciones indican una articulación con daño en el cartílago articular. Es necesario observar el

rango de movimiento; cualquier limitación indicaría engrosamiento de la cápsula articular. Sin embargo, en el perro despierto, la limitación se puede deber a dolor. Los movimientos específicos de los miembros posteriores permiten una evaluación de la inestabilidad articular. Al evaluar la cadera del paciente, es necesario: 1) evitar movimientos de rodilla que podría tener una enfermedad de ligamento cruzado craneal, 2) evitar tomar el fémur que podría ser doloroso debido a la presencia de panosteítis, 3) evitar excesivos movimientos de la articulación lumbosacra debido a dolor de la enfermedad del disco lumbosacro y 4) evitar presionar hacia abajo sobre el dorso o la pelvis en el perro en estación, ya que puede provocar dolor originado en la región lumbosacra, las caderas o las rodillas. (Marx C. et al., 2014)

La *laxitud articular* es un indicador en la displasia de cadera. Se dispone de dos métodos para la detección de ésta: la palpación y la radiografía. La laxitud articular en algunos pacientes puede ser ocultada en las radiografías de rutina al pretender colar los miembros del paciente en posición y realizar rotación externa del miembro, de forma tal que la cabeza femoral se ubique dentro del acetábulo. (Rychel J., 2010)

Con respecto a la palpación, podría presentarse el problema de que la hembra en celo presenta una mayor laxitud articular. Con características temporales y no sería un verdadero reflejo del estado de la cadera. Las fluctuaciones importantes de estrógeno y progesterona se producen a todo lo largo de las fases del ciclo estral. Los niveles altos de estrógeno (estradiol-17) se presentan durante el proestro, mientras que los niveles de progesterona están elevados en el diestro lo que produce un grado de laxitud fisiológica. Es probable que la radiografía de estrés realizada bajo anestesia sea la técnica con mayor valor diagnóstico. (Vilar J. et al., 2014)

Aun con la detección positiva de la inestabilidad articular, es necesario establecer el grado de laxitud más allá de la cual se logra importancia clínica. Las dificultades se encuentran en el área de la determinación del rango de laxitud normal y si este rango varía con la edad y con la raza del cachorro o quizá con el desarrollo muscular. Cuanto más viejo es el paciente, más fácil es aceptar los hallazgos de laxitud articular como anormal e indicativo de displasia de cadera. (Hou Y. et al., 2013)

En general, se mantiene el acuerdo que la laxitud de la cadera de los cachorros determinada por medio de la palpación, la técnica de la cuna o los estudios por compresión/distracción presenta una correlación positiva con la evidencia radiográfica del desarrollo de artrosis en los adultos. Esto da un fuerte apoyo al concepto de que la laxitud articular es un indicador de displasia. (Morgan J. et al., 2001)

La *Técnica de Bardens*. Se realiza con el paciente anestesiado colocado en decúbito lateral con la pelvis en ángulo recto a la mesa. Con el acetábulo superpuesto, el fémur a estudiar queda hacia arriba, en ángulo recto con la columna, y paralelo a la mesa. El pulgar es colocado sobre la tuberosidad isquiática y el dedo medio en el ala del ilion para mantener con firmeza la pelvis en posición. El índice es colocado sobre la cara lateral del trocánter mayor para detectar el movimiento hacia arriba. Se toma el tercio medio del fémur con la otra mano y se lo fuerza hacia arriba. En la articulación normal, el dedo índice sobre el trocánter mayor

deber permanecer estable, mientras que la elevación del índice indica desplazamiento lateral de la cabeza femoral y, de esta manera, laxitud articular. (Blank L. et. al., 2008)

Una segunda técnica para estudiar las características de la cadera evalúa el rango de abducción del miembro posterior. Este método requiere que el paciente sea colocado en decúbito dorsal con ambos fémures posicionados en forma perpendicular a la columna vertebral. Luego, se permite que ambos fémures caigan hacia lateral (en abducción). En el cachorro normal, el extremo distal del fémur cae hasta un punto aproximado al ancho de un dedo de la mesa. Se pensó que el no poder alcanzar este grado de movimiento lateral se debía a rigidez del musculo pectíneo y se registraba como anormal. En el Gran danés, la abducción de los miembros posteriores es más limitada. (Vilar J. et. al., 2014)

La *Técnica de Ortolani*, es otro método de detección de laxitud articular es provocar el signo de Ortolani. Durante la palpación de una cadera normal, la cabeza femoral permanece dentro del acetábulo y no hay un signo externo que indique laxitud articular. El signo de Ortolani positivo es generado en la articulación displásica en la medida que la cabeza femoral es forzada a una subluxación dorsal y luego retorna dentro del acetábulo. La presencia de este signo es un indicador de luxación de la cabeza femoral y es aceptado como un signo de displasia. Es una técnica segura para usar en perros después de la osificación del anillo acetabular. (Morgan J. et. al., 2001) Esta maniobra es más fácil de realiza con el perro en decúbito dorsal, con el fémur perpendicular a la mesa. Pone a los miembros en posición que permite demostrar cualquier desplazamiento de la cabeza femoral. Con una mano colocada alrededor de la rodilla flexionada, el fémur es aducido y se aplica presión contra la rodilla, en dirección a la mesa. Esto produce que la cabeza femoral salga del acetábulo en una articulación con laxitud normal. En algunas caderas se puede percibir el “deslizamiento” de la cabeza femoral. Luego, se abduce el fémur y se percibe la sensación de “salto” o un “click” en el momento en que la cabeza femoral retorna hacia el acetábulo en el paciente afectado. Si la cabeza femoral se desliza sobre el sector posterior del labio acetabular y regresa en forma inmediata, esta sensación es indicativa de una cadera inestable. Esto fue llamado signo de Barlow. (Blank L. et. al., 2008)

#### **4.6 Incidencias radiográficas.**

Varias son las posiciones del paciente utilizadas para la evaluación radiográfica de la displasia de cadera. La correcta posición radiográfica es más importante cuando el diagnóstico se basa en su totalidad en la presencia de laxitud articular. En el paciente con cambios óseos secundarios, la posición apropiada no es tan requerida porque el diagnóstico se basa en los cambios óseos obvios cuya detección no depende del posicionamiento perfecto del animal. Sin embargo, ya que le estado de la cadera no se conoce previo al examen, en todos los estudios se buscara lograr el mejor posicionamiento posible. (Morgan J. et. al., 2001)

La posición con mayor frecuencia utilizada en los Estados Unidos es la *ventrodorsal*. El paciente se coloca sobre su dorso con la pelvis en posición simétrica. Los fémures se encuentran extendidos por completo hacia caudal, quedando paralelos uno con otro y tan cerca de la mesa como sea posible (casi 30°), con las rodillas en rotación medial de forma tal que las

rótulas son posicionadas en el centro de la línea media del miembro. Con esta posición, el canal pélvico parece redondo u oval simétrico, las alas del ilion con igual ancho, los orificios obturadores de igual tamaño y las articulaciones sacroilíacas con aspecto similar. El correcto grado de rotación interna de los miembros, la aducción de los fémures y la extensión de los miembros es importante para la obtención de una incidencia diagnóstica de la cabeza y cuello femoral. La colocación del miembro con rotación externa hace que el trocánter mayor se superponga por completo con el cuello femoral, el que aparece artificialmente más corto. Como resultado, los cambios precoces de artrosis, tales como la formación de entesofitos en el cuello femoral o el engrosamiento de este no son observados como así tampoco se podrá identificar la deformación en varo o valgo. La abducción de los miembros fuerza a las cabezas femorales hacia dentro del acetábulo y la radiografía no expresará las verdaderas características de la cadera. (Vilar J. et. al., 2014)

La posición *ventrodorsal en "posición de rana"*. La correcta posición de la pelvis se logra con facilidad, colocando al paciente en decúbito dorsal con los miembros posteriores flexionados al máximo y abducidos de forma tal que las rodillas queden a unos 30 a 40 cm de la mesa. Los tarsos son separados. La igual posición de los pies evita la rotación de la pelvis y asegura que las dos mitades de la pelvis aparezcan simétricas. Esta posición permite una excelente evaluación de la cabeza y el cuello femoral y la detección precoz de la formación de entesofitos sobre la cara caudal del cuello femoral, el ángulo craneodorsal del acetábulo y el borde acetabular dorsal. Estas son regiones anatómicas difíciles de evaluar en las radiografías ventrodorsales convencionales con los miembros extendidos, en especial cuando los miembros presentan rotación externa. La posición de rana se utiliza principalmente para la detección de cambios óseos precoces y a menudo es usada en forma conjunta con la incidencia ventrodorsal convencional. Ya que esta posición tiende a forzar la cabeza femoral dentro del acetábulo, puede ocultar una subluxación mínima en perros jóvenes. Sin embargo, es probable que la posición de los miembros este muy cercana a la posición neutral. Por lo tanto, cualquier sugerencia de laxitud articular identificada en esta posición debe ser considerada como evidencia positiva de displasia de cadera. (Marx C. et. al., 2014)

La incidencia *ventrodorsal con cuña* es otra técnica utilizada para la evaluación de la cadera y ha sido descrita principalmente para detectar laxitud articular mínima. Cualquier laxitud articular producida con el miembro en extensión en una articulación en la cual dicho miembro está en una posición en la que la cabeza femoral es forzada dentro del acetábulo constituye una evidencia positiva de displasia de cadera. El dispositivo utilizado como cuña puede ser cualquier objeto sólido que sea posible colocar en forma conveniente entre las extremidades distales de los fémures intentando desplazarlos hacia lateral. La colocación de la cuña entre los miembros y la realización de fuerza sobre ambos pies causa ciertas dificultades para mantener la posición simétrica de los miembros y la pelvis. La rotación externa de los miembros posteriores es difícil de evitar y se requiere un esfuerzo en la concentración para mantener la rotación interna de los miembros de forma tan que la patela se mantenga en una posición centrada. (Blank L. et. al., 2008)

El uso de esta técnica o un examen físico para detectar laxitud articular tiene gran importancia en la evaluación de las caderas de los perros jóvenes, ya que a mayor edad la detección de los cambios óseos secundarios reemplaza la detección de la laxitud articular en el diagnóstico de displasia. (Cotran R. et. al., 2000)

La *incidencia de Badertscher*. Otra modificación estándar colocó al paciente en decúbito dorsal, pero los miembros estaban en una posición ligeramente más anatómica y fue utilizado un tipo de cuña. Los fémures, paralelos uno a otro, son flexionados a 60° respecto a la camilla y la tibias son mantenidas paralelas una a otra y con la mesa. Con la cuña colocada entre los muslos, se ejerce una fuerza dirigida hacia medial sobre los pies causando que las cabezas femorales se desplacen hacia lateral en un perro afectado. Cualquier estructura de tejidos blandos que provea un soporte extraarticular se encuentra más relajada con los fémures en esta posición, pudiendo detectar con mayor facilidad una sutil laxitud articular. (Morgan J. et. al., 2001)

La *incidencia de Flückinger*. Una técnica creada más recientemente utiliza la posición de relajación de los miembros posteriores recién descrita. El paciente es colocado en decúbito dorsal en una cuña de "Styrofoam" con los fémures a 60° de la mesa. Las rodillas son aducidas y las tibias se utilizan como palancas haciendo fuerza hacia craneodorsal (hacia la mesa) en el momento de la exposición radiográfica. Con las rodillas dirigidas hacia medial, las cabezas femorales se desplazan en una dirección craneodorsal y lateral en el perro displásico. La posición es similar a la utilizada para ejecutar la maniobra de Ortolani y produce un desplazamiento similar de la cabeza femoral en las articulaciones con laxitud. La técnica radiográfica necesita ser incrementada en un 30% debido a un aumento en el espesor del tejido muscular como resultado de la posición especial de los miembros. La posición de la cabeza femoral se puede comparar con la posición observada en la radiografía hecha sin ninguna fuerza dirigida hacia la mesa o con las de las radiografías realizadas utilizando una posición ventrodorsal más estándar. (Trigo T. 2011)

Las *incidencias con compresión- distracción*. El método requiere que el cachorro esté bajo sedación profunda o anestesia general y usa dos incidencias realizadas con el perro en decúbito dorsal y las caderas en un ángulo de extensión/ flexión neutral. Una incidencia se realiza utilizando un dispositivo de compresión que empuja las cabezas femorales hacia la profundidad del acetábulo, y en la segunda incidencia se utiliza un dispositivo de distracción que tracciona a las cabezas femorales sacándolas del acetábulo. El dispositivo distractor se coloca entre las piernas a un nivel ventral a la pelvis y crea un máximo desplazamiento lateral de las cabezas femorales. El nuevo método de medición utiliza un índice de distracción que varía de 0 a 1, siendo 0 un equivalente a una congruencia completa tal como se ve en la compresión y 1 representa a la laxitud articular más extrema, tal como podría ser visto ante la distracción de la cabeza femoral. El índice de distracción es una escala de relación, significando que una cadera con un índice de 0.6 tiene el doble de laxitud que una cadera de 0.3. (Blank L. et. al., 2008)

En las radiografías de cadera hechas durante la distracción se puede identificar un problema en particular. Esto es una cavitación de líquido sinovial, que a pesar de ser poco frecuente cuando está presente aumenta el índice de distracción. La cavitación, o el signo de vacío, es el resultado de una baja presión intracapsular y representa un cúmulo de nitrógeno dentro del espacio articular. Debido a la más baja densidad tisular, el gas causa un contraste radiográfico con la superficie articular. (Rychel J. et. al., 2010)

La *incidencia del borde acetabular dorsal*. Se ha descrito una incidencia radiográfica para observar el borde acetabular dorsal, con lo que se propone lograr una evaluación más apropiada de la posición de apoyo del acetábulo. Con el paciente en decúbito esternal, se vuelcan los fémures hacia craneal hasta quedar paralelos con el eje longitudinal del cuerpo, donde son mantenidos en posición por cualquier dispositivo de sujeción. Esto deja a la pelvis basculando sobre la mesa, buscando que la primera quede perpendicular a la segunda. El haz de rayos es dirigido en forma vertical apuntando, de esta manera, al borde dorsal del acetábulo pudiendo determinar el ángulo de este borde con la radiografía resultante. En un paciente normal, el borde acetabular dorsal es agudo y con un ángulo de inclinación promedio de  $13.5^{\circ}$  ( $\pm 3^{\circ}$ ) mientras que en el grupo de los perros displásicos el ángulo de inclinación del mismo es de un promedio de  $26.3^{\circ}$  ( $\pm 13.4^{\circ}$ ). Con la frecuente subluxación, el borde acetabular dorsal se vuelve redondeado, se produce el llenado acetabular y se observa la formación de osteofitos dorsales. En el caso en que el paciente tenga cambios secundarios que hayan alterado de manera significativa el ángulo de inclinación, no es necesario realizar una incidencia radiográfica especial para el diagnóstico. (Vilar J. et. al., 2014)

#### **4.7 Diagnóstico Radiográfico.**

La radiografía continua jugando un papel importante en el diagnóstico de displasia debido a que constituye un registro permanente del estado de las estructuras óseas componentes de la cadera en el momento del examen. Se pueden obtener opiniones, derivar el estudio radiográfico a una fecha posterior y compararlo con estudios efectuados a diferentes edades. Un método es evaluar la radiografía y mentalmente registrar el aspecto de varias regiones anatómicas. El contorno y la profundidad acetabular, la forma de la cabeza y el cuello femorales, y toda la estructura y la conformación articular en sí son consideradas en forma individual, y el total de los cambios será conocido como un patrón. (Morgan J. et. al., 2001)

##### *4.7.1 Patrones de los cambios radiográficos.*

Se identifican dos patrones básicos de cambios radiográficos en los caninos displásicos. El patrón más precoz de los cambios en la laxitud articular. El segundo patrón de cambios es más fácil de detectar y su interpretación es menos controvertida y que incluye una descripción de la cadera malformada y la resultante artrosis indicativa de displasia de cadera. Los métodos de detección de laxitud articular han sufrido una reevaluación y son considerados de mayor valor diagnóstico en la actualidad, ya que ha aumentado la importancia que se le daba a la laxitud articular en el diagnóstico de la enfermedad en perros jóvenes. (Marx C. et. al., 2014)

Considerando toda la evidencia clínica y experimental, la *laxitud articular* como el factor causal de la displasia de cadera parece estar establecida con firmeza. Desde el punto de vista radiográfico, los primeros signos de displasia de cadera son la subluxación femoral y una hendidura en el desarrollo de la porción craneodorsal del anillo acetabular. Esto ya se observa durante la séptima semana. Los resultados inmediatos son aquellos correspondientes al estiramiento y engrosamiento de la cápsula articular y una inflamación y desgaste del ligamento redondo. La cápsula puede alcanzar un espesor de 5 a 7 mm, en un esfuerzo por restringir el desplazamiento lateral de la cabeza femoral. Muchos de estos cambios involucran tejidos blandos y no son identificados en las radiografías. Con la precoz subluxación de la cabeza femoral, se describió un aumento del volumen del líquido sinovial y del volumen del ligamento redondo de la cabeza femoral. Estos cambios no son causales sino secundarios a la laxitud articular precoz. (Hou Y. et. al., 2013)

La subluxación es la falla de la cabeza femoral para asentar en forma apropiada dentro del acetábulo. Por desgracia, la posición de la cabeza femoral está influenciada por cambios patológicos dentro de la cadera, como así también la posición radiográfica de la pelvis y de los miembros posteriores. De esta manera, se puede hacer que una cadera subluxada parezca normal en una radiografía al colocar los miembros en rotación externa y abducción. El uso de la incidencia con compresión/ distracción, la comparación de incidencias rutinarias con incidencias con cuña, o radiografías combinadas con la palpación de la cadera hacen más probable la detección de la subluxación. Los cambios radiográficos precoces de la displasia de cadera pueden ser la subluxación de la cabeza femoral y la evaluación del espesor del espacio articular es de gran importancia. La detección de un aumento del espesor del espacio articular entre el contorno de la cabeza femoral y la profundidad del acetábulo indica laxitud articular. El borde acetabular redondeado se debe a las fuerzas de apoyo que desvían la cabeza femoral en contacto con la porción dorsal del borde acetabular y puede servir como un indicador más positivo de la laxitud articular. (Morgan J. et. al., 2001)

A pesar de ser subjetivo, el indicador utilizado con mayor frecuencia para detectar el aumento del espacio articular es la detección de la incongruencia entre la cabeza femoral y la porción craneodorsal del borde acetabular, como resultado del desplazamiento lateral de la cabeza femoral. Esta evaluación depende mucho de la posición de los miembros posteriores. Cuando el centro de la cabeza femoral está lateral a la proyección del borde dorsal del acetábulo se considera que la cabeza femoral está subluxada. La localización del centro de la cabeza también puede ser comparada con una línea paralela a la columna vertebral dibujada con sentido caudal desde el ángulo craneolateral del acetábulo. Si el centro de la cabeza es lateral a dicha línea se considera subluxada. (Blank L. et. al., 2008)

El método más popular para la determinación de la localización de la cabeza femoral como indicador de la subluxación ha sido la medición del ángulo de Norberg. Este ángulo es formado por la intersección de una línea que conecta el centro de ambas cabezas femorales y una línea trazada desde el centro de cada cabeza femoral hacia el ángulo craneodorsal de acetábulo. El ángulo se mide desde el lado pélvico. Este puede ser medido en una radiografía de un perro bien posicionado en una incidencia ventrodorsal, con los miembros extendidos o



flexionados. El ángulo que surge entre la relación entre el centro de la cabeza femoral y el ángulo craneodorsal acetabular en el perro normal es igual o mayor a  $105^\circ$ . En la medida que la cabeza femoral se desvía hacia lateral, el ángulo de Norberg se hace más pequeño, indicando laxitud articular. El borde redondeado acetabular enfermo puede afectar la medición y hacer que el ángulo sea más pequeño. La medición del ángulo también puede estar influenciada por los cambios secundarios del ángulo craneodorsal del acetábulo. En los pacientes displásicos viejos, el depósito de hueso produce un falso aumento del ángulo de Norberg aparentando una falsa profundidad acetabular y existe la posibilidad de una evaluación falsa negativa. (Contran R. et. al., 2000)

Dentro de los *cambios óseos secundarios*, los *osteofitos* y *entesofitos* reflejan los cambios óseos secundarios que ocurren dentro de una articulación displásica. Además de laxitud articular, la detección de osteofitos o entesofitos constituye un importante indicador de artrosis y, de esta manera, en la mayoría de los perros puede ser un importante indicador de displasia de cadera. Esta neoformación ósea puede aparecer como picos o engrosamientos redondeados. Con frecuencia la neoformación ósea se desarrolla en forma de collar o anillo alrededor del cuello femoral. Sin embargo, cuando esta formación ósea es atravesada en forma tangencial puede aparecer como un espolón óseo. Este hueso neoformado puede tomar dos formas: una es periarticular y tiene por objetivo agrandar el borde articular en una articulación con laxitud y se la denomina labios periarticulares (son los osteofitos). La otra forma de neoformación ósea se denomina entesofitosis y se produce en el sitio de inserción de los tejidos blandos, y refleja la sección inusual sobre estas inserciones debido a la inestabilidad articular. Conociendo la inserción normal de la cápsula articular, los tendones musculares y los ligamentos, se puede predecir la localización de las prominencias óseas. (Hou Y. et. al., 2013)

La formación de osteofitos sobre la cara caudal del cuello femoral en perros jóvenes asume un patrón lineal en el sitio de inserción de la capsula articular y ha sido denominado línea de Morgan. Estos osteofitos son visibles en la radiografía y son los signos óseos más precoces del efecto de la laxitud articular. La presencia de estas neoformaciones óseas sugiere tensión sobre la inserción capsular, el resultado de inestabilidad de la articulación. La inserción de la capa articular sobre el fémur se encuentra a 1 o 2 cm desde el borde del cartílago articular que cubre la cabeza femoral. (Morgan J. et. al., 2001)

En las radiografías de los miembros posteriores extendidos, este tejido óseo neoformado se ve como una línea radiodensa vertical proyectada a través del centro del cuello femoral. En las radiografías realizadas con los miembros posteriores en posición de rana, esta neoformación ósea se observa como una formación en espolón que se proyecta más allá de la corteza sobre el borde caudolateral del cuello femoral. Si los miembros esta en extensión, pero presentan rotación externa, la proyección de la cabeza femoral se ve alterada de forma tal que el trocánter mayor se superpone con el cuello, no pudiendo identificar la línea de Morgan.

La evaluación del borde acetabular brinda una indicación de la relación entre la cabeza femoral y el acetábulo. En los cachorros, las lesiones en el cartílago del borde acetabular se ven por primera vez entre los 2 a 4 meses de edad, dependiendo de la gravedad de la

enfermedad. Normalmente, el borde cartilaginoso del acetábulo no se convierte por completo en hueso hasta los 8 a 9 meses. El desarrollo demorado de los músculos en relación con el desarrollo esquelético da lugar al desplazamiento dorsolateral de la cabeza femoral y laxitud articular. A medida que la cabeza femoral se desliza hacia delante y hacia atrás sobre el borde acetabular se afectan tanto los procesos de condrogénesis como de osteogénesis, con demora en la conversión de fibrocartílago a cartílago hialino y luego a hueso. Esta modelación anormal produce aplanamiento del borde acetabular y refleja el contacto anormal entre la cabeza femoral y el acetábulo. (Trigo T. 2011)

La *esclerosis subcondral*. Las bandas de hueso subcondral de igual espesor se presentan dentro de la porción craneal del borde acetabular como resultado del contacto normal entre las superficies de apoyo. Con la falta de la congruencia consecuente de la laxitud articular y el desplazamiento lateral de la cabeza femoral, las presiones de carga son concentradas sobre un área más pequeña de la superficie articular opuesta. Como resultado, la presión ejercida sobre la porción dorsocraneal del borde acetabular, que es el área de contacto remanente, aumenta por encima de lo soportado normalmente por cartílago o hueso sano. Por esto se produce un aumento en el depósito de hueso subcondral, pudiendo ser denominado esclerosis ósea debido al aumento en el número y al espesor de las trabéculas óseas. Con la disminución de la presión ejercida sobre el hueso subcondral de la superficie medial del acetábulo como resultado del desplazamiento lateral de la cabeza, hay pérdida de tejido óseo con mayor densidad del hueso subcondral indican la naturaleza de la alteración del contacto entre la cabeza femoral y el acetábulo. (Morgan J. et. al., 2001)

La *bilabiación*. Si la laxitud articular es importante y se produce durante una etapa precoz de vida, el efecto sobre el borde cartilaginoso es una deformación grave caracterizada por el borde redondeado acetabular. Si se presenta un menor grado de laxitud articular y se produce a una edad más avanzada, la osificación del borde ya ha ocurrido y los osteofitos secundarios se extienden desde el borde del acetábulo en un intento por estabilizar la articulación. De esta manera, la porción craneal del borde acetabular cambia desde un arco liso a uno con un nuevo borde, caracterizado por una doble línea denominada bilabiación.

La observación de *patrones de remodelación*. De esta manera, se puede ver un total de cuatro patrones indicando desarrollo óseo anormal en asociación con la inestabilidad articular. La cabeza femoral puede subluxarse y: 1) causar aplanamiento del borde acetabular, 2) formar un patrón de remodelación del borde acetabular denominado bilabiación, 3) permanecer dentro del acetábulo con la formación de fuertes osteofitos intentando crear un labio funcional que sostiene la cabeza en posición y 4) separarse por completo del acetábulo con atrofia del borde acetabular debido al desuso. Cualquiera de estos estadios puede ser el punto final dependiendo de la edad o pueden progresar dentro del mismo paciente. (Marx C. et. al., 2014)

Se pueden observar *depósito de hueso nuevo* en el ilion y el isquion. Los pacientes que presentan cambios secundarios graves debido a displasia pueden tener depósito de hueso liso sobre la cara medial del ilion y el isquion, adyacente al acetábulo, lo que puede aumentar el espesor del hueso medido desde el lado medial de la pelvis hasta la profundidad del acetábulo. En los períodos precoces, se observa un halo “esponjoso” adyacente a la sombra cortical

original. A medida que el hueso madura parece separarse del borde cortical hacia medial, formando una neocorteza. Se presume que este patrón reactivo es una respuesta al asentamiento laxo de la cabeza femoral y la alteración en el patrón de las líneas de estrés a través de una cadera alterada. No tiene una importancia clínica conocida, pero es otro de los cambios óseos secundarios que refleja una cadera malformada. (Vilar J. et. al., 2014)

Los primeros cambios en la cabeza femoral consisten en el *desgaste del cartílago articular* y un engrosamiento de la inserción del ligamento redondo, ninguno de los cuales puede ser apreciado en la radiografía. Cambios posteriores son el resultado de la subluxación y la cabeza femoral se remodela en respuesta a la falla para asentar normalmente dentro del acetábulo. La progresión de los cambios depende de: 1) el grado de laxitud articular, 2) la edad a la que comienza la laxitud, 3) la actividad atlética del paciente, 4) el peso del paciente y 5) la edad del paciente al momento del examen radiográfico. (Blank L. et. al., 2007)

Ante la progresión más lenta de la enfermedad, los cambios dentro de la cabeza y el cuello femorales comienzan con el desarrollo de un labio óseo sobre la cara caudal del cuello femoral (línea de Morgan). Con la persistencia de la laxitud articular, los cambios secundarios causan engrosamiento del cuello femoral. La cabeza femoral parece cambiar desde su forma esférica hacia una aplanada, con un grado variable de deformación en varo. El patrón de cambio dentro de la cabeza y cuello femoral es paralelo al patrón de cambio dentro del acetábulo. Esta es una característica importante en la comprensión de la fisiopatología de la artrosis asociada con la displasia de cadera. (Rychel J. et. al., 2010)

El trocánter mayor se ubica en lateral de la porción proximal del fémur y actúa como punto de inserción de los músculos glúteos. Su aspecto puede estar alterado en el perro displásico. La forma del trocánter en el perro adulto refleja la influencia de estos músculos, junto con el piriforme que se une a la porción caudal del músculo glúteo medio, durante el periodo de maduración esquelética. A menudo, la punta proximal del trocánter se desvía hacia medial sugiriendo un aumento en la tensión muscular debido a la demora en el desarrollo. Estos hallazgos pueden reflejar un esfuerzo para compensar la discrepancia entre el desarrollo óseo y muscular. Sin embargo, la forma del trocánter en el perro adulto también puede variar presentando diferencias según la raza. (Morgan J. et. al., 2001)

#### **4.8 Diagnóstico diferencial radiográfico.**

Ciertas enfermedades tienen características radiográficas en común con aquellas observadas en la displasia de cadera, entre las que se encuentran luxación congénita, necrosis aséptica de la cabeza femoral, fractura fisaria capital, artritis infecciosa y fracturas generalizadas. En algunas, los cambios primarios de la enfermedad recuerdan aquellos observados en la displasia de cadera mientras que en otras los cambios secundarios son parecidos. (Hou Y. et. at., 2013)

La *luxación de la cadera*, puede ser congénita, traumática o del desarrollo. Con una luxación congénita de la cadera, la cabeza femoral se encuentra totalmente luxada desde antes o poco después del nacimiento, y la cadera no se puede desarrollar de manera normal. La cabeza femoral se atrofia y el cuello femoral evidencia un importante grado de malformación en coxa valga. El acetábulo se aplanar debido a la ausencia de fuerzas normales de apoyo. Debido a la falla de la cabeza femoral para asentarse correctamente en el acetábulo no se forma el borde esclerótico de hueso subcondral. Los cambios periarticulares secundarios observados con frecuencia en la displasia de cadera como respuesta ósea a la inestabilidad articular no se desarrollan, debido a la falta de contacto entre la cabeza femoral y el acetábulo. La cara caudal de la pelvis se atrofia porque el apoyo en la cadera es mínimo. Los signos clínicos incluyen una claudicación mecánica que se puede parecer aquella observada en la displasia. Los principales signos radiográficos no observables en la displasia de cadera son la ausencia de los cambios de remodelación, el hallazgo de atrofia ósea y deformación en valgo en el cuello femoral. Cuando las fracturas femorales diafisarias no son tratadas en la manera adecuada puede resultar en una persistente rotación externa de la diáfisis y la anteversión craneal de la cabeza y el cuello femorales. Resultan, a menudo, en la mala unión de la fractura, una importante deformación del valgo, subluxación y la resultante artrosis de la cadera, la cual podría parecerse a la observada con la displasia de cadera. (Blank L. et. al., 2008)

La *necrosis aséptica de la cabeza femoral*. El primer cambio es atípico respecto a cualquiera de los vistos en la displasia de cadera y es la pérdida de la densidad ósea metafisaria, probablemente debido al desuso. Luego se observa un patrón inequívoco de densidad ósea en la cabeza femoral, indicativo de necrosis ósea. En algunos perros, la remodelación de la cabeza femoral es indicativa de muerte ósea, osteólisis y depósito de hueso recién formado pudiendo dar lugar a la separación del segmento de hueso subcondral. Este colgajo se puede identificar en las radiografías y es diagnóstico de necrosis aséptica. También se desarrolla un patrón de cambios secundarios consistiendo en el aplanamiento de la cabeza femoral, mínima laxitud articular y aplanamiento del acetábulo. Estos cambios secundarios son el resultado del colapso de la cabeza femoral y el remplazo del hueso muerto por tejido óseo vivo. Aun cuando la enfermedad muestra una lenta progresión, el dolor es más agudo en el inicio y puede ser similar a aquel observado en un paciente con displasia de cadera crónica que ha sufrido un trauma agudo en la cadera. (Marx C. et. al., 2014)

Otra forma de necrosis de la cabeza femoral es inducida por los esteroides, caracterizada por un compromiso bilateral y observado en perros de talla grande que han recibido tratamientos esteroide de largo plazo. (Vilar J. et. al., 2014)

Las *fracturas en la fisis capital* pueden tener una presentación unilateral y deberse a trauma. Cuando se presentan bilateralmente en el perro joven, causan dolor y claudicación agudos y a menudo se asocian con hipotiroidismos. Cuando la enfermedad se presenta en forma aguda no se asocia a cambios en las cabezas femorales. Posteriormente, la pérdida de tejido óseo en la metafisis es indicativa de la cicatrización de la fractura. Sin embargo, si la enfermedad no es radiografiada por varios días, es factible que se produzca la impactación de la cabeza femoral en el cuello. Esto da lugar a una deformación en varo en el cuello femoral tal

como poder ser observado en la displasia de cadera. A menudo, la cicatrización ósea ocurre siempre que la cabeza permanezca impactada sobre el cuello femoral. Esto crea una lesión con impacto similar al observado en la displasia de cadera. Sin embargo, si la cabeza femoral permanece separada del cuello, la primera permanecer avascular y sin cambios en la densidad y la forma mientras que el cuello femoral manifiesta resorción ósea a mayor velocidad. Este aspecto es diferente a lo observado en la displasia de cadera. Las fracturas también pueden involucrar a caderas displásicas, causando problemas en el diagnóstico. Sin embargo, si la fractura involucra una cabeza femoral en una articulación afectada por displasia, el diagnóstico se complica. Si la lesión no es identificada hasta que comienza la cicatrización, la línea de fractura no será identificada debido al recubrimiento producido por el callo secundario. Los signos clínicos en estos perros son confusos porque los signos agudos del trauma se superponen con los de la claudicación crónica de la displasia de cadera y pueden no ser reconocidos. (Vilar J. et. al., 2014)

Por lo general, la *artrosis primaria* no es una entidad clínica sino que es factible que se presente en todas las articulaciones a cierta edad de los perros. La laxitud articular y la remodelación de la cabeza femoral y el acetábulo, ambas características de la displasia de cadera, se encuentran ausentes en la enfermedad articular primaria. De hecho, el patrón afectado de los cambios radiográficos observados en la enfermedad articular primaria debido sólo al desgaste son muy diferentes a lo observado en la enfermedad articular secundaria asociada con la displasia de cadera. La forma de la cabeza femoral y el acetábulo permanece casi sin cambios, siendo los hallazgos primarios el estrechamiento del espacio articular junto con la esclerosis subcondral uniforme y osteopenia generalizada. Cuando mayor sea la edad del paciente en el momento de la evaluación de las caderas mayor será la posibilidad de duda acerca de la causa de la artrosis secundaria. Esto es un problema en especial en los perros con displasia unilaterales. (Rychel J. et. al., 2010)

#### **4.9 Tratamientos convencionales.**

Ningún esquema de manejo o tratamiento de un individuo con displasia de cadera restaurará la función normal de dicha articulación. Sin embargo, es de esperar que se puedan brindar algunas medidas de alivio a cualquier perro debilitado por la displasia. El tratamiento convencional se divide en tres grupos principales: conservador, médico y quirúrgico. El tratamiento conservador se concentra en el mantenimiento del paciente por medio de un cuidadoso control de las actividades del animal, el ambiente y la dieta. El tratamiento médico emplea ciertos medicamentos para controlar el dolor. Los procedimientos quirúrgicos tienen varios objetivos y sus usos dependen de la edad. No importa que fármacos o tipo de cirugía se emplee, éstos deben estar combinados con el tratamiento conservador, que consiste en control de peso y ejercicio. (Marx C. et. al., 2014)

##### **4.9.1 Tratamiento conservador.**

El *tratamiento conservador en el perro en crecimiento*. La progresión de la artrosis secundaria en los pacientes en crecimiento con displasia de cadera se puede controlar por medio del manejo conservador. El ejercicio en el paciente joven puede ser regulado,

comprendiendo que el exceso de la actividad atlética puede causar un mayor daño en la cadera. Es ideal que el tratamiento en el paciente joven consista en la persistente abducción de los miembros posteriores, dando como resultado que la cabeza femoral asiente con mayor profundidad en el acetábulo. Desafortunadamente, la única acción disponible para minimizar los efectos de la laxitud articular en los cachorros es el control del peso corporal y la demora en la tasa de crecimiento por medio de un estricto control de la dieta. Esto hace que el aparato musculoesquelético se desarrolle con mayor lentitud. (Morgan J. et. al., 2001)

Mientras que en el *tratamiento conservador en el perro adulto*. Es mucho lo que se puede realizar para disminuir el dolor en el paciente adulto con artrosis secundaria a una displasia de cadera asociado con tratamiento médico o quirúrgico. El reposo adecuado para pacientes con artrosis es importante por varias razones. El excesivo uso de articulaciones dañadas, más allá de las etiologías, puede agravar los signos clínicos y acelerar la destrucción de las superficies articulares.

El tratamiento conservador para el control de la displasia de cadera en los pacientes adultos con artrosis secundaria a la displasia es:

1. El ejercicio debe:
  - Ser regular.
  - Ser moderado.
  - Incluir la natación cuando sea posible.
  - Evitar excesos.
2. Evitar la obesidad.
3. Proveer un ambiente cálido.

#### 4.9.2 *Tratamiento médico.*

Una variedad de analgésico y antiinflamatorios no esteroides (AINES) se recomienda para su uso en el control del dolor y la claudicación en pacientes con displasia de cadera. Debe recordarse que los fármacos sólo son administrados con el objetivo de aliviar el dolor y no con el fin de revertir la enfermedad articular. De hecho, el paciente con menos dolor después de la medicación puede tender a desarrollar un uso excesivo de las caderas y causar una progresión más rápida de la artrosis. La prednisolona o la prednisona son agentes más fuertes y efectivos que también pueden ser utilizados para aliviar el dolor asociado con la displasia de cadera. (Guercio A. et. al., 2012)

Otro fármaco que puede tener aplicación en el tratamiento médico de la displasia de cadera son los Glucosaminoglucanos polisulfatados, constituidos principalmente por condroitin sulfato, que protegen al cartílago articular enlenteciendo el proceso degenerativo. Es una sustancia natural encontrada en la composición química del cartílago articular e inhibe las enzimas lisosomales, la síntesis de prostaglandinas y de interleucinas, y la liberación de radicales libres. (Blank L. et. al., 2008)

### 4.9.3 Tratamiento quirúrgico.

Ningún tratamiento quirúrgico dará la restauración total de una cadera displásica. A menudo, la estabilización de la cadera utilizando osteotomías reconstructivas es un método más efectivo para tratar una cadera con displasia grave en perros jóvenes. La cirugía incluye el uso de analgésicos, que a pesar de su uso frecuente en medicina, no están libre de riesgo.

Tratamiento quirúrgico en el perro en crecimiento:

*Técnicas que liberan tensión:* El cachorro siente dolor debido a la temprana subluxación de la cabeza femoral y el estiramiento o la ruptura de la cápsula articular y el ligamento redondo de la cabeza femoral, junto con el desarrollo de microfracturas en el borde acetabular debido al trauma causado por la cabeza femoral, junto con el desarrollo de microfracturas en el borde acetabular debido al trauma causado por la cabeza femoral deslizándose sobre este borde. Debido a que aparentemente la contractura del musculo pectíneo causa, en parte, el desplazamiento de la cabeza femoral hacia dorsal del borde acetabular, se describieron técnicas quirúrgicas sobre este musculo y su tendón. Se agrupan juntas y se las denomina técnicas que liberan tensión. (Contran R. et. al, 2000)

Las técnicas liberadoras de tensión pueden variar en forma técnica e incluyen la transección del musculo o el tendón pectíneo (miectomía, tenotomía) desde el extremo distal. La extracción de una porción del tendón o músculo evita la reunión de los extremos seccionados. Se pueden operar ambos miembros al mismo tiempo. Es necesario tener cuidado para evitar seccionar quirúrgicamente la arteria y la vena femorales, ubicadas muy cerca del músculo. Si se realiza una miectomía o una mietomía parcial o total del pectíneo, la hemorragia y la subsecuente formación de seroma pueden ser una complicación. (Khan W. et. al., 2010)

Aun cuando la cirugía no altera el curso de la enfermedad, las técnicas liberadoras de tensión son cirugías recomendadas. (Morgan J. et. al., 2001)

*Triple osteotomía pélvica:* Se utiliza para estabilizar la articulación. La elección de pacientes para esta cirugía se basa en

- Edad:
  - Se obtienen mejores resultados si se opera entre los 5 y los 9 meses de edad
    - Artrosis mínima.
  - Posible remodelación después de la cirugía
    - Es mayor
    - Ayuda a crear una cavidad acetabular apropiada.
  - Menores probabilidades de éxito en perros de mayor edad.
    - La artrosis es más progresiva
    - Posible remodelación posquirúrgica de la cadera: mínima o puede no ser capaz de crear una cavidad acetabular apropiada.
  
- Nivel de Artrosis.

- Mejores resultados si la artrosis es mínima.
- Los resultados tienden a tener menos éxito si la artrosis es extensa, asociándose con: pérdida del borde acetabular dorsal, llenado acetabular y entesofitos en la porción dorsal del cuello femoral.
- Naturaleza de la inestabilidad articular.
  - Es probable que la cirugía lleve al éxito cuando la subluxación es mínima.
  - El éxito de la cirugía es menos probable si la cadera presenta luxación completa.

La cirugía consiste en el corte de los huesos que rodean al acetábulo (ilion, isquion y pubis), de forma tal que el acetábulo quede libre y pueda ser rotado sobre la parte superior de la cabeza femoral, para aumentar la cobertura dorsal de apoyo. Se requieren tres abordajes quirúrgicos. El pubis es abordado a través de una incisión sobre el origen del pectíneo, separando los músculos abdominales del pubis para luego remover una sección de este hueso. Esta sección de hueso puede proveer una pieza para injerto óseo que se puede emplear alrededor de la placa iliaca. El isquion se aborda por medio de una segunda incisión, usando una sierra de Gigli como elemento de corte. Es factible realizar esta osteotomía en un punto inmediato caudal al acetábulo. El tercer abordaje se realiza sobre el cuerpo del ilion, donde es osteotomizado inmediatamente caudal al sacro. En estos momentos, el segmento acetabular es completamente libre. Posterior a la osteotomías y la rotación del fragmento acetabular, se estabiliza la osteotomía ilial con una placa especialmente diseñada para tal efecto. Por lo general los sitios de osteotomía isquiática y púbica no son estabilizados más allá de la vía indirecta efectuada por medio de la placa ilial. Sin embargo, algunos cirujanos colocan un alambre para unir los fragmentos isquiáticos. (Morgan J. et. al., 2001)

*La osteotomía intetrocantérica desrotacional varo:* Esta cirugía tiene como objetivo corregir la deformación valgo y la anteversión asociada, en ocasiones, con la displasia de cadera. En esta cirugía se secciona el fuelle femoral entre el trocánter menor y el trocánter mayor, y la cabeza femoral y el cuello son rotados hacia caudal con una leve posición de varo. La osteotomía se estabiliza mediante una placa-clavo diseñada especialmente para la cirugía. (Trigo T. 2011)

*La reposicionamiento del trocánter mayor:* Esta es una cirugía ortopédica diseñada para corregir las consecuencias biomecánicas de la laxitud articular de la cadera y se lleva a cabo por medio del desplazamiento del trocánter mayor y los músculos en él insertados, hacia distal y lateral. Esta técnica funciona bien biomecánicamente si los músculos glúteos y los pequeños músculos asociados con la pelvis permanecen insertados en el trocánter después de la separación de este último. En la práctica, el corte es hecho a menudo en forma incorrecta y ya que solo permanecen adheridos los músculos glúteos y por lo tanto los efectos estabilizadores ante la reposición del trocánter son mínimos. (Morgan J. et. al., 2001)



Tratamiento quirúrgico en el perro adulto.

En pacientes adultos en los que la reducción de peso y el uso de analgésicos no son más satisfactorios para el control del dolor, el animal puede ser un candidato para procedimientos de salvataje tales como la escisión de la cabeza y el cuello femorales o el remplazo total de cadera. (Contran R. et. al., 2000)

*Osteotomía (escisión artroplástica) de la cabeza y cuello femorales:* La cirugía conduce a la formación de una pseudoarticulación (seudoartrosis) con los tejidos blandos localizados lateral y dorsal al acetábulo, con algo de restauración de la función del miembro a pesar del acortamiento del miembro operado. El objetivo de la cirugía es crear una falsa articulación con la formación de una cobertura cartilaginosa del muñón del cuello femoral y un rango confortable de movimientos en consideración con la flexión y la extensión del miembro posterior. (Hou Y. et. al., 2013)

*Remplazo total de cadera (artroplastia total de cadera):* La intención de este procedimiento quirúrgico es la extracción de la cabeza y el cuello femorales y remplazarlos con un implante protésico. Los componentes de esta prótesis consisten, por lo general, en una cavidad acetabular plástica y un componente femoral que consta de una cabeza plástica montada sobre un cuello y un cuerpo metálicos. La cirugía requiere una apropiada preparación del lecho acetabular y del canal medular femoral. Además, es necesaria la correcta elección de los compuestos protésicos y la correcta alineación del mismo. (Morgan J. et. al., 2001)

#### **4.12 Pronóstico para el tratamiento convencional.**

Ningún tratamiento quirúrgico restaurará el normal funcionamiento de una cadera displásica. Sin embargo, es factible ofrecerle a cualquier perro con displasia de cadera algún grado de alivio del dolor y mejoramiento de la configuración de la cadera. Además del tipo de cirugía realizada, la cual está dictado por el estado de la cadera y la edad del paciente, los siguientes puntos son influyentes sobre el resultado final de la cirugía: 1) La edad del paciente es importante porque la cirugía, la anestesia y la recuperación son mejores, en general, en pacientes más jóvenes. 2) El temperamento del perro también influye en la respuesta a la cirugía, en especial a los cuidados requeridos después; los pacientes más ansiosos y atléticos pueden resolver mejor los problemas ocurridos después de la cirugía y están más predispuestos a la fisioterapia requerida. 3) La condición física del perro es importante; la obesidad aumenta el riesgo de la anestesia, las dificultades técnicas de la cirugía y a menudo enlentece la recuperación. Un perro con atrofia muscular antes de la cirugía puede recuperar en mayor tiempo el uso del miembro haciendo cuestionable un rápido retorno a la actividad deportiva. Cuando más livianos son los perros mejor será el pronóstico para la osteotomía de la cabeza femoral. 4) Una importante consideración debe ser la experiencia del cirujano elegido y una segunda opinión no debe ser tomada como fuera de lugar si se considera más de un tipo de cirugía. 5) El cuidado posterior del paciente es muy importante e influye sobre el pronóstico del tratamiento quirúrgico en la displasia de cadera. Esto también abarca al cuidado

posquirúrgico inmediato que puede tomar lugar en la clínica o el hospital. Durante este tiempo, un buen cuidado evita escaldaduras urinarias, úlceras por decúbito y dehiscencia de la herida. La fisioterapia influye en el pronóstico más en algunas cirugías que en otras. La disponibilidad del propietario a llevar al paciente a los controles clínicos periódicos es importante para la detección precoz de cualquier problema posquirúrgico en un estadio en el que pueda ser manejado con facilidad. El no cumplir con estos controles puede comprometer el éxito de la cirugía. Un punto especial en relación con el pronóstico de un perro de trabajo: no esperar que ningún animal operado por displasia de cadera vuelva a evidenciar alto rendimiento. (Goncalves N. et. al., 2014)

## **CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES EN TEJIDOS ADULTOS.**

### **5.1 Células madre somáticas.**

Las células madre adultas-también conocidas como células madre somáticas se pueden encontrar en diversos tejidos y órganos. (Hall V. et. al., 2013)

El papel clave que desempeñan las Células madre somáticas en la homeostasis y regeneración tisular sugiere que se ofrece un gran potencial terapéutico. Además, la identificación y la propagación de las poblaciones de estas células específicas de tejido podrían permitir un método más especializado de proyección toxicológico y a base de medicamentos en especies veterinarias mientras se aumente el potencial para desarrollar nuevos y más especializados tratamientos para varias enfermedades. (Gattegno-Ho D. et. al., 2012)

La célula madre adulta mejor estudiadas son las células madre hematopoyéticas. Éstas se han utilizado ampliamente en la práctica clínica desde hace más de 40 años y constituyen la base del éxito del trasplante de médula ósea. Por desgracia, como algunas otras, son células raras y difíciles de aislar *in vivo* en un gran número. Por ejemplo, 1 de cada 100 células de la médula ósea es una célula madre hematopoyética. Otras células madre adultas también se han aislado de varios otros órganos tales como el cerebro (células madre neuronal), la piel (células madre epidérmicas), ojo (células madre de la retina) y el intestino (células madre de la cripta intestinal) Las células madre mesenquimales son otra población bien caracterizado de células madre adultas. Las células mesenquimales son frecuentes en la médula ósea en cantidades bajas (1 de 10 000 a 100 000 células mononucleares). (Martinello T. et. al., 2010)

Se piensa que estas células responden a lesiones locales dividiéndose para producir células hijas que se diferencian en múltiples tipos de tejidos mesodérmicos, incluyendo hueso, cartílago, músculo, estroma de médula, tendón, ligamento, grasa y una variedad de otros tejidos conectivos. La facilidad con la que crecen en cultivos celulares ha facilitado en gran medida la caracterización de las células mesenquimatosas. Además, estudios recientes han demostrado que éstas también pueden diferenciarse en células similares a neuronas que expresan marcadores típicos para las neuronas maduras, lo que sugiere que las células madre mesenquimatosas somáticas podrían ser capaz de brincar el linaje celular y expresar plasticidad celular. Varios informes sugieren que las células madre somáticas mesenquimatosas pueden formar una variedad de tipos de células en el laboratorio, incluyendo las células de grasa, cartílago, hueso, tendón y ligamentos, células de músculos, células de la piel y células incluso de tejido nervioso. Sin embargo, no todos los órganos y tejidos contienen células madre. (Goncalves N. et. al., 2014)

Existe una serie de enfermedades de los animales de compañía que pueden beneficiarse de esta terapia tales como enfermedad hepática y diabetes.

Un paso crítico en el desarrollo de la diabetes es la deficiencia en masa celular que es responsable de la liberación de insulina y es el componente principal de los islotes de Langerhans del páncreas. Como la regeneración pancreática ha sido bien documentada, la investigación veterinaria ha trabajado mucho en la identificación de una población de células madre en el páncreas de los animales. Existen progenitores pancreáticos en la regeneración de islotes, y aunque varios estímulos químicos han demostrado la regeneración estos, las células madre del páncreas son responsables de la generación de células endocrinas, acinares y el conducto. Hasta la fecha, las células pequeñas que son potencialmente células progenitoras de los islotes pancreáticos han sido identificadas en caninos. (Gattegno Ho D. et. al., 2012)

Diferencias entre células madre somáticas y embrionarias.

Células Madre Somáticas	Células Madre Embrionarias
<ul style="list-style-type: none"> <li>Las células madre son escasas y de difícil acceso y purificación.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Una vez derivadas y propagadas, las células madre exponen un crecimiento prolífico y abundante</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Multipotencialidad con estrecha plasticidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pluripotencialidad; Versátil y amplia plasticidad.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Multipotencialidad con estrecha plasticidad</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Cariotipo normal en estadios tardíos y cambios del cariotipo en densidades altas en un protocolo de cultivo.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Niveles de Telomerasa bajos</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Niveles de Telomerasa altos y constantes; autorenovación celular ilimitada.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Acortamiento de la longitud del cromosoma con el envejecimiento</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>No hay acortamiento en la longitud del cromosoma</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Apoptosis temprana.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Apoptosis tardía.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Personalización de las células madre / No es posible la diferenciación tisular.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Posibilidad de transferencia celular</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>No hay riesgo de Teratoma después de inoculación después de trasplante accidental.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Riesgo de inducción de teratoma después de la trasplante si no es purificado.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Cambios genómicos epigenéticos con dificultad de reversión.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Reversible</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>No hay problemas éticos.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Problemas éticos en algunos países e instituciones</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>Aplicaciones: terapia de trasplante.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Aplicaciones: 1) Terapia de trasplante; 2) Proyección</li> </ul>

	farmacéutica; 3) producción embrionaria y de gametos; 4) estudios en desarrollo humano, anomalías congénitas y cáncer infantil.
--	---

(Hall V. et. al., 2013)

## 5.2. Células madre mesenquimales (Somáticas)

Las células madre mesenquimales se encuentran en varios tejidos adultos y representan una categoría de células madre atractiva para fines de terapia celular y la medicina regenerativa. Poseen un robusto potencial de auto-renovación, muestran un crecimiento constante y una proliferación conocida cinética; Además, son capaces, in vitro, para diferenciarse en numerosos tipos de células especializadas (Blank L. et. al., 2007)

Una población de células progenitoras mesenquimales adultas ha sido identificada en tejido adiposo y lipoaspirado. Numerosos estudios han demostrado que las células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo expresan marcadores clásicos como CD90, CD44, CD73, CD105, CD117, CD106 y poseen la misma capacidad de las células madre óseas y de médula ósea para diferenciarse en osteogénico, adipogénica y linajes condrogénicas. Por otra parte, menos de 1% de los genes se expresan diferencialmente entre células mesenquimales adultas y las de médula ósea; estos datos deben apoyar la noción de que estas se originan a partir de un precursor común. El tejido adiposo presenta alguna ventaja con respecto a otras fuentes de células madre investigadas porque los números de células resultantes obtenidos a partir del aislamiento es muy alta y, de hecho, es suficiente un pequeño trozo de grasa para su aislamiento. En los mamíferos el tejido adiposo se encuentra en diferentes compartimentos anatómicos y en perros la grasa visceral es particularmente fácil de recoger ya que esta especie se somete a un gran número de oforosalingohisterectomias. (Guercio A. et. al., 2012)

La plasticidad de las células madre mesenquimales ha hecho posible el desarrollo de terapias basadas en células y, para ello, es muy útil para criopreservar estas células a fin de obtener una fuente de abundantes células madre autólogas. Las células madre mesenquimales se pueden congelar para preservar su vitalidad y cuando se descongela tienen que mantener su fenotipo pluripotente); Obviamente, la posible aplicación clínica debe basarse en la abundancia, la frecuencia y la expansión potencial de las células. (Blank L. et. al., 2007)

El campo de la terapia con células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo en la medicina regenerativa es un área de rápido crecimiento de investigación, esta terapia con células madre se está utilizando para tratar la osteoartritis. El aislamiento de células de tejido adiposo conlleva una serie de pasos que incluyen la maceración y el lavado seguido por la digestión enzimática, lavado, y centrifugación. El sedimento formado a partir de la centrifugación, a menudo se denomina la fracción vascular del estroma, es una mezcla heterogénea de células, incluyendo fibroblastos, células endoteliales, células de la sangre, y células madre mesenquimales. Desde 2003, los veterinarios han utilizado este tipo de células

autólogas para tratar tendón y lesiones de ligamentos y enfermedad de las articulaciones en los caballos sobre una base comercial. Como resultado de la naturaleza "mínimamente manipulada" de las células, esta terapia de células madre autólogas particularmente, no requiere la aprobación de la FDA (Guercio A. et. al., 2012)

En otros estudios se han encontrado que dentro del grupo de células troncales de adulto, las células troncales hematopoyéticas han sido las más estudiadas (desde los años 50's), y en la actualidad se tiene un panorama bastante claro de su estructura y biología. La investigación sobre células troncales de otros tejidos ha sido más reciente. Particularmente, el estudio de las células troncales mesenquimales (MSC, por sus siglas en inglés) comenzó en la época de los 70's y estuvo enfocado primordialmente al conocimiento de su papel en la formación del estroma hematopoyético. Gracias a diversos estudios que han demostrado el amplio potencial de diferenciación de las MSC hacia tejidos neuronales y musculares, estas células han cobrado mayor importancia durante la última década. (Goncalves N. et. al., 2012)

Las MSC se localizan principalmente en la medula ósea y tienen la capacidad de dar origen a diversos tipos celulares, como fibroblastos medulares o células reticulares, adipocitos, osteoblastos y condrocitos. Estudios realizados tanto *in vivo* como *in vitro* han demostrado la plasticidad de estas células, dando origen a células no hematopoyéticas como miocitos, tenocitos y células nerviosas, entre otras. (McGeady T. et. al., 2006)

El fácil y repetible acceso para el tejido adiposo, el procedimiento de aislamiento simple y el mayor número de Células madre mesenquimales frescas procedentes de cantidades equivalentes de grasa en comparación con médula ósea muestran una clara ventaja en el uso de Células mesenquimales provenientes de tejido graso sobre las de medula ósea. Su fracción vascular del estroma contiene células madre, linfocitos T, macrófagos anti-inflamatorios, células precursoras endoteliales y preadipocitos; que pueden diferenciarse en hueso, cartílago, músculo y células neuronales. La investigación sobre la terapia con células mesénquimas de tejido adiposo en la medicina regenerativa está creciendo rápidamente, y la terapia con células madre está siendo utilizado para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo Osteoartrosis y enfermedad articular degenerativa, la cual es la vía final común para todas las enfermedades articulares degenerativas, caracterizado por la sinovitis y la degeneración del cartílago articular con la pérdida de la matriz, fibrilación y la formación de fisuras, lo que resulta en la pérdida completa del cartílago superficie. (Flores-Figueroa E. et. al., 2006)

La osteoartrosis en el perro es la forma más común de artritis, que afecta a ~ 20% de los animales. Estudios anteriores sobre la terapia para osteoartrosis han indicado que los medicamentos anti-inflamatorios no esteroideos no dan alivio completo del dolor y que las terapias celulares pueden proporcionar una alternativa terapéutica. En contraste con el tratamiento farmacológico, terapias celulares, tales como el tratamiento con células mesenquimales de tejido adiposo no se basan en un solo receptor diana o vía para su acción, sino que desempeñan una función trófica reclutando células endógenas al sitio lesionado. Para algunas lesiones ortopédicas en los perros, se ha informado de la aplicación clínica de células mesenquimales de médula ósea, pero los veterinarios han reportado efectos beneficiosos de la

terapia de células mesenquimatosas de tejido adiposo sobre la cojera en perros con artrosis crónica de las articulaciones coxofemorales. (Guercio A. et. al., 2012)

### 5.3. Caracterización de células Madre Mesenquimales

Como ya se ha mencionado, hoy en día, las células madre se han descubierto en casi todos los órganos, incluyendo la sangre periférica, médula ósea, músculo, grasa, páncreas, piel, sistema neuronal y otros específicos como sangre del cordón umbilical y tejido adiposo. En los años sesenta, Friedensteinet al. (1966) ya había descrito la presencia, en la médula ósea, no sólo de las células madre hematopoyéticas, sino también de las mesenquimales capaces de producir osteogénesis in vitro. Hoy las células madre mesenquimales derivadas de hueso se han diferenciado en diversos linajes celulares específicos. Estas células representan aproximadamente 2-3% de la fracción de células nucleadas totales en la médula ósea. (Serigano K. et. al., 2010)

Además de la médula ósea y sangre de cordón umbilical, el tejido adiposo también parece ser una fuente buena y abundante de células madre mesenquimales, tanto en seres humanos y animales. Estas células derivadas de tejido adiposo se pueden aislar de liposucciones en grandes cantidades y después de 1-2 h de digestión del tejido adiposo son fáciles de cultivar en condiciones estándar de cultivos tisulares. (Csaki C. et. al., 2008)

La Sociedad Internacional de Terapia Celular ha enumerado los principales factores necesarios para que una célula para ser considerada como una célula madre mesenquimal. Se caracterizan por su potencial de adhesión en cultivos tisulares en monocapa y su potencial de diferenciación en condrocitos, osteocitos y adipocitos in vitro. (Blank L. et. al., 2008)

Esto quiere decir que la caracterización de células madre mesenquimales se basa en la identificación de proteínas específicas de la superficie celular lo cual es uno de los principales retos en la caracterización de un tipo de célula que define interacciones de tipo de heterotípicas/ homotípicas entre células vecinas. También se reconocen receptores de factor de crecimiento, moléculas de adhesión celular y otros marcadores de las superficies celulares expresados por células mesenquimales. (Kode J. et. al., 2011)

Estos elementos son:

Tipo de Marcador	Ejemplos
Marcadores de Superficie	CD13, CD29, CD44, CD73, CD90, CD105, CD106, Stro-1, Sca-1
Receptores de Citoquinas	IL-1R, IL-3R, IL-4R, IL-6R, IL-7R
Receptores de la Matriz Extracelular	ICAM-1, ICAM-2, VCAM-1, ALCAM, endoglin, hyaluronate receptor integrins a1, a2, a3, aA, aV, b1, b2, b3, b4

Receptores de Factores de crecimiento	BFGF-R, PDGF-R
Otros receptores	Thy-1, IFN-gR, TGF-bR, TNF-R

(Kode J. et. al., 2009)

Las características de las células mesenquimales, como de la mayoría de las células madre, se sabe que están reguladas por un microambiente, compuesto por múltiples factores en diferentes concentraciones, que interactúan con estas células, ya sea de forma independiente o, más probablemente, en combinación. Las citoquinas más estudiadas incluyen las interleucinas, quimiocinas y los interferones. Además de los factores solubles, se sabe que están afectadas por la comunicación intercelular. Varias quimiocinas y genes están asociados con la angiogénesis, factor de crecimiento de fibroblastos-2, factor de crecimiento transformante y la hematopoyesis tienen mayor expresión en células madre mesenquimales derivadas de médula ósea. El aumento de expresión de osteopontina (conocida también como sialoproteína ósea la cual une osteoblastos y osteocitos a la matriz extracelular), es un marcador de la osteogénesis y un factor importante para la hematopoyesis, en células mesenquimales de médula ósea sugiere un papel de los diferentes entornos de tejidos en la determinación de las funciones. (Csaki C. et. al., 2008)

### 5.3. Ingeniería Tisular.

En la medicina moderna los términos " medicina regenerativa " e "ingeniería tisular " se han convertido en palabras clave, imaginando nuestra capacidad para crecer y para diseñar tejido funcional *in vitro* que nos permitirá reparar y sustituir el tejido dañado o degenerado en vivo.

La ingeniería tisular puede ser definida como el arte de la reconstrucción de tejidos de mamíferos, tanto estructural como funcionalmente, mientras que este proceso de reconstrucción puede realizarse enteramente *in vitro*, con el tejido maduro, siendo trasplantado, o parcialmente *in vitro* seguido por un proceso de maduración después del trasplante *in vivo*. En muchos experimentos se ha tratado de demostrar los procesos naturales del cuerpo, que, con el fin de sobrevivir, deben ser capaces de reparar y regenerar los tejidos dañados por su sustitución por células progenitoras que tienen la capacidad de diferenciarse en el tipo de célula especializada. La medicina moderna ha mejorado mucho nuestras capacidades en las áreas de diagnóstico, prevención y tratamiento de una amplia gama de enfermedades infecciosas, metabólicas, neurodegenerativas, cardiovasculares, respiratorias y enfermedades cancerosas. (Serigano K. et. al., 2010)

La ingeniería de tejidos se ha desarrollado como un nuevo campo, con la promesa de la construcción *in vitro* de tejido trasplantable conjunto. Básicamente, se requieren tres componentes principales para el éxito de la ingeniería tisular: En primer lugar, una plataforma que proporcione un medio ambiente tridimensional. En segundo lugar, las células apropiadas que son capaces de diferenciarse y mantienen el fenotipo celular específico. En tercer lugar, la adición de las sustancias bioactivas adecuadas, tales como factores de crecimiento, citoquinas u hormonas como un estímulo adecuado para la diferenciación de linaje específico de las



células. Lesiones del tejido conectivo, del hueso, tendón y cartílago representan una gran fracción de la medicina en relación con la ortopedia y la traumatología. Aunque el hueso tiene una alta tasa de rotación, está vascularizado y la formación de callo sucede con bastante rapidez, defectos óseos grandes resultantes de enormes traumas, tumores o metabólico y enfermedades degenerativas tienen una capacidad limitada para la auto-reparación y requieren estrategias de tratamiento especial. Aunque los injertos osteocondrales se han utilizado con éxito durante varias décadas, está a menudo relacionado con daño en el sitio de donación, el aumento del riesgo de infección, inmunoincompatibilidad, rechazo y necrosis del implante. (Marx C. et. al., 2014)

Así también las lesiones en tendón a menudo a consecuencia de micro o macro traumas recurrentes o el efecto secundario del tratamiento antibiótico tales como inhibidores de la girasa o quinolonas presentan otro problema clínico importante, ya que los tendones, como el cartílago, son tejidos con capacidades regenerativas lentos y muy limitadas. Además, el tendón también contiene muy pocas células, los tenocitos, que producen una matriz extracelular altamente especializada. Al igual que con los huesos, las actuales estrategias de regeneración para la reparación del tendón evolucionan en torno al autoinjerto del tendón; sin embargo, recientemente, los tratamientos se han enfocado en la investigación de ingeniería tisular que se aproxima utilizando niveles bio-compatibles y biodegradables en combinación con tenocitos o células mesenquimales. (Kode J. et. al., 2011)

Nuevos entendimientos del desarrollo embrionario y nuevas habilidades técnicas han llevado a la aproximación terapéutica de la reparación de tejido conectivo a través de la ingeniería de tejidos, abriendo así un totalmente nuevo punto de partida para la reparación del cartílago. La necesidad de estrategias efectivas de reparación del cartílago ha ido aumentando de forma continua, como el aumento de los casos de osteoartritis en animales de compañía. (Serigano K. et. al., 2010)

Por otro lado los recientes avances en la biología molecular y la medicina regenerativa han dibujado una atención a las células madre mesenquimales, debido a que estas células inmaduras permanecen pluripotentes, capaces de diferenciarse en hueso, cartílago, o células grasas en función de su tratamiento. Estas células son también inmunotolerantes. Se ha publicado la capacidad para facilitar aplicaciones clínicas, son fácilmente cosechadas, y el aislamiento y la cultura extracorpórea son relativamente simples, que no requiere altamente procedimientos especializados. Un número de estudios básicos se han realizado utilizando trasplantes de células mesenquimales contra la enfermedad intervertebral degenerativa en conejos donde se demostró por radiología, histología y bioquímica que este procedimiento suprime la degeneración. También se analizó la diferenciación de las células mesenquimales trasplantadas en células de núcleo pulposo, estableciendo que hubo evidencia donde se expresaron marcadores para estas células, lo que indica que la diferenciación de las células madre mesenquimales depende de su medio ambiente. Estos investigadores también examinaron el privilegio inmune de tejido de los conejos afectados por enfermedad intervertebral degenerativa, en particular el núcleo pulposo, incluyendo las características

anatómicas que separan tejido del disco desde el sistema inmune del huésped. (Csaki C. et. al., 2008)

Después de estímulos, incluyendo lesión mecánica, inflamación, infección y el cáncer, se cree que las células madre mesenquimales pueden migrar de su lugar de origen e injertarse al sitio de la lesión, que conduce a la reparación de tejidos. Los eventos de señalización exacta que impulsan a estas células para reparar el daño, son desconocidos. Esta propiedad se ha aplicado para su uso como agentes de entrega terapéuticos que ayudan en la reparación de tejidos dañados. (Blank L. et. al. 2007)

### **5.5. Regeneración de Tejidos**

Las células madre están siendo consideradas como herramientas para la sustitución, reparación, regeneración y rejuvenecimiento de las células y los tejidos degenerados, heridos o incluso muertos. En tales casos, se han propuesto las células madre para ser utilizadas como terapia de reemplazo. Mediante el aislamiento de células madre, se cree que las nuevas células del corazón podrían ser cultivadas para reparar los daños de ataques al corazón, o las células del hígado para tratar la cirrosis. Una vez implantado, las células madre son capaces de interactuar con el microambiente que rodea y facilitar la regeneración del tejido vecino mediante la secreción de ciertos factores y la renovación de funciones biológicas, tales como el sistema inmune, o actuando tróficamente para apoyar y rejuvenecer células huésped. Varios estudios in vitro y en animales han determinado la viabilidad del trasplante de células madre mesenquimales (MSC). (Gattegno-Ho D. et. al., 2012)

Estas propiedades han llevado a la conclusión de que el MSC puede tener un papel importante en la reparación de tejidos y la regeneración. La terapia de células madre eficaz descansa fundamentalmente en la combinación optimizada de dos elementos clave: la población de células de origen y el entorno en el que se colocan las células. Dos enfoques diferentes se pueden prever: 1) la implantación de las células madre de tejidos restringido o progenitores que diferenciarán algún tiempo después del trasplante; y 2) el trasplante de células madre diferenciadas después de la manipulación in vitro. La elección dependerá de nuestro conocimiento del sistema celular y su origen. Los estudios deben evaluar el potencial de diferenciación de MSC en condiciones in vitro, así como examinar las bases para la maduración in vivo en animales. Más estudios con sistemas indicadores fuertes deberían probar el potencial de MSC y ayudar en la regeneración de tejidos en modelos animales. (Martinello T. et. al., 2010)

## Condrogénesis

*In vivo* la diferenciación de las MSC se inicia a través de una interacción de señales moleculares emitidas a partir de células de tejido que se transforman de un tipo de señal a otro a través de ya sea una vía extra o intracelular cercana. La diferenciación de las MSC puede entonces ser inducida a través de la estimulación de receptores de superficie de células madre, citoquinas y factores de crecimiento solubles, a través de las proteínas, tales como proteoglicanos y colágenos o a través de la interacción directa con proteínas de la superficie de las células vecinas, como los condrocitos. Por lo tanto, los intentos presentes *in vitro* para la diferenciación condrogénica de las MSC se basan en el conocimiento del desarrollo homeostasis y función *in vivo* del cartílago. Por lo tanto, la diferenciación condrogénica de las MSC *in vitro* se lleva a cabo principalmente en un entorno tridimensional que es el sistema más frecuentemente usado. (Csaki C. et. al., 2008)

En 1997 Caplin *et al.* describieron un enfoque experimental para la regeneración de tejidos cartilaginosos utilizando. Las cuales desde entonces han demostrado poder diferenciarse en osteoblastos, condrocitos y adipocitos bajo condiciones de cultivo adecuadas *in vitro*. La diferenciación condrogénica de las MSC también requiere un entorno de cultivo tridimensional *in vitro*, lo que demuestra que la densidad celular, el contacto y la topografía contribuyen al proceso. El punto final es la acumulación de productos génicos de la matriz del cartílago como se demuestra por la expresión génica, la inmunotinción de aggrecan y colágeno tipo II. El potencial condrogénico de las células parece estar relacionado a la expresión del marcador de superficie celular y un receptor. Hay una serie de preguntas que siguen sin respuesta en relación con la traducción de la investigación *in vitro* para el escenario *in vivo*. No se sabe de manera concluyente si la diferenciación de las MSC será esencial en aplicaciones clínicas para garantizar el compromiso de linaje apropiado y para evitar la formación no deseada de tejido heterotípico. Tampoco se conoce si las MSC indiferenciadas se diferencian en las células huésped, es decir, condrocitos, y el papel de los factores de crecimiento en las células huésped implantadas. (Bogso A. et. al., 2004)

## 5.6. Fuentes convencionales y alternativas de células madre mesenquimales en tejidos adultos.

### Fuentes Convencionales.

Desde los primeros estudios realizados por Friedenstein y Owen, se encontró que la población de células que se adhería al plástico en cultivo era heterogénea, tanto en morfología como en capacidad de diferenciación. Estos dos autores, por un lado, y más tarde Kuznetsov, demostraron que no todas las unidades formadoras de fibroblastos o CFU-F tenían el mismo potencial para dar origen a células de distintos linajes. Por lo tanto, se hizo necesario estandarizar las condiciones para cultivarlas y diferenciarlas *in vitro*. Friedenstein *et al.* fueron los primeros en obtener, de manera consistente, células adherentes de médula ósea, las cuales incluían a las células troncales mesenquimales; hasta la fecha, ese método de obtención sigue siendo utilizado. La metodología establecida por Friedenstein consistía en cultivar células provenientes de médula ósea, en específico de la epífisis femoral de organismos adultos donde predominaban las CFU-F. (Flores-Figueroa E. et. al., 2006)

Aunque algunos estudios demuestran que las células con características de células madre se han aislado de muchos tejidos adultos diferentes, incluyendo médula ósea, hígado, pulpa de los dientes, periostio, piel, tejido adiposo, músculo esquelético y almohadilla de grasa sinovial. Estas células también se han encontrado en el cartílago, aunque en pequeño número, pero pueden representar una fuente potencial de células para algunos procedimientos. La elección de la fuente de células madre está determinada por la facilidad de cosecha, densidad de población y potencial de diferenciación, ya que sus capacidades varían por ser de diferentes fuentes tisulares. Las MSC derivadas de médula ósea y gras sinovial han mostrado mejores resultados. Las células madre derivadas de médula ósea han sido ampliamente estudiadas y hay una gran cantidad de información en la literatura. La mayor parte de la investigación preclínica en MSC ha utilizado células derivadas de la médula ósea en conejos. (Bogso A. et. al., 2004)

Desafortunadamente, la recolección de la médula ósea es dolorosa con riesgo en el sitio donante, riesgo de infección de la herida y sepsis. Con el aumento de la edad también hay un descenso en el número, vida útil, proliferación y potencial de diferenciación de MSC. Así, una fuente alternativa de células fácil de obtener con un pequeño riesgo de complicaciones, pero con un alto rendimiento, proliferación y diferenciación celular sin disminución relacionada con la edad sería ideal para permitir terapias óptimas de reparación de tejidos basados en células en una población que envejece. Sin embargo, las MSC extraídas de la almohadilla de grasa sinovial y tejidos adiposos específicos han sido inducidos en fenotipo condrogénico, osteogénico, adipogénico y utilizando medios adecuados estas células han demostrado capacidad para mantener su potencial de diferenciación y pueden tener un mejor potencial condrogénico de las MSC derivadas de médula ósea. En comparación con la médula ósea, se informó almohadilla de grasa sinovial y tejido graso específico puede dar un mayor rendimiento de las células formadoras de colonias adherentes. (Khan W. et. al., 2010)

### Fuentes Alternativas

Algunos investigadores han detectado células en la circulación que presentan características y fenotipo semejante al de las MSC de la medula ósea. Se ha informado la presencia de este tipo de células en la sangre periférica de individuos adultos. Estas células son capaces de expresar fibronectina y colágeno tipo I, así como otros marcadores de membrana. Se ha publicado la posibilidad de encontrar este tipo de células en tejidos como las paredes de las venas y sangre del cordón umbilical, fluido amniótico, gelatina de Wharton, etc. Aunque no se tienen reportes certeros de la eficacia de estas fuentes, sin embargo, un estudio reciente realizado por un grupo alemán reporta que no existen diferencias inmunofenotípicas entre las MSC de medula ósea, sangre de cordón umbilical y tejido adiposo; sus resultados indicaron que las MSC de sangre de cordón umbilical tienen un mayor potencial de expansión, pero un menor potencial de diferenciación, al no encontrar diferenciación al linaje adipocítico. (Flores-Figueroa E. et. al., 2006)

## **CRITERIOS DE EVALUACIÓN PARA LA ELECCIÓN DE PACIENTES CANDIDATOS A LA TERAPIA CON CÉLULAS MADRE.**

Los criterios de evaluación para la elección de pacientes candidatos a la terapia con células madre dependen específicamente del médico veterinario que realice el tratamiento. Existen criterios avalados por algunas organizaciones que pueden dar una idea un poco más precisa de la forma correcta en la que estos pacientes deberían ser seleccionados para este tipo de terapia. Antes de llevar a cabo una evaluación específica en el paciente para determinar el tipo de tratamiento que será utilizado contra los procesos degenerativos que están afectando sus articulaciones, así como el tipo de procedimiento terapéutico a largo o corto plazo, es de vital importancia no perder de vista los puntos primordiales de la examinación general del paciente, lo que nos ayudara a la obtención de un diagnóstico y tratamiento certero que evitara complicaciones posteriores y dará la pauta para la toma de decisiones en base a los padecimientos encontrados.

### **EVALUACION GENERAL DEL PACIENTE**

- Historia Clínica.
  - Examen Físico General.
  - Examen del Aparato locomotor: Incluyendo movilidad articular, dolor a la manipulación y/o incapacidad funcional.
  - Estudio Radiológico.
  - Examen Hematológico.
- (Blank L. et. al., 2007)

Una vez habiendo sido correctamente diagnosticada la enfermedad degenerativa crónica articular del paciente, es necesario proceder a la evaluación específica, la cual mostrara mediante evidencias diversas las opciones de tratamiento, particularmente si es apto a la alternativa terapéutica con células troncales. (Guercio A. et. al., 2012)

A nivel internacional se han establecido esquemas para el control de las enfermedades hereditarias, entre ellas, la displasia de cadera. Dentro de los cuales se encuentran registros creados para evitar que los perros afectados sean utilizados en programas de reproducción o bien, para tener una noción más a detalle de los mecanismos de evaluación considerando diferentes criterios. (Keller G. et. al., 2011)

#### **Control de displasia de cadera en Suecia**

Desde los primeros intentos para controlar la displasia de cadera realizados por el Swedich Kennel Club (Kennel Club de Suecia) en 1958, se sugirió que el nivel de transmisibilidad era de alrededor de 0.4 a 0.6 indicando el porcentaje de influencia genética. Los registros hechos por esta asociación establecieron uno de los primeros programas para el control de enfermedades óseas y articulares hereditarias, el cual, con ayuda de bases de datos desde 1970, ha mostrado

el efecto del sexo sobre la prevalencia de la displasia de cadera, las razas que están más predispuestas a presentar esta afección, así como un progreso paulatino en la erradicación de la displasia de cadera que depende en la consistencia de seguir el plan reproductivo basado en los descubiertos hechos gracias a un diagnóstico certero. (Morgan J. et. al., 2013)

#### Federación Cinológica Internacional (FCI)

El comité científico de la Federación Cinológica Internacional realizó su primer taller en 1974, para tratar el problema de displasia de cadera. Ellos asignaron a uno o más expertos en diferentes países para evaluar radiográficamente y firmar certificados en relación a la displasia de cadera.

En 1991, los 15 miembros de los países de la FCI recomendaron las siguientes reglas para las evaluaciones adecuadas.

1. La edad mínima para el diagnóstico es de 1 año; para las razas gigantes es de 11/2 años.
2. Los perros deben ser identificados por un sistema de registro.
3. En las radiografías deben estar los datos de identificación.
4. El propietario debe firmar para confirmar que el perro está siendo evaluado
5. La radiografía debe ser almacenada en una central.
6. El diagnóstico final se debe basar al menos en una radiografía posición I (con los miembros posteriores extendidos). Se puede utilizar una segunda posición, la II (con miembros posteriores flexionados).
7. La placa debe incluir ambas articulaciones coxofemorales y ambas patelas.
8. Buena técnica radiográfica.
9. Las radiografías deben ser interpretadas por el panel asignado.
10. Cada panel nacional debe tener una posibilidad de apelar, pudiendo ser remitida al panel de displasia de cadera correspondiente al Comité Científico de la FCI.

Los criterios utilizados por esta asociación son:

CRITERIO	CLASIFICACION	INTERPRETACION/ DESCRIPCION
A	Sin signos de displasia de cadera	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cabeza femoral y acetábulo congruentes</li> <li>• Borde craneolateral neto y ligeramente redondeado.</li> <li>• El espacio articular angosto.</li> <li>• El ángulo de Norberg es de 105°</li> </ul>
B	Caderas casi normales	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cabeza femoral y acetábulo con leve incongruencia</li> <li>• El ángulo de Norberg es aprox. 105°</li> <li>• El centro de la cabeza femoral se encuentra medial al borde dorsal del acetábulo y la cabeza femoral y el acetábulo son congruentes.</li> </ul>
C	Displasia de cadera	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Cabeza femoral y acetábulo incongruentes</li> </ul>

	leve	<ul style="list-style-type: none"> <li>• El ángulo de Norberg es de aprox. 100° y/o hay un leve aplanamiento del borde craneolateral del acetábulo.</li> <li>• Pueden presentarse irregularidades correspondientes a signos leves de cambios artrósicos en los bordes acetabulares craneal, caudal o dorsal o en la cabeza y el cuello femorales.</li> </ul>
D	Displasia de cadera moderada	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Incongruencia obvia entre la cabeza femoral y el acetábulo.</li> <li>• El ángulo de Norberg superior a 90°</li> <li>• Se observa aplanamiento del borde cráneo/lateral y/o signos artrósicos.</li> </ul>
E	Displasia de cadera grave	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Importantes cambios displásicos de la cadera, tales como luxación o importante grado de subluxación.</li> <li>• El ángulo de Norberg es menor a 90°</li> <li>• Aplanamiento obvio del borde acetabular craneal, deformación de la cabeza femoral (forma de hongo, aplanamiento) u otros signos de artrosis.</li> </ul>

(Hou Y. et. al., 2013)

#### Asociación Veterinaria Británica y el Kennel Club

El Dr. M. B. Willis efectuó un abordaje de parte de la German Shepherd Dog Improvement Foundation (Fundación para el mejoramiento del pastor alemán) la cual fue la primer asociación dedicada a displasia de cadera en la Gran Bretaña, para la Asociación Veterinaria Británica con el fin de modificar el esquema original a uno de graduación de forma tal que podría producirse una clasificación para los perros examinados. El criterio para cada característica fue diseñado por separado, ya que se los cambios estructurales que ocurrían no seguían un patrón regular sino que a veces eran más evidentes en una parte de la articulación que en otra. Estos criterios incluyen:



Puntaje	Angulo de Norberg	Subluxación	Borde Acetabular Craneal	Borde Acetabular Dorsal	Angulo Acetabular Craneal	Fosa Acetabular	Borde Acetabular caudal	Exostosis en cabeza y cuellos femorales	Remodelación del contorno de la cabeza femoral
0	+15% y mas	Cabeza femoral bien centrada en el acetábulo	Curvo y paralelo a toda la cabeza femoral	Presenta leve curvatura	Bordes netos y unión precisa con bordes acetabulares Craneal y Caudal.	Fina curva medial y caudal desde el extremo caudal hasta el borde acetabular craneal	Línea limpia.	Perfil redondeado y liso.	-
1	+10% a +14%	El centro de la cabeza femoral se ubica medial al borde acetabular dorsal.	Es plano y lateral o el espacio articular medial con leve divergencia.	Perdida de la curva en S. Presencia de otro cambio displásico	Pequeña exostosis o muy pequeña carilla hacia el borde acetabular craneal	Leve aumento de la densidad ósea medial a la fosa acetabular. Línea fina confusa o perdida	Pequeña exostosis lateral al borde acetabular craneal	Leve exostosis en forma de anillo.	La cabeza femoral no es un círculo debido a la exostosis o a la pérdida del hueso.
2	+5% a +9%	Centro de la cabeza femoral superpuesto o con el borde acetabular Espacio articular medial.	Plano en la mayor parte de su extensión.	Pequeña exostosis en la porción craneal del borde acetabular dorsal.	Pequeña exostosis o muy pequeña faceta y/o leve bilabiación.	Fosa acetabular con pérdida de la línea fina y borde acetabular ventral confuso debido a la exostosis.	Pequeña exostosis lateral y medial al borde acetabular caudal.	Leve exostosis visible en la línea del horizonte y/o densidad sobre la cabeza femoral medial.	Algo de pérdida ósea y/o anillo de exostosis en la cabeza/ cuello femoral
3	0% a +4%	Centro de la cabeza femoral ubicada justo lateral al borde acetabular dorsal. Cabeza femoral dentro del acetábulo	Aplanado y con leve bilabiación,	Exostosis obvia sobre el borde acetabular dorsal, en especial hacia craneal, y/o perdida menor del borde.	Faceta y/o pequeña exostosis y/o bilabiación.	Remodelación incompleta del acetábulo con la cara medial lateral a la fosa acetabular. Perdida del borde acetabular ventral. Escotadura irregular.	Gran exostosis y escotadura estrecha en el borde acetabular caudal	Exostosis identificable en formación de anillo	La pérdida del hueso obvia y la exostosis le da un aspecto cónico.
4	-1% a -5%	Centro de la cabeza femoral claramente lateral al borde acetabular dorsal ¼ de la cabeza femoral dentro del acetábulo	Aplanado y con moderada bilabiación.	Exostosis bien lateral al borde acetabular dorsal y/o moderada perdida del borde.	Faceta obvia y/o exostosis obvia y/o importante bilabiación.	Importante remodelación. La cara medial del acetábulo se encuentra claramente medial a la fosa acetabular ventral.	Importante exostosis y formación de "ganchos" en el extremo lateral del borde acetabular caudal	Exostosis obvia y completa en "collar"	Remodelación muy importante con gran pérdida de hueso y mucha formación de exostosis
	-6% a -10%	Centro de la cabeza femoral	Aplanado y grosera bilabiación.	Importante exostosis a todo lo	Grosera exostosis y/o facetas y/o	Grosera remodelación. Formación de	Importante distorsión debido a	La masiva exostosis le da un	Remodelación muy importante

5		bien lateral al borde acetabular dorsal. Cabeza femoral justo con el límite de dicho borde		largo del borde acetabular dorsal y/o importante pérdida del borde.	grosera bilabiación.	hueso denso en todo el acetábulo. La fosa acetabular esta oculta.	la masa de hueso nuevo desarrollado en el acetábulo. Escotadura a pérdida completa.	aspecto de hongo	con gran pérdida del hueso y mucha formación de exostosis
6	-11% y más	Luxación completa	Todo el borde presenta una inclinación craneal	Masiva exostosis desde el extremo craneal hasta el caudal del borde acetabular	Completa remodelación del ángulo craneal. Masiva exostosis y/o faceta grosera	Remodelación completa y nueva superficie articular, bien lateral a la fosa acetabular.	-	Masiva exostosis y rellenado de la fosa trocantérica y por debajo de la cabeza f	La cabeza femoral tiene una forma inapropiada debido al mal desarrollo de la c.f.

**CONTROL DE LA DISPLASIA DE CADERA EN SUIZA**

En contraste con la visión británica, con nueve parámetros radiográficos que fueron puntuados de 0 a 6, en el sistema puesto solo ese especificaron 6 parámetros para graduar en una escala de puntos de 0 a 5, 0 indicando el normal y 5 el parámetro patológico más grave.

<b>ESCALA</b>	<b>PARAMETROS</b>
1	Angulo de Norberg
2	Relación del centro de la cabeza femoral con el borde acetabular dorsal
3	Características del borde craneolateral del acetábulo
4	Características del hueso acetabular subcondral craneal
5	Características de la cabeza y el cuello femorales.
6	Presencia de la línea de Morgan.

(Morgan J. et. al., 2001)

**Penn HIP**

En 1993 se estableció el programa de mejoramiento de la cadera de la Universidad de Pennsylvania (Penn HIP) en un esfuerzo colaborativo de los veterinarios académicos y de la práctica privada, para facilitar la transferencia controlada de la tecnología a múltiples centros de la utilización pública. El programa fue diseñado para disminuir la frecuencia de la presentación de displasia de cadera. Se base en la obtención de registros para investigar los aspectos genéticos de la laxitud pasiva de la cadera, tanto en forma individual como de raza. (Marx C. et. al., 2014)

**FUNDACION ORTOPEDICA PARA LOS ANIMALES, INC.**

La Orthopedic Foundation for Animals (OFA) es una fundación privada sin fines de lucro establecida por un prominente hombre de negocios en los Estados Unidos, John M. Olin, el cual fue también un ávido deportista y reconoció el impacto de la displasia de cadera canina en sus perros labradores. Junto con el Club Golden Retriever de América, Club de pastor alemán de América y la comunidad veterinaria, organizo una reunión que finalmente llevó a la formación de la Fundación ortopédica para los animales (OFA) en 1966. La OFA se guía por los siguientes objetivos específicos:

1. Para recopilar y difundir información relativa a las enfermedades ortopédicas y genéticas de los animales.
2. asesorar, estimular y establecer programas de control para reducir la incidencia de enfermedades ortopédicas y genéticos.
3. Fomentar y financiar la investigación en la enfermedad ortopédica y genética en los animales.
4. Para recibir los fondos y hacer donaciones para llevar a cabo estos objetivos

Para evaluar la displasia de cadera, la OFA emplea el posicionamiento de la cadera extendida ventrodorsal recomendado por la Asociación Americana de Medicina Veterinaria (AVMA). El radiólogo de la asociación es el único evaluador para la evaluación preliminar de los perros <24 meses de edad. La fiabilidad de las evaluaciones preliminares de la cadera se ven influenciadas por la edad. Los perros y gatos deben ser mayores a 24 meses de edad para recibir la certificación de la cadera OFA. Las radiografías son evaluadas de forma independiente por tres radiólogos veterinarios certificados por la junta de un grupo de consultores que mantiene la OFA. La calificación de consenso de estos tres radiólogos se convierte en la calificación de la cadera que se informa al propietario y veterinario de referencia. Existen siete clasificaciones utilizados por la OFA para evaluar displasia de cadera: Excelente, Bueno, Regular, límite, leve, moderada o severa. Las tres primeras clasificaciones se consideran ser normal, mientras que las últimos tres puntuaciones se consideran como displásicas. Una calificación límite se da cuando no hay un consenso claro entre los radiólogos para colocar las caderas en una categoría de normal o displásicas. Se recomienda que los perros con esta clasificación tengan una radiografía de repetición la cual debe ser presentada después de un mínimo de 6 meses. (Keller J. et. al., 2011)

Algunos de los artículos publicados muestran distintos criterios de evaluación en los pacientes lo que los hacen candidatos o no para este tipo de terapia.

En el invierno del 2007 la revista *Veterinary Therapeutics* publica el artículo *Effect of Adipose-Derived Mesenchymal Stem and Regenerative Cells on Lameness in Dogs with Chronic Osteoarthritis of the Coxofemoral Joints: A Randomized, Double-Blinded, Multicenter, Controlled Trial*, dirigido especialmente por investigadores de la compañía americana Vet-Stem, Inc. y colaboradores, en el cual se describen algunos puntos importantes para llevar a cabo el estudio y determinar la eficacia del uso de células madre en problemas de osteoartritis en la articulación coxofemoral en perros de algunas razas específicas (Akita, Boxer, Pastor Aleman, Gigante de los pirineos, Labrador Retriever, Rottweiler, Golden Retriever, Weimaraner, entre otros). Se requirió el uso de 21 perros (14 hembras y 7 machos) con un rango de edades de 1 a 11 años. Los pacientes fueron sometidos a estudios hematológicos para comprobar su estado de salud, así como aquellos que establecieran pautas que determinaran cambios característicos de osteoartritis, entre ellos:

- Claudicaciones persistentes al paso o al trote
- Dolor a la manipulación sobre la articulación afectada
- Rango limitado en el movimiento con dolor

- Discapacidad funcional con rigidez muscular.

Cada uno de los casos que fue aceptado demostró, bajo evidencia radiográfica, enfermedad degenerativa de las articulaciones de grado 2 o más alto de acuerdo a la siguiente escala de puntuación:

**0** = Articulación normal.

**1** = Evidencia radiográfica de inestabilidad; cambios degenerativos (sin presencia de osteofitos)

**2** = Cambios degenerativos ligeros (osteofitos ocasionales).

**3** = Cambios degenerativos moderados (Osteofitos, esclerosis subcondrial)

**4** = Cambios degenerativos severos (Osteofitos, esclerosis subcondrial, regeneración ósea)

Los pacientes excluidos en el estudio fueron aquellos que presentaron enfermedades infecciosas micóticas, bacterianas o virales, así como neoplasias malignas o cualquier enfermedad sistémica severa que pudiera alterar la interpretación de los resultados encontrados. Para los perros tratados con antiinflamatorios no esteroideos se requirió que no lo tomaran por lo menos 14 días antes de la realización del estudio lo que hacía que los niveles de medicamento disminuyeran. Las inyecciones de ácido hialorónico y glucosaminoglican polisulfato o cualquier otra alternativa de tratamiento como la acupuntura fueron descontinuados en todos los perros días antes de la inscripción a este estudio. La evaluación veterinaria incorporo la historia clínica, la examinación física, así como la evaluación específica, incluyendo movilidad, respuesta al dolor a la manipulación y discapacidad funcional. Cabe señalar que estos evaluadores utilizaron la siguiente escala, la cual también ha sido utilizada por la Veterinary Orthopedic Society of America (Sociedad Ortopédica Veterinaria de los Estados Unidos).

Estos son:

<b>CRITERIO</b>	<b>GRADOS</b>
COJERA AL PASO Y AL TROTE	1. Normal 2. Intermitente 3. Persistente 4. No soporte de peso 5. Solo con asistencia ambulatoria 6. No ambulatorios
DOLOR A LA MANIPULACION	1. Sin dolor 2. Leve 3. Grave
AMPLITUD DE MOVIMIENTO	1. Normal 2. Dolor solo en el rango de movimiento completo

	<ol style="list-style-type: none"> <li>3. Dolor en menos del rango de movimiento completo</li> <li>4. Dolor en cualquier manipulación de la articulación.</li> </ol>
INCAPACIDAD FUNCIONAL	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Normal sin rigidez</li> <li>2. Marcha forzada perceptible</li> <li>3. Rígida. Notable al caminar o correr</li> <li>4. Muy rígida. Se rehúsa a caminar o correr por si solo</li> <li>5. No se levanta para ni para caminar. Requiere asistencia.</li> </ol>
COJERA AL PASO Y AL TROTE	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Normal</li> <li>2. Intermitente</li> <li>3. Persistente</li> <li>4. No soporte de peso</li> <li>5. Solo con asistencia ambulatoria</li> <li>6. No ambulatorios</li> </ol>
DOLOR A LA MANIPULACION	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Sin dolor</li> <li>2. Leve</li> <li>3. Grave</li> </ol>
AMPLITUD DE MOVIMIENTO	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Normal</li> <li>2. Dolor solo en el rango de movimiento completo</li> <li>3. Dolor en menos del rango de movimiento completo</li> <li>4. Dolor en cualquier manipulación de la articulación.</li> </ol>
INCAPACIDAD FUNCIONAL	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Normal sin rigidez</li> <li>2. Marcha forzada perceptible</li> <li>3. Rígida. Notable al caminar o correr</li> <li>4. Muy rígida. Se rehúsa a caminar o correr por si solo</li> <li>5. No se levanta ni camina. Requiere asistencia.</li> </ol>

(Blank L. et. al., 2007)

## **METODOLOGÍA Y PROCESAMIENTO DE TEJIDO GRASO PARA LA EXTRACCIÓN DE CÉLULAS MADRE SOMÁTICAS.**

La ingeniería de tejidos de hueso es un campo en rápido crecimiento y posee un enfoque prometedor. En la ingeniería de tejidos, las células, la matriz extracelular, y los factores de crecimiento se combinan para diseñar nuevos materiales de injerto que pueden inducir la regeneración y reparación de tejidos basado en el potencial de curación natural. Hay un gran debate acerca de la fuente ideal de células osteoprogenitoras para su uso en la ingeniería de tejidos esquelético. Las células madre embrionarias son el estándar de oro de multipotencialidad y se derivan de la masa celular interna del blastocito. Se sabe que estas células tienen la capacidad de diferenciarse en múltiples tejidos a partir de las tres capas germinales embriológicas. Sin embargo, existen factores como la posibilidad de infección, la inmuno reacción y la posibilidad de causar tumores que han limitado la aplicación de las células madre embrionarias. Por otro lado las células somáticas, derivadas de diferentes tejidos, tienen la capacidad única de auto renovarse y diferenciarse en diversos fenotipos. Estas células tienen el potencial para la terapia celular y la ingeniería de tejidos. El tejido adiposo es una fuente adecuada de células madre mesenquimales (MSCs) con gran potencial de diferenciación. La reparación de defectos óseos sigue siendo una parte difícil de muchos procedimientos reconstructivos. El uso de hueso autólogo es el estándar de oro para el injerto de defectos óseos. (Pourebrahim N. *et al.*, 2013)

La osteoartritis en perros ha sido caracterizada por sinovitis y degeneración del cartílago articular con pérdida de la matriz dando como resultado una pérdida completa de la superficie articular. Las células del cartílago mantienen la homeostasia sintetizando y degradando la matriz extracelular dado por la secreción de macromoléculas (colágeno, Glucosaminoglucanos y ácido hialurónico) y modulando el reemplazo de la matriz extracelular. La secreción de condrocitos puede ser lítica y producir mediadores que dañan los tejidos (citoquinas, radicales libres, proteasas, prostaglandinas) los cuales son controlados por un equilibrio anabólicos y por sustancias reparadoras (factores de crecimiento, inhibidores de citocinas catabólicas) así como por inhibidores de enzimas degenerativas. En la osteoartritis, existe una sobreproducción de mediadores proinflamatorios que actúan en combinación con los inhibidores, lo que resulta en un saldo a favor del catabolismo en lugar del anabolismo, que a su vez conduce a la destrucción progresiva del cartílago articular. Dado al número de perros afectados con Osteoartritis y evidencias que sugieren que los AINES muchas veces no proporcionan alivio completo del dolor, el uso de células madre mesenquimales puede proporcionar una alternativa terapéutica. (Blank L., 2008)

A nivel internacional, la terapia con células madre mesenquimales ha sido utilizada en distintos tipos de afecciones que provocan degeneración a nivel articular, sin embargo, no

todas las técnicas utilizadas se han manejado de la misma manera por lo que los resultados de cada una de ellas ha variado en relación a los datos obtenidos.

En el 2006 la Revista de Investigación Clínica publica bajo la colaboración del hospital de oncología del Centro Médico Nacional Siglo XXI un artículo sobre células troncales mesenquimales en donde se describen los métodos de obtención de estas células desde los primeros estudios que fueron realizados por Friedenstein y Owen, los que encontraron que la población de células que se adhería al plástico en cultivo era heterogénea, tanto en morfología como en capacidad de diferenciación. Estos autores, por un lado, y más tarde Kuznetsov, demostraron que no todas las unidades formadores de colonias de fibroblastos o CFU-F tenían el mismo potencial para dar origen a células de distintos linajes, por lo tanto, se hizo necesario estandarizar las condiciones para cultivarlas y diferenciarlas *in vitro*. La metodología establecida por Friedestein consistía en cultivar células provenientes de médula ósea de organismos adultos, después de un lapso de tiempo retiraba todas las células en suspensión y cultivaba a las células adheridas a la caja de cultivo. Las células adherentes eran heterogéneas, sin embargo, después de varias resiembras, predominaban células que crecían en forma de colonias fibroblastoides, denominadas células clonogénicas progenitoras de fibroblastos o unidades formadores de colonias de fibroblastos. Caplan *et al.* (Época de los 90's) desarrollaron una metodología modificando el método utilizado por Friedestein la cual consistía en obtener médula ósea de aspirados de cresta iliaca de donadoras sanos y células de la medula de la epífisis femoral. Las células se obtenían en la fracción de baja densidad de un gradiente de Percoll. Después de tres días de cultivo las células no adherentes eran removidas y las células adherentes seguían siendo cultivadas *in vitro*. Los autores encontraron que de todas las células mononucleares sembradas, únicamente una baja proporción tenía la capacidad de adherirse y formar colonias. La mayor parte de las células adheridas tenía una morfología fibroblastoide, con pocas células poligonales, adipocíticas o redondas. La frecuencia que reportaron fue de 1 a 5 CFU-F por 100,000 células nucleadas de médula ósea que fueron sembradas. Las colonias se formaban entre los 14 y 21 días; sin embargo, después de ese periodo se daba un crecimiento exponencial y las células cubrían rápidamente el área de cultivo. Actualmente, algunos grupos continúan utilizando gradientes de Percoll para obtener las MSC, sin embargo, otros grupos han utilizado gradientes de Ficoll. Majumdar en 1998, realizó una comparación entre ambos métodos y encontró que al utilizar el gradiente de Percoll se obtenía una población más homogénea y pura de MSC; sin embargo, en este estudio también se utilizaron medios de cultivo diferentes, por lo que los datos no pueden ser concluyentes. En la actualidad, ambos métodos son aceptados. Los métodos de separación celular empleados se basan tanto en algunas características físicas de las células, como su tamaño, así como en características inmunofenotípicas. De acuerdo con su inmunofenotipo, las células pueden ser seleccionadas por dos métodos denominados selección positiva o selección negativa, ambos métodos requieren del uso de un citómetro de flujo o de una columna inmunomagnética. La selección positiva se basa en el reconocimiento por un anticuerpo de una molécula presente en la célula de interés. Este método es muy útil cuando el antígeno utilizado para reconocer a la célula se expresa únicamente en la célula de interés, puesto que, de lo

contrario, se seleccionarían varios tipos celulares. El inconveniente de la selección positiva es que hasta la fecha no se cuenta con un anticuerpo que reconozca únicamente a MSC. La selección negativa, por otra parte, se basa en la eliminación de células distintas a la población de interés. En el caso específico de MSC, se utilizan anticuerpos dirigidos contra macrófagos, linfocitos, megacariocitos y células endoteliales. (Flores-Figueroa E. *et al.* 2006)

En el invierno del 2007 Veterinary Therapeutics publica bajo la colaboración de laboratorios como Vet-Stem, Inc y el Animal Anesthesia and Pain Management Center, entre otros, el artículo "*Effect of Adipose-Derived Mesenchymal Stem and Regenerative Cells on Lameness in Dogs with Chronic Osteoarthritis of the Coxofemoral Joints: A Randomized, Double-Blinded, Multicenter, Controlled Trial*" donde se describe detalladamente el proceso de extracción y tratamiento de células troncales sobre un experimento realizado a 23 perros. Este método consistió en aislar células madre mesenquimales de un mínimo de 23 g de grasa obtenida de cada paciente. Esta muestra fue colectada del grupo control y del experimental de la región abdominal, inguinal o de las paredes torácicas. Se realizó una pequeña incisión de aproximadamente 5 cm la cual fue tomada con el paciente anestesiado y con previa asepsia de la zona incidida. El tejido adiposo fue colocado en un tubo estéril que contenía 15 ml de buffer fosfato salino (PBS). Fue almacenado en un ambiente a temperatura controlada (2°C) y transportado para su procesamiento. Este consistió en lavar varias veces el tejido adiposo con PBS para remover remanentes y exceso de sangre. El tejido fue macerado para posteriormente ser digerido enzimáticamente usando una combinación de colagenasas y hialurodinasa a 37°C por 50 minutos con agitación. La mezcla fue centrifugada a 400 xg por 15 min, el paquete celular fue mezclado con PBS y separado. Este último paso se llevó a cabo un total de 4 veces. Se evaluó una parte proporcional de la suspensión celular final para la viabilidad con el método de exclusión de azul de tripano (que permite evaluar células vivas de muertas) y rendimiento total de células nucleadas. (Blank L. *et al.* 2007)

Un año más tarde Vet-Stem y sus colaboradores publican por segunda vez en Veterinary Therapeutics un estudio muy similar realizado en perros evaluando en este caso el efecto de la inyección intraarticular de células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo en pacientes con signos clínicos de osteoartritis crónica de la articulación del codo. En dicha publicación el preparado de células troncales se da a partir de la recolección de tejido adiposo obtenido de la región abdominal, inguinal, ligamento falciforme o de la pared torácica de los perros. Como se realizó anteriormente, se hizo una incisión de 5 cm con los mismos procedimientos previos, sin embargo, en este caso se utilizó un mínimo de 15 g de tejido adiposo. Posteriormente fue colocado en las mismas condiciones de 15 ml de PBS con una variación de temperatura de entre 2 a 8° C para su transporte. En el laboratorio el procesamiento del tejido fue el mismo lo que dio por resultado la suspensión celular final compuesta del estroma vascular, que consiste en una mezcla heterogénea de células incluyendo las células madre mesenquimales provenientes de tejido adiposo, las células madre hematopoyéticas, células pre-endoteliales, fibroblastos, pericitos y células endoteliales. (Blank L. *et al.* 2008)



A principios del 2010 el Journal Orthopaedic Research publica un estudio realizado en Japón en el cual se evalúan los efectos del número de células en la trasplatación de células madre mesenquimales sobre modelos de degeneración de disco intervertebral en perros. En este estudio fue necesaria la utilización de 30 perros de la raza Beagle de entre 12 y 18 meses de edad con un peso aproximado de 10 kg. Fueron divididos en grupos de 6. Uno de los grupos no fue sujeto a cirugía. Tres de los grupos con la degeneración discal intervertebral inducida fueron sometidos a la trasplatación de células madre mesenquimales a una concentración de  $10^5$ ,  $10^6$  y  $10^7$  células por disco respectivamente. El grupo D de los grupo control intervenidos con inducción de la degeneración discal no recibió trasplante. Se obtuvieron radiografías laterales e imágenes por resonancia magnética de cada animal. Las células mesenquimales se obtuvieron de la cresta iliaca de cada animal que recibió trasplantes autólogos. Para medir la tasa de supervivencia de las células mesenquimales trasplantadas en la cavidad el núcleo pulposo las células fueron infectadas con un retrovirus vector que expresa a una proteína fluorescente de genes. Posteriormente se realizó un cultivo celular en donde las células autólogas adherentes fueron liberadas enzimáticamente a partir de un cultivo de monocapa y el número designado de células se trasplantaron por vía percutánea en los discos intervertebrales inducidos a la degeneración (L3/4, L4/5 Y L5/6) cuatro semanas antes. Estos se realizaron en los tres discos lumbares en una secuencia al azar utilizando un aguja discograma (calibre 25) guiado por imagen fluoroscópica. (Serigano K. *et al.* 2010)

Con el paso del tiempo se ha encontrado que el campo de células madre en la medicina veterinaria continúa evolucionando rápidamente tanto experimental como clínicamente. Las células madre son lo más utilizado en la medicina veterinaria clínica en aplicaciones terapéuticas para el tratamiento de lesiones del aparato locomotor en caballos y perros según afirmó Stem Cell research and therapy en un artículo publicado en el 2011 en el que se explican a detalle conceptos sobre afectaciones a nivel musculoesquelético y se expone la técnica en donde las células madre mesenquimales derivadas de médula ósea son expandidas en cultivo de médula ósea (BMMSCs) por lo que tienen las ventajas de ser obtenidas de una manera más fácil y relativamente no invasiva. Poseen una mayor capacidad de diferenciarse en diferentes tejidos del sistema locomotor en comparación con otras fuentes. Sin embargo, una de las desventajas es el tiempo requerido para hacerlas crecer (de 3 a 6 semanas desde el aspirado de médula ósea hasta el momento del tratamiento). Estas células son obtenidas del húmero proximal, fémur proximal, o tuberosidad coxal en los perros. Por otro lado se menciona la técnica que utiliza una mezcla de células derivadas de tejido adiposo extirpado quirúrgicamente de caballos o perros las cuales se aíslan y se inyectan en el paciente sin una etapa de cultivo de células. En comparación con las cultivadas de médula ósea, esta técnica tiene la ventaja de suministrar células en un corto periodo de tiempo (48 horas), y se debe recordar que, aunque hay un gran número de células nucleadas recuperadas de la digestión de tejido adiposo, solo un porcentaje son células madre. (Fortier L., *et al.* 2011)

En el año 2012 se lleva a cabo un estudio con el apoyo del departamento de ciencias quirúrgicas y radiológicas y el departamento de anatomía, fisiología y biología celular de la escuela de veterinaria de la Universidad de California publicado en la revista "*Research in Veterinary Science*" donde se mide la proliferación y diferenciación de células mesenquimales del estroma de la médula ósea y del tejido adiposo y la influencia de hipoxia. Las muestras de médula ósea y tejido adiposo fueron recolectadas de perros diagnosticados con ruptura de ligamento cruzado craneal y que fueron sometidos a tratamiento quirúrgico con el consentimiento del dueño. Fuera de la ruptura del LCC los animales eran por lo demás sanos. Se recogieron muestras de cuatro perros adultos entre las edades de 4 a 7 años. Con respecto al aislamiento de células madre somáticas de la médula ósea, los especímenes fueron recolectados de la cresta iliaca por aspiración sobre un medio ambiental oxigenado. Se realizó solo una incisión con un bisturí del número 11 a través de la piel sobre el sitio de aspiración de médula ósea previsto. Una aguja específica del calibre 18 para médula ósea fue necesaria para insertar a través del ángulo de la incisión en la zona plana de la cresta iliaca. Esta aguja fue implantada en el hueso con un ángulo ligeramente medial con presión firme en movimiento de torsión. Al ser penetrada la cavidad medular, se retiró el estilete colocando así una jeringa de 50 ml en el extremo de la aguja. Fueron succionados aproximadamente 15-20 mls de tejido medular en dicha jeringa la cual contenía 10 ml de Heparina (1000 UI/ml, Abraxis, USA). Esta muestra fue mezclada con un volumen igual de solución salina equilibrada de Hank (HBSS, Invitrogen, EE.UU.), fue agitada y centrifugada a 300g durante 15 min. El sobrenadante fue removido, el sedimento fue resuspendido en HBSS y centrifugado a 1000g por 5 min. El sedimento fue suspendido otra vez poniéndose así en un matraz con un medio de crecimiento estándar con 10% de suero bovino fetal y 1% de antibiótico/ antimicótico (INVITROGEN, USA). Las células se incubaron durante 2 días a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub> en una incubadora humidificada estándar donde a cierto punto los cultivos fueron lavados con HBSS para eliminar las células no adherentes. A continuación, los medios fueron lavados cada 2 días hasta que se realizó el siguiente paso de aislamiento y la expansión. Por otro lado se realizó recolección de tejido graso subcutáneo en ambientes oxigenados antes de cerrar la incisión. Este tejido fue macerado y lavado de 4-5 veces en 3 volúmenes de solución salina fosfatada para remover células la sangre. Se agregó una solución de colagenasa y fue agitado por una hora a 37°C. Después la colagenasa fue neutralizada con un medio de cultivo estándar. Las muestras fueron centrifugadas por 5 min y el sobrenadante graso removido. La fracción del estroma vascular resultante fue agregada a medios para cultivo celular los cuales fueron lavados con HBSS cada dos días hasta el siguiente paso de aislamiento y expansión la cual se dio hasta en un 70% en una incubadora humidificada a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>. Antes de la primera reimplantación y subsecuente expansión el número total de células fueron contabilizadas. La implantación de las células madre mesenquimales fue dada a una densidad de 5000 células/cm<sup>2</sup>. Estas fueron reimplantadas y cultivadas por 3 semanas con variaciones de oxígeno y CO<sub>2</sub> hasta su subsecuente resiembra en cultivos osteogénicos específicos. (Chung D., et. al 2012)

En el mismo año el *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* publica el artículo "*A comparison of tissue-engineered bone from adipose derived stem cell with*

*autogenous bone repair in maxillary alveolar cleft model in dogs*” en el que intentan comprobar la efectividad de la utilización de estas células madre mesenquimales en reparación ósea a comparación de la regeneración dada por injertos de hueso autógeno específicamente a nivel maxilar en defectos de paladar hendido en perros. En este ensayo clínico fue necesaria la utilización de cuatro perros mestizos con defecto de paladar hendido inducido quirúrgicamente y que una vez sanado fueron puestos bajo anestesia general para la obtención de una muestra de 20g de tejido adiposo subcutáneo de la zona escapular la cual fue cortada en pequeños pedazos y lavado con solución salina fosfatada. Para ser procesada la muestra se utilizó 1.5 mg de colagenasa tipo 1 por gramo de tejido adiposo e incubado por 1 hora a 37°C en agitación continua. Para separar el estroma celular del sobrenadante adiposo se hicieron varios pasos de lavado y centrifugación antes de adicionar lisis buffer para la eliminación de eritrocitos. La separación del estroma celular fue contado y separado en 3000 cels/cm<sup>2</sup> suplementado con suero bovino fetal y antibióticos e incubado a 37°C con 5% de CO<sub>2</sub>. Después de 24 hrs las células no adheridas fueron descartadas. El resto fueron sembradas en cultivos celulares reemplazados cada 2-3 días hasta que alcanzaron el 80% de confluencia (unión celular). Posteriormente se llevó a cabo la caracterización celular donde se utilizó un marcador para la identificación de células madre durante el crecimiento en dos distintos cultivos específicos para osteoblastos y condrocitos. Finalmente la diferenciación celular fue evaluada por reacción de PCR analizando la expresión del gen osteogénico. (Pourebrahim N., *et al.* 2012)

Así mismo y en la misma época, otro estudio proveniente de la facultad de Medicina Veterinaria en Messina, Italia publica en la revista *Cell Biology International* el estudio “*Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints*” Donde específicamente actúan en problemas degenerativos de osteoartritis tratando de comprobar la aplicación de células troncales derivadas de tejido graso. En este proyecto fue necesaria la utilización de 4 perros de diferentes razas de entre 4-8 años de edad y con peso de entre 22 a 70kgs que presentaron claudicación asociada con osteoartritis de la articulación humerorradial. Antes de realizado el experimento se comprobó que fueran pacientes que no respondían a tratamiento con antiinflamatorios, con estudios hematológicos normales y que presentaban claudicación, dolor a la manipulación, alteración motriz y discapacidad funcional. La muestra de tejido adiposo fue tomada de depósitos grasos de tejido subcutáneo, visceral e inguinal utilizando procedimientos quirúrgicos de rutina. Las muestras de tejido graso fueron pesadas y sometidas a un proceso de digestión por 3-4 horas a 37°C en colagenasa tipo 1, preparado de solución salina fosfatada y antibióticos. La actividad de la colagenasa fue neutralizada con suero fetal bovino. Posteriormente, la muestra fue centrifugada y el sedimento fue puesto en cultivos celulares en una incubadora humidificada con 5% de CO<sub>2</sub>. El medio fue cambiado cada 3 días en donde las células adherentes fueron extraídas, cuantificadas y resembradas. Las células madre somáticas fueron verificadas de acuerdo a unidades de formación de colonias y diferenciadas en células de linaje mesenquimal. Subsecuente a esto, se llevó a cabo la diferenciación celular utilizando cultivos específicos:

- 1) Osteogénesis: Las células fueron sembradas a una concentración de 4500 cels/cm<sup>2</sup> en 6 placas de NH OsteoDiff Medium por 3 semanas con algunos cambios cada 3 días. Se agregó tinción Von Kossa para detectar calcificación de la matriz extracelular.
- 2) Condrogénesis: Cultivos de 1x10<sup>6</sup> cels/ml fueron incubadas en tubos de 15ml con NH Chondro Diff Medium por 30 días, con algunos cambios cada 3 días. La micro masa fue histológicamente teñida con Alcian Blue para la detección de la presencia de proteoglicano sulfatado en la matriz.
- 3) Adipogénesis: Las células fueron implantadas a una concentración de 7500 cels/ml en 6 placas y tratadas con Complete MenCult Adipogenic Medium (Stemcell Technologies) por 21 días con algunos cambios cada 3 días. Tinción Oil Red O fue utilizado para la detección de la formación de gotas lipídicas.

Finalmente se realizaron pruebas de PCR, control microbiológico y control de formación tumoral para la identificación e inspección de las células. (Guercio A., *et. al.* 2012)

Otros estudios tratan de comprobar las distintas técnicas que han sido manejadas con el paso del tiempo para la obtención y la utilización de células madre somáticas para el tratamiento definitivo en problemas de osteoartritis en perros, encontrando así y más recientemente experimentos como el publicado en el 2014 en el Journal Stem Cells International por Hindawi Publishing Corporation “*Acupoint Injection of Autologous Stromal Vascular Fraction and Allogeneic Adipose-Derived Stem Cells to Treat Hip Dysplasia in Dogs*” En el cual el laboratorio de células madre e ingeniería tisular de la Universidad Luterana de Brasil investigo los efectos de la inyección de células madre derivadas de tejido adiposo para el tratamiento de displasia de cadera en perros. En este ensayo fue necesaria la utilización de tres perros mestizos machos, con un peso promedio de 13.5kg, así como 6 hembras de raza mestiza. Todos ellos fueron diagnosticados con displasia de cadera y no mostraron respuesta a la utilización de antiinflamatorios, así mismo se realizaron pruebas hematológicas para descartar algún otro padecimiento. Una vez evaluado el resultado de sangre y de placa radiográfica y determinando la afección displásica por examinación, dolor a la manipulación, alteración motriz y discapacidad funcional se sucedió a coleccionar muestras de tejido adiposo de la región inguinal de cuatro de los pacientes utilizando procedimientos quirúrgicos estándares. Esta muestra fue lavada con solución salina fosfatada y digerida con colagenasa tipo 1. Fue suplementado con suero fetal bovino y lavado con solución salina de Hank, centrifugada a 400g por 10 min. Las células viables fueron contabilizadas después de ser teñida con Trypan Blue y 5 x 10<sup>6</sup> cels fueron resuspendidas en 2 mls de solución salina fosfatada. Seguido a esto las células fueron aisladas, cultivadas y caracterizadas similarmente a los estudios anteriores. (Marx C., *et. al.* 2014)

## **SITIOS DE APLICACIÓN Y RESULTADOS DE ALGUNOS ESTUDIOS SOBRE CÉLULAS MADRE REIMPLANTADAS PARA PROCESOS DEGENERATIVOS DE OSTEOARTROSIS EN PERROS.**

Las células madre somáticas son células primordiales presentes en distintos tejidos y capaces de diferenciarse *in vitro* e *in vivo* en diferentes tipos celulares. Su potencial terapéutico se explica principalmente por la producción de moléculas bioactivas que proporcionan un microambiente regenerativo en los tejidos lesionados. La población de células mesenquimales aisladas de tejido adiposo ha recibido una atención especial, debido a su facilidad de recolección, abundancia y potencial regenerativo. El mínimo criterio para definir este tipo de células, tanto aquellas frescas de la fracción del estroma vascular como las obtenidas de cultivos celulares derivadas de tejido adiposo han sido recientemente propuestas por la International Federation of Adipose Therapeutics así como International Society for Cellular Therapy. Las células madre derivadas de tejido adiposo han sido utilizadas en Medicina Veterinaria principalmente para el hueso, tendón, lesiones de ligamento y enfermedades de las articulaciones. Aquellas que han sido aisladas de Caninos específicamente de tejido graso se han caracterizado y han mostrado una prueba de potencial terapéutico al ser reinyectadas en distintos puntos de acupuntura así como cerca del área de lesión y dentro de la articulación. (Marx C., *et. al.* 2014)

En los Estados Unidos el laboratorio Vet-Stem en el 2008 utilizó preparados de células autólogas aisladas de tejido adiposo. Cada perro recibió de 3 millones a 5 millones de células viables mezcladas con 0.6 ml de Buffer salino fosfatado (PBS) por articulación. Las células fueron inyectadas en sitios individuales, preparados de manera aséptica; los perros fueron sedados para llevar a cabo el procedimiento donde de manera intraarticular (en este caso en la articulación del codo) se inoculó el preparado. Para la rehabilitación se recomendó caminar a los pacientes dos veces al día. (Blank 2008).

Para la evaluación veterinaria de este estudio fue necesaria la incorporación de la historia clínica del paciente así como la determinación de la claudicación incluyendo examen de la articulación y respuesta al dolor a la manipulación. Las medidas fueron basadas en examen ortopédico veterinario utilizando escalas numéricas con los siguientes rangos:

	No detectable	Intermitente	Persistente	Persistente sin poner peso	Ambulatorio solo con asistencia	No ambulatorio
Claudicación Paso	1	2	3	4	5	6
Claudicación Trote	1	2	3	4	5	6

	Sin DOLOR		Dolor MODERADO		Dolor SEVERO
Dolor a la manipulación	1		2		3
	Sin limitación		Dolor con movimiento extremo	Dolor con mínimo movimiento	Dolor con cualquier intento de manipulación
Rango de movimiento	1		2	3	4
	Actividad Normal	Cambio ligero, paso torpe, sólo apreciable al trote	Rigidez, paciente con notable dificultad al caminar o trotar	Muy rígido, paciente que se niega a caminar o trotar por sí mismo	Paciente que se rehúsa a caminar, debe ser auxiliado para levantarse
Discapacidad funcional	1	2	3	4	5

Estas evaluaciones se dieron en los días 0, 30, 60, 90 y 180 después de la aplicación intraarticular. En cada visita también los dueños fueron completando una evaluación que mostraba una escala numérica del 1(mejor) al 5 (peor) siguiendo parámetros como caminar, correr, brincar, etc. los cuales dieron resultados que fueron analizados. (Blank, 2008)

Dentro de la evaluación estadística se obtuvieron los datos obtenidos por veterinarios y propietarios durante las evaluaciones en los distintos rangos repitiendo las puntuaciones a través del tiempo. Todas las comparaciones fueron hechas en el nivel de significancia 0.05. Para proporcionar una estimación de la relevancia práctica de los efectos aparentes del tratamiento, estos tuvieron que ser estandarizados y divididos por desviación estándar calculados por cada variable pos tratamiento. (Blank, 2008)

En base a los resultados obtenidos de los 14 pacientes inscritos 11 tenían afectación bilateral en la articulación del codo y recibieron inyección intraarticular de células madre en ambas. Los resultados clínicos después de la terapia mostraron un mejoramiento notable en comparación con el valor inicial según lo determinado por la disminución de calificaciones de los exámenes físicos veterinarios a través del tiempo. Estos cambios fueron estadísticamente significativos ( $P < .005$ ) con respecto a todas las variables de los resultados de la exploración física individuales, excepto el del dolor en la manipulación y en las puntuaciones compuestas asignadas por los investigadores veterinarios. Las mejoras más grandes, de 30% a 40%, se detectaron en la incapacidad funcional y claudicación, mientras que el dolor en la manipulación no era tan evidente en articulaciones afectadas y mostró un menor cambio. Con respecto a la evaluación del propietario se encontró una mejora significativa ( $P < .001$ ) con un promedio de

más del 30%. El cálculo de coeficiente de correlación entre veterinarios y propietarios fue 0.564 (n=65). (Blank, 2008)

Este procedimiento fue modificado de un estudio realizado por los mismos investigadores en el 2007 donde el laboratorio Vet-Stem llevo a cabo la preparación de células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo proveniente de 23g de grasa colectada para ser utilizadas directamente en afectaciones a nivel coxofemoral. Después de ser procesado el personal de laboratorio obtuvo las muestras de las cuales cada paciente recibió 0.6 mls de PBS con una suspensión de 4.2 millones a 5 millones de células viables por articulación (dependiendo del rendimiento celular). Los veterinarios inyectaron los preparados en la articulación de la cadera en el punto medio del borde proximal del trocánter mayor del fémur. Los pacientes fueron divididos en dos grupos, el grupo A recibió una sola inyección intraarticular del preparado de células madre en el día 0 mientras el grupo B fue sometido a un procedimiento similar recibiendo material que no contenía células mesenquimales. Se llevó a cabo un proceso de rehabilitación donde los perros fueron caminados dos veces al día y uno de ellos fue autorizado a nadar. (Blank 2007)

Como evaluación estadística en este estudio el nivel de significación estadística de los cambios en las puntuaciones en el tiempo para cada parámetro en cada grupo de tratamiento se ensayó por análisis de varianza de una sola vía (ANOVA 1 VIA). En los raros casos donde los datos no fueron normalmente distribuidos, estos fueron reevaluados y corroborados por análisis no paramétricos conocidos como prueba de Friedman el cual es complementario del análisis de varianza. La comparación de las respuestas entre el tratamiento y el grupo placebo fueron hechas por análisis de varianza de dos vías. Los datos fueron analizados utilizando un software estadístico comercial. (Blank, 2007)

En los resultados se encontró que 18 de los 20 perros completaron el estudio de 90 días dado que 2 de ellos fueron removidos por haber recibido antiinflamatorios no esteroideos o haber desarrollado otras condiciones. A la evaluación veterinaria no se encontró significación estadística ( $P > .05$ ) por lo que no hubo diferencias significativas por el investigador para cualquier variable de resultado; por lo tanto, los datos se agruparon para un análisis adicional. Al inicio del estudio, no hubo diferencias significativas entre los grupos de prueba y de control en términos de veterinario y propietario. Después del tratamiento, bajo examen ortopédico veterinario la puntuación para todos los parámetros disminuyeron con el tiempo en el grupo de células madre y, en menor medida, en el grupo placebo. La mejora en las puntuaciones clínicas fue estadísticamente significativa en el grupo de células madre en todo momento de la evaluación post-tratamiento para la cojera al paso y al trote ( $P 0.015$ ), dolor a la manipulación ( $P < 0.001$ ) y libre de dolor en rango de movimiento ( $P 0.009$ ). La incapacidad funcional, una evaluación muy subjetiva, añadió varianza para los datos que causó una falta de significación en puntos de tiempo posteriores. (Blank, 2007)

En el 2010 al ser evaluados los efectos del número de células en la trasplatación de células madre mesenquimales sobre modelos de degeneración de disco intervertebral en perros por el departamento de cirugía ortopédica de la universidad de Tokai en Japón, se encontraron resultados basados en distintas variables. En este experimento se llevó a cabo la trasplatación de células madre mesenquimales extraídas de tejido adiposo directamente en los discos intervertebrales degenerados intencionalmente (L3/4, L4/5 y L5/6). Fue realizado con la utilización de una aguja discograma calibre 25 guiada por fluoroscopia. Se utilizaron 3 grupos uno control y dos experimentales (células madre y disco trasplataado). (Serigano K. *et al.* 2010)

Para las evaluaciones de este estudio se llevaron a cabo diferentes mediciones tanto pre como post operatorias determinando la altura de los cuerpos vertebrales, así como de los discos intervertebrales que se midieron utilizando un software especial para imágenes. Los datos fueron calculados en base al índice de la altura del disco y se expresó en porcentaje dando así como resultado el índice de la altura del disco (DHI). También se tomaron imágenes de resonancia magnética para la evaluación de los cambios intervertebrales en las semanas 0, 4, 8 y 12 postquirúrgicos. Para esta evaluación fue necesario tener a los pacientes bajo anestesia. En referencia a los hallazgos anatómicos, los segmentos de la columna vertebral de cinco perros de cada grupo (n = 25 DIV) se fijaron en formalina al 10% solución tampón neutral (Wako, Osaka, Japón) y fueron descalcificadas en solución Plank-Rychlo (Descalcificación Solución A; Wako, Tokio, Japón). Las muestras se cortaron longitudinalmente a través del centro del disco para la evaluación macroscópica. En base a esto también se llevó a cabo una examinación microscópica así como un conteo celular. (Serigano K. *et al.* 2010)

Finalmente los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente en base a los descubrimientos radiográficos y las medidas encontradas. Fue necesaria la utilización de análisis de varianza (ANOVA). La diferencia estadística significativa fue aceptada al obtener  $P < 0.05$ . Se utilizó un programa software comercial para este análisis. Los resultados radiográficos y de resonancia magnética mostraron una diferencia estadística significativa de  $P < 0.01$  estrechando el espacio intervertebral a las 4 semanas posoperatorio en el grupo control y los grupos de trasplante. La medida de DHI% del grupo control continuo disminuyendo hasta 8 semanas después de la inducción y luego se estabilizo. El %DHI del grupo experimental 1 era casi del 100% durante todo el estudio. Por el contrario a las 4, 8 y 12 semanas después del trasplante con células mesenquimales la media del grupo experimental 2 de discos trasplataados era mayor que el índice de pre trasplante y la media aumento significativamente. A las 12 semanas después de la inducción, los resultados de la resonancia magnética con respecto al grupo control fue inferior a todos los demás grupos. Los grupos de trasplante de MSC mostraron un aumento significativo en la intensidad de señal del disco. El uso de la clasificación de Pfirrmann reveló un retraso significativo en la progresión de la degeneración del disco en los grupos de trasplante, lo que sugiere un aumento del contenido de agua en MSC trasplataado-discs. El nivel de intensidad de la señal del grupo 1 fue constante durante todo el período de estudio. En base a los descubrimientos macroscópicos y microscópicos el grupo



experimental con células madre trasplantadas obtuvo resultados con diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.01$ ) en base al conteo celular así como cambios macroscópicos evidentes en la disección espinal a las 12 semanas post inducción. (Serigano K. *et al.* 2010)

Artículos más recientes, del 2014, como aquel publicado en *Veterinary Research* que estudiaba la evaluación del efecto de la inyección intraarticular de las células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo autólogas en los perros con artrosis utilizando un doble análisis plataforma de fuerza cegada dio a conocer como resultado la diferencia porcentual en base a un experimento donde se necesitó la utilización de perros de entre 44 a 56kg de peso cuyas edades variaban entre los 4 a 8 años. Se evaluó la velocidad al caminar en metros por segundo, sin embargo, no se observó diferencia estadística significativa. Con respecto al análisis de factor de variación presente (PVF) dado en porcentaje mostro que las diferencias entre el día 0 al día 30 fueron significativas ( $P < 0.001$ ), sin embargo, entre los periodos restantes 90 y 180 no hubo diferencia estadística significativa ( $P > 0.93$ ). En comparación con el grupo control cuyo porcentaje en días 0, 90 y 180 fue significativamente menor ( $P < 0.001$ ), sin embargo en el día 30 no hubo significación ( $P = 0.666$ ). Al llevarse a cabo el segundo análisis estadístico por VI (software comercial) se dio una diferencia significativa en días 0 y 30, sin embargo los otros periodos no mostraron significación. (Vilar *et al.*, 2014)

También en este año, 2014, se publica *Acupoint Injection of Autologous Stromal Vascular Fraction and Allogeneic Adipose Derived Stem Cells to Treat Hip Dysplasia in Dogs* artículo que comprueba la eficacia de este proceso de células madre reimplantado directamente en puntos de acupuntura específicos para afectaciones de cadera directamente relacionados con displasia. En referencia a la evaluación y tratamientos en el estudio se dio que las células autólogas de las fracciones del estroma vascular (de  $2$  a  $5 \times 10^6$  células en 2 ml de PBS) fueron utilizados para el tratamiento de 4 perros. Los animales restantes (5) se trataron con las células madre derivadas de tejido adiposo cultivadas (de  $2$  a  $8 \times 10^5$  células en 2 ml de PBS) derivado del mismo perro donante sano. Para la preparación de suspensiones de células, se contaron las células viables, después se inyectaron células en tres puntos de acupuntura (vejiga 54, vesícula biliar 29, y la vesícula biliar 30) cerca de la articulación afectada. Los animales fueron evaluados en diferentes periodos por un veterinario, con exámenes físicos y ortopédicos que evaluaron el dolor en la manipulación, alteración de la amplitud de movimiento, y la discapacidad funcional. Los resultados se reportaron como peor, sin modificación o mejora. En base a los resultados obtenidos se encontró que dentro de los cultivos celulares de células madre provenientes de tejido adiposo hubo crecimiento de osteocitos y condrocitos *in vitro* con una viabilidad celular de un 95%. En la primera evaluación una semana después del tratamiento, hubo una clara mejoría en el rango de movimiento y cojera en el trote y sobre todo una marcada disminución en el dolor a la manipulación fue notoria en 7 de los 9 pacientes. En la evaluación clínica en los días 15 y 30 mostro una mejora en el incremento funcional de los pacientes tratados con células autólogas así como en tres de los pacientes tratados con células madre mesenquimales cultivadas. La recuperación de la

amplitud de movimiento y la cojera también se observó en el paciente número 1 en el día 15 y se mantuvo en el día 30. Paciente número 5, sin embargo, mostró dificultad de pie en los días 15 y una complicación de patologías concomitantes en el día 30. (Marx C., *et. al.* 2014)

Estas investigaciones nos adentran más específicamente a los mecanismos y sitios de aplicación de células madre que dependen directamente del área de estudio, sin embargo, en cualquiera que esta sea se ha sugerido que las señales emitidas por medio de factores liberados por las células residentes, o bien debidas a los contactos que se producen entre las células residentes y las trasplantadas, son capaces de estimular a estas últimas para su diferenciación en el tipo de célula residente circundante, lo que permitiría su integración al "nicho" apropiado para su acción regenerativa. También se ha planteado la posibilidad de que alguno de los estímulos recibidos en el microambiente en que se han colocado, induzca la fusión de las células implantadas con las del tejido en que se han asentado, creando nuevas células con características funcionales que les permiten participar en la regeneración mística. Por otro lado, se ha comentado que los resultados que se han comunicado en algunas investigaciones no pueden explicarse solamente por la diferenciación o fusión celular, si se toma en cuenta el bajo número de nuevas células generadas que se pudo comprobar en el tejido en que se hizo el implante celular. Para explicar este hecho, se ha emitido la hipótesis de que factores solubles liberados por las células implantadas pueden desempeñar una acción esencial en la regeneración de los tejidos mediante un mecanismo que actúa estimulando en el sitio afectado a las células normales residentes. Estos productos solubles pueden también actuar, mediante un proceso autocrino, sobre las propias células trasplantadas que los secretan, modulando su biología y favoreciendo su autorenovación, proliferación y continuidad de sus funciones. Existen varias experiencias que dan un fuerte apoyo a la intervención de mecanismos en la regeneración de tejidos. Estudios experimentales han mostrado que la inyección en un sitio lesionado de medio de cultivo acondicionado mediante el cultivo de células madre adultas, puede producir efectos beneficiosos comparables a cuando el tratamiento se hace solo con células madre. (Pourebrahim N., *et al.* 2012)

## DISCUSIÓN

La osteoartritis es una enfermedad común en el envejecimiento de los perros, pero con frecuencia no se diagnostica ni se trata. Aunque la OA no se puede curar, la gestión a largo plazo de la enfermedad puede ser muy gratificante para el equipo médicos veterinarios así como para los dueños de mascotas. El manejo del dolor con medicamentos es un primer paso esencial. Hay una gran cantidad de medicamentos para el dolor disponibles, incluyendo los antiinflamatorios no esteroideos. También hay modalidades físicas disponibles para la reducción del dolor. El control de peso y la nutrición de las articulaciones también son importantes en la gestión de los aspectos de la OA en perros. La pérdida de la fuerza y la movilidad es un círculo vicioso para los pacientes geriátricos, por lo que el uso de la rehabilitación física es muy importante en el tratamiento de la OA en las mascotas. Los objetivos de la rehabilitación física son reducir el dolor y mejorar la función. Es esencial el control del dolor antes del manejo para garantizar que a los animales no se les pida realizar ejercicios terapéuticos o actividades que exacerben el dolor. Las terapias iniciales, mientras que el nivel de dolor del paciente sigue siendo alto, incluyen el uso de la estimulación nerviosa eléctrica transcutánea, termoterapia y de bajo nivel laser. Una vez que un paciente está lo suficientemente cómodo para comenzar a hacer ejercicio, un programa de ejercicio terapéutico puede ser desarrollado para su uso durante las visitas veterinarias, y modificado para los propietarios para usar en casa. (Rychel J, 2010)

Sin embargo, el uso clínico de células madre en la medicina veterinaria está claramente en sus primeras etapas. El tratamiento de patologías del aparato locomotor está actualmente en uso en varias especies, aunque todavía se están investigando las eficacias diferenciales de los distintos enfoques. La optimización de estas terapias basadas en células madre se centrará en origen celular, el aislamiento, el enriquecimiento y el procesamiento, así como en el tiempo, la vía de administración, la formulación y dosificación de estas terapias. El desarrollo de las células troncales en las especies domésticas ha facilitado en gran medida el desarrollo de una gama más amplia de aplicaciones clínicas. La tecnología de células madre tiene el potencial de ampliar nuestro conocimiento básico de biología sistemática y celular, y el aprovechamiento de ese entendimiento permitirá a la medicina veterinaria traducir la investigación de células madre en terapias para las enfermedades crónicas. (Fortier L. et al, 2011)

El descubrimiento de las células madre somáticas ha llevado a los avances en la terapia con estas células y los estudios de regeneración mucho más rápido de lo que nadie había esperado. Informes recientes, han demostrado que las células somáticas pueden generarse y mostrar un gran avance en el uso de estas en aplicaciones clínicas en el campo veterinario, especialmente en el campo de las investigaciones de fármacos y toxicología. Los investigadores han aislado recientemente células somáticas de caninos y han avanzado en la caracterización completa. Estos datos nos permitirán avanzar para aplicar esta tecnología a las especies de animales de compañía. (Gattegno-Ho *et.al.*, 2011)

Como sucede a menudo en la ciencia, la investigación con células madre ha planteado nuevas preguntas y respuestas. El campo está avanzando, sin embargo, existen varios obstáculos difíciles por superar. Además, la legislación y las restricciones a la investigación en células troncales en algunos países están desacelerando el progreso. Socialmente, los científicos tienen la responsabilidad de disipar las falsas ideas acerca de este tipo de investigación y la sociedad necesita tener la seguridad de la solidez en la ciencia. Sin embargo, los desacuerdos políticos y religiosos sobre las células madre y su uso están en todas partes, pero en ninguna parte hay una gama más desconcertante de posiciones que en Europa, donde están surgiendo cuatro modelos diferentes. El primer modelo, el desarrollo en el Reino Unido, permite la generación y utilización de células madre, así como la clonación terapéutica, con ciertas restricciones. El segundo, visible en los Países Bajos, permite la generación y utilización de células madre embrionarias pero prohíbe la clonación terapéutica. La tercera, visto en Alemania, prohíbe la generación de células troncales y la clonación terapéutica, pero permite, en condiciones excepcionales, el uso de líneas de células madre existentes únicamente para la investigación. El cuarto, evidente en Irlanda y Austria, prohíbe toda la generación y utilización de células madre y la clonación terapéutica. En el extremo opuesto del espectro, la investigación células madre en países como el Reino Unido, Singapur, Israel, Corea del Sur, China y Japón cuentan con el apoyo de un gobierno generoso. (Bongso 2004)

El mercado de células madre es una de las zonas dinámicas de investigación en ciencias biológicas de hoy. A diferencia de muchos otros temas emergentes de la biotecnología, las células madre son un área de investigación establecida que está experimentando un crecimiento significativo. Un estudio de mercado de células madre recientemente publicado muestra que la mayoría de la investigación de células madre se lleva a cabo en las comunidades académicas y universitarias. Teniendo en cuenta las cuestiones de propiedad intelectual y ética que rodean las células madre, industrias farmacéuticas y de biotecnología están esperando que sea posible el desarrollo de estas investigaciones. Los análisis de mercado son importantes en su intento de caracterizar y centrarse tecnología y desarrollo de productos en una importante área de ciencias de la vida. Los inversionistas son optimistas sobre los productos de células madre que tienen aplicación en el tratamiento de enfermedades que no pueden ser curadas por los productos no basados en células. Se espera que el mercado mundial de terapias con células madre incremente con una tasa de crecimiento anual del 15%. (Kode J et al, 2009)

Las células mesenquimales se encuentran presentes en varios compartimentos de tejido conectivo y se han aislado de diversos tejidos. Para el desarrollo de terapias basadas en células y trasplante de tejido autólogo existe un requisito importante que es la obtención de un número suficiente de células mesenquimales. El tejido adiposo es una excelente fuente de células mesenquimales dado a que es de fácil acceso y existe en abundancia en el cuerpo. Existen estudios que muestran la importancia de la identificación de marcadores en células mesenquimales caninas y el desarrollo de protocolos para el aislamiento de las mismas. Sin embargo, en algunas literaturas los datos obtenidos en base a los marcadores de superficie en

células mesenquimales de perro muestran la cierta carencia o simplemente no se encuentran presentes. El tejido adiposo es una fuente atractiva de Mesenquimales debido a su abundancia y fácil accesibilidad y esto es especialmente cierto en caso de los perros debido a la limitación de tamaño. En estudios específicos se aislaron MSC de tejido adiposo visceral de perros sin ninguna complicación y se ampliaron estas células durante unos 40 días demostrando que es posible que se mantenga una morfología similar a fibroblastos hasta el día 30 y la crio preservación no altera este fenotipo. Se ha demostrado, la presencia de la actividad de la fosfatasa alcalina (AP) en MSC; esta enzima se considera un marcador embrionario debido a que un aumento de su actividad en las células madre embrionarias corresponde a una mayor capacidad de formación de colonias (O'Connor et al., 2008).

Las células estromales mesenquimales son un buen recurso para la medicina regenerativa debido a sus diversas potencial de diferenciación celular. La médula ósea se ha estudiado ampliamente como una fuente de MSCs. Algunos datos sugieren que puede ser una fuente superior de las MSC para la osteogénesis desde la médula ósea ya que se encuentra ampliamente relacionada con el linaje osteogénico y condrogénico. El tejido adiposo es otra fuente ideal de MSC, ya que es abundante y se puede obtener fácilmente a partir de varias regiones del cuerpo con mínima morbilidad del sitio. En la práctica clínica, las inyecciones múltiples acoplados con un gran número de células por los resultados de dosis en un requisito para las células con un potencial proliferativo robusto, como el número de células adecuadas deben ser alcanzados por la expansión de células in vitro. (Vilar et al, 2014)

La medicina regenerativa es un nuevo sector interdisciplinario destinado a la reparación, reemplazo y la regeneración de tejidos y órganos dañados por el uso de células manipuladas in vitro. De hecho, los estudios anteriores demostraron que las células mesenquimales son una población de precursores de células pluripotentes utilizadas en la medicina regenerativa, cultivadas y expandidas en laboratorio. Estas se pueden aislar fácilmente a partir de tejido adiposo de perro adulto. Por otra parte, se ha establecido su capacidad de formar colonias y diferenciarse en una variedad de fenotipos celulares. También se demostró la existencia de marcadores pluripotenciales generalmente atribuidos a las células madre embrionarias. Estos resultados indican la existencia de las células somáticas aisladas de grasa de caninos, a pesar de su expresión está documentado en algunas de las células madre. Dado que los resultados de los controles de calidad garantizada la disponibilidad de AD-MSCs para uso clínico y experimental, los perros tratados mostraron una mejora funcional en su sistema locomotor como se evaluó por los veterinarios expertos. Los estudios de seguimiento indican que la OA de las articulaciones coxofemorales y de codo mostraron mejoras con el tiempo, probablemente debido a la acogida de movilización de MSC en respuesta a la inflamación y el tejido específico a través de mecanismos activos, que se sabe que secretan citoquinas y fomentan el crecimiento de factores que pueden estimular la recuperación de una manera paracrina. En particular, las células mesenquimales de tejido adiposo poseen un efecto capaz de reparar tejido por múltiples interacciones que incluyen la secreción de factores paracrinicos para mejorar la regeneración de células dañadas, y la estimulación de la proliferación y diferenciación de las

células progenitoras madre, como se encuentran en la mayoría de tejidos para disminuir las reacciones inflamatorias. Teniendo en cuenta que la osteoartrosis se asocia con la pérdida de la homeostasis en tejidos de las articulaciones, particularmente en el cartílago articular, una respuesta de reparación insuficiente que resulta de una reducción en el número de células y la pérdida de la estabilidad fenotípica es un importante contribuyente a la progresión de la enfermedad. Los perros con artrosis de las articulaciones humerorradial y coxofemoral tratados con la inyección intraarticular de células mesenquimales provenientes de tejido adiposo mostraron una mejora significativa en comparación con los terapia fármaco dado. En conclusión, los datos indican que la terapia celular tiene un potencial significativo para su uso clínico en el tratamiento de la cojera asociada con osteoartrosis debido al aislamiento conveniente y diferenciación en tipos celulares específicos de tejidos adecuados, pero los mayores resultados se dan antes de que la lesión sea considerada grave. (Guercio A. et al, 2012)

Por otra parte, existen estudios que muestran que el avance de la edad del donante tiene un efecto negativo sobre la frecuencia y la función de las células mesenquimales caninas. Sin embargo, es posible que, células frescas autólogas sean más eficientes en la reparación de tejidos dañados, como se sugieren por la pequeña diferencia que se observa en los estudios. El sitio de la inyección es una variable importante para determinar los resultados de la terapia celular. La administración intraarticular de células troncales en perros con claudicación por artrosis severa mostró un aumento después de 6 meses. Sin embargo, en algunos resultados muestran que los puntos de acupuntura representan una vía de administración potencial de células madre. Un estudio a largo plazo que involucra 73 perros con artrosis de cadera mostró la eficacia de la implantación de células mesenquimales insertado a través de agujas en puntos de acupuntura como tratamiento para aliviar el dolor y mejorar la movilidad. Este estudio apoya el uso de la acupuntura para el tratamiento de la displasia de cadera y la osteoartrosis. Así mismo, en futuras investigaciones es necesario investigar los mecanismos responsables del efecto terapéutico de la inyección del punto de acupuntura de estas células madre de tipo mesenquimal. Las células madre mesenquimales son conocidas por ser capaces de migrar a los sitios de lesión y su potencial terapéutico se explica de forma más general por un sistema de mecanismos paracrin, con la secreción de factores bioactivos terapéuticos, que podrían explicar los resultados observados en los presentes estudios. Estos datos indican que las células madre derivadas de tejido adiposo se pueden utilizar con seguridad en la inyección del punto de acupuntura para el tratamiento de la displasia de cadera en perros y representan una alternativa terapéutica en este tipo de patología. Sin embargo, otros estudios con un número mayor de animales son necesarios para evaluar la eficacia y una posible ventaja de células frescas autólogas en el tratamiento de enfermedades de las articulaciones en perros. (Marx C. et al, 2014)

Un obstáculo importante en la ingeniería de tejidos de cartílago con células mesenquimales es el envejecimiento inadecuado de las construcciones tisulares. Durante la condrogénesis in vitro, las células mesenquimales no sólo poseen marcadores específicos de cartílago hialino, como el colágeno de tipo II sino también proteínas específicas de cartílago y

marcadores típicos para condrocitos hipertróficos, tales como el colágeno de tipo X y la fosfatasa alcalina. El colágeno tipo X representa el 45% del colágeno producido en los condrocitos hipertróficos y por lo tanto se considera un importante marcador de la formación ósea endocondral. En células mesenquimales condrogénicas diferenciadas, el colágeno tipo X es considerablemente detectable con inmunohistoquímica. Por el contrario, en los condrocitos maduros sanos el colágeno tipo X no está o no se expresa. La actividad de la fosfatasa alcalina, generalmente es considerada como un marcador típico de la osteogénesis y también se puede encontrar en grandes cantidades en condrocitos hipertróficos en la zona calcificada, en los centros de osificación endocondral y la placa de crecimiento. Lo que quiere decir que no hay una certeza de que los condrocitos diferenciados de células mesenquimales poseen las mismas características in vivo que in vitro lo que reduce la veracidad en los tratamientos con células troncales mesenquimales. Sin embargo, se presentan como herramientas atractivas y prometedoras para la reparación del cartílago, se pueden obtener más fácilmente a partir de un gran número de tejidos de los cuales los más adecuados parecen ser la médula ósea, sangre de cordón umbilical y tejido adiposo. Una de sus grandes ventajas, a diferencia de los condrocitos, es que tienen un alto potencial de proliferación en cultivo y pueden ser ampliadas para obtener suficientes células para la ingeniería de tejidos de cartílago. (Csaki C. et al, 2008)

Actualmente, las células madre mesenquimales de la médula ósea son ampliamente utilizadas como una fuente de semillas en la ingeniería de tejidos. Sin embargo, la obtención de médula ósea es doloroso para los pacientes y los rendimientos en base al número de células recolectadas es relativamente bajos. Las células madres provenientes de tejido adiposo se han descrito recientemente como una fuente alternativa, ya que el tejido adiposo es fácil de obtener en grandes cantidades bajo anestesia con poca incomodidad del paciente y existen células troncales abundantemente en el tejido adiposo. Sin embargo, proporcionar este tipo de células autólogas en el contexto clínico requiere la liposucción del receptor individual, varias semanas para la expansión celular y la diferenciación, y después de la implantación de nuevo al paciente. Así mismo se demuestra que las células madre mesenquimales presentan propiedades similares de baja inmunogenicidad e inmunomodulación negativa. Estas propiedades privilegio inmune han explorado el potencial de estas para ser administradas como una fuente de células pre-preparado en el contexto de la ingeniería de tejidos.

Algunos estudios sobre la utilización de células madre de medula ósea para la regeneración han demostrado in vivo que trasplantado no solo podría regenerar directamente osteoblastos, también secreta una amplia gama de factores de crecimiento y citocinas para mejorar la formación de hueso en sitios afectados. Sin embargo, si un mecanismo similar está implicado en la regeneración ósea relacionada con células mesenquimales de tejido graso, in vivo no está muy claro. Sin embargo, se ha detectado que aquellas células madre mesenquimales autólogas y alogénicas osteo-inducidas diferencian en osteoblastos maduros en vivo, establecen osteoide y se transforman en osteocitos incrustados en la matriz ósea mineralizada, similar al proceso en la osteogénesis normal y la reparación de fracturas. Estos resultados confirman una vez más que los implantes alogénicos no inhiben una respuesta

positiva desde el hospedero, por el contrario, contribuyen directamente a la regeneración ósea. (Guanpeng L. *et al*, 2013)

Los resultados en otro estudio demuestran que la terapia intraarticular células madre somáticas provenientes de tejido adiposo dio como resultado mejores calificaciones de los exámenes ortopédicos dentro de la examinación de la claudicación y la amplitud de movimiento (rigidez de las articulaciones), así como sus puntuaciones combinadas en general, según la evaluación de los veterinarios cualificados en base a la osteoartritis coxofemorales. Este estudio también reveló una mejora significativa en la claudicación, rigidez y dolor a la manipulación con el paso del tiempo. Estos datos son significativos y los resultados veterinarios y propietarios fueron altamente correlativos, lo que indica que los propietarios también percibieron lo que los exámenes profesionales demostraron. Estos resultados son consistentes con el informe original que demuestra que los perros con artrosis crónica de las articulaciones de la cadera tratados con una sola inyección intraarticular de células madre de tejido adiposo muestran una mejora significativa a diferencia de los inyectados con solución salina como grupo control. Este estudio también se expande en el juicio original de 90 días de la cadera en el que indica que la duración del efecto es de al menos 180 días. Estos datos proporcionan evidencia adicional para el efecto duradero de la terapia de células madre para aliviar el dolor y cojera en perros con artrosis. (Black *et. al*, 2008)

Las técnicas de ingeniería tisular son prometedoras para el futuro en la reparación de cartílago dañado dentro de las articulaciones. Una serie de desafíos sin embargo, todavía hay que superar. Estos incluyen profundizar en la identificación de la fuente óptima de células madre, andamios y factores de crecimiento, junto con el perfeccionamiento de las condiciones que mejoran la expansión, la condrogénesis y la integración. Las células madre también podrían potencialmente ser utilizadas como vehículo para la entrega de genes en cartílago articular dañado mediante la transfección de las células con construcciones de ADN recombinante y que codifica para la expresión de ciertas proteínas y factores de crecimiento que promueven la condrogénesis. El modo de administración de células para la reparación de cartílago articular dependerá del tamaño del defecto. Pequeños defectos bien localizados potencialmente pueden ser reparados por la aplicación directa de las células en el defecto similar a los actuales procedimientos de inyección intraarticular, mientras que los defectos más grandes invariablemente tienen que depender de un andamiaje apropiado similar a los procedimientos actuales y, al aumentar el tamaño, también en su caso moléculas de señalización. A medida que el tamaño de los defectos se hace más grande y las técnicas de reparación de cartílago articular, incluyendo el modelado de andamio, mejoran, es concebible que una superficie de la articulación entera podría ser reemplazada. Esto, en combinación con los principios de equilibrio de los tejidos blandos podrá ser considerado como un reemplazo biológico. El manejo de defectos articulares actualmente no es el ideal, sin embargo se cuenta con técnicas y tecnologías en desarrollo donde las células madre tienen el potencial de mejorar las modalidades de tratamiento actuales. El uso de células madre permite la versatilidad de la utilización de andamios y factores de crecimiento, con proteínas recombinantes o terapia



génica, y tiene el potencial para reemplazar el cartílago dañado con el cartílago hialino. Aunque es de vital importancia lleva a cabo más investigaciones de laboratorio antes de los ensayos clínicos que pueden proceder a investigar la eficacia a largo plazo de este tipo de tecnologías. (Khan W. *et. al*, 2010)

## CONCLUSIONES

La tecnología de células madre tiene el potencial de ampliar nuestro conocimiento y entendimiento de los sistemas biológicos y celulares básicos lo que permitirá a la medicina veterinaria traducir la investigación de células madre en terapias para las enfermedades crónicas. El descubrimiento de las células madre somáticas derivadas de tejidos adultos ha ayudado al adelanto de los avances en la terapia con células madre y los estudios de regeneración mucho más rápido de lo que nadie había esperado. El descubrimiento inicial de la reprogramación de una célula somática en una célula madre mesenquimal para la regeneración de tejidos es completamente innovador. Estos estudios son pioneros y han sido reforzados por los informes recientes, que han demostrado que las células se encuentran en constante regeneración por lo que existen células madre en tejidos adultos y pueden ser obtenidas, procesadas y reimplantadas para favorecer la regeneración de tejidos abriendo paso al desarrollo en la ingeniería tisular. Un gran avance en el uso de estas células en aplicaciones clínicas en el campo veterinario bien puede ser inminente, especialmente en el campo terapéutico, biológico, genético, farmacéutico y toxicológico. Los autores han aislado recientemente células troncales en caninos utilizando distintas técnicas y sitios de obtención así como diferentes zonas de acción. En base a estos estudios se busca encontrar fuentes alternativas de tratamiento que favorezca la regeneración disminuyendo considerablemente los riesgos de rechazo inmune existentes en cualquier tipo de implante. Estos datos nos permitirán avanzar para aplicar esta tecnología a las especies de animales de compañía.

En general, los perros con enfermedades crónicas osteodegenerativas tales como osteoartrosis en articulación coxofemoral, articulación del codo u otros tipos de anomalías articulares han sido tratados con terapias de inyecciones de células madre mesenquimales provenientes de tejido adiposo de forma intraarticular, o también ha sido utilizado la aplicación de estas en puntos de acupuntura específicos demostrando estadísticamente, por algunos investigadores, una mejora significativa en relación a claudicación, dolor a la palpación y manipulación, así como incremento progresivo en relación a la calidad de vida de los pacientes y sus propietarios, por lo que se puede decir que la eficacia de esta terapia ha sido demostrada, sin embargo, en algunos otros estudios esta relación estadística no ha probado diferencia significativa por lo que es necesario la continuar con las investigaciones.

Las células troncales mesenquimales presentan mecanismos de diferenciación al parecer distintos a los descritos para otro tipo de células troncales, por los que son, además, un modelo muy interesante de estudio de la diferenciación y plasticidad celular. A pesar de tener en la actualidad un uso clínico, todavía queda mucha información faltante en la biología de estas células, por lo que será importante que en los futuros años surjan trabajos que

establezcan la jerarquía de diferenciación de las células troncales mesenquimales, que sean descritos nuevos antígenos que permitan su estudio y una nueva clasificación que esclarezca si la heterogeneidad morfológica que se ha descrito en diversos estudios refleje propiedades distintas.

Hoy en día las tecnologías de células, ingeniería de tejidos y células madre se han establecido como nuevos enfoques aprobados en especial en relación a osteoartritis y su investigación. Sin embargo, aunque la experimentación con las células mesenquimales para la reparación de cartílago y tejido conectivo ha recorrido un largo camino, aun no se ha encontrado un tratamiento específico. Los estudios futuros tendrán que investigar los mecanismos de diferenciación de las células mesenquimales y las vías de transducción de señales bioquímicas implicadas en el mantenimiento y la mejora de la diferenciación condrogénica con aún más detalle. La comprensión de la biología de las células mesenquimales y su interacción con los andamios tridimensionales nos permitirá crear biomateriales más adecuados capaces de reemplazar a los defectos del cartílago.

## BIBLIOGRAFÍA

1. GOMEZ VILLALOBOS, DE LA ROSA PILAR, FRANCISCO CORTES VAN AAREM. Células Troncales (Celulas Madre): Su relación con la regeneración de tejidos y su utilización en la clínica de perros y gatos. *Veterinary Medicine*. Vol 8 Num 1. Agosto- septiembre 2013.
2. FLORES-FIGUEROA, EUGENIA. MONTESINOS, JUAN JOSE. MAYANI, HECTOR. Células troncales mesenquimales: historia, biología y aplicación clínica. *Revista de Investigación Clínica*. Vol. 58 no.5 México sep. /oct 2006. pp 498-511.
3. L. BLANK LINDA, DVM *et. al.* Effect of Adipose-Derived Mesenchymal Stem and Regenerative Cells on Lameness in Dogs with Chronic Osteoarthritis of the Coxofemoral Joints: A Randomized, Double-Blinded, Multicenter, Controlled Trial. *Veterinary Therapeutics*. Vol. 8, No. 4. Winter 2007. pp 272-284.
4. GUERCIO ANNALISA, PATRIZIA DI MARCO, STEFANIA CASELLA, VINCENZA CANNELLA, LAURA RUSSOTTO, GIUSEPPA PURPARI, SANTINA DI BELLA AND GIUSEPPE PICCIONE. Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints. *Cell Biology International*. Vol. 36, Issue 2. February 2012. pp 189-194.
5. SALAZAR BELOQUI, IGNACIO. *Embriología Veterinaria: constitución y organización de la forma animal durante el desarrollo/ Ignacio Salazar Beloqui*. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela, Servicio de Publicación e Intercambio Científico, 2013. 281 p. D.L. C 1323-2013 ISBN: 978-84-15876-16-8
6. T.A. McGEADY, P.J. QUINN, E.S. FITZ PATRICK, M.T. RYAN and S CAHALAN. *Veterinary Embryology*. Oxford, UK. Blackwell Publishing Ltd. 2006. 377 p. ISBN-13: 978-1-4051-1147-8.
7. RUAIRI FRIEL, SJAACK VAN DER SAR, PATRICK J. MEE. Embryonic stem cells: Understanding their history, cell biology and signaling. *Advanced Drug Delivery Reviews*. Vol 57. Sept. 2005. pp 1894-1903.
8. T. MARTINELLO, I. BRONZINI, L. MACCATROZZO, A. MOLLO, M. SAMPAOLESI, F. MASCARELLO, M. DECAMINADA, M. PATRUNO. Canine adipose-derived-mesenchymal stem cells do not lose stem features after a long-term cryopreservation. *Research in Veterinary Science*. Vol. 91. March 2010. pp 18-24.
9. GATTEGNO-HO DANIELA, ARGYLE SALLY-ANNE, J. ARGYLE DAVID. Stem Cells and Veterinary Medicine: Tools to understand diseases and enable tissue regeneration and drug discovery. *The Veterinary Journal*. Vol 191. 2012. pp 19-27.

10. GONCALVES NN, AMBROSIO CE, PIEDRAHITA JA. Stem Cells and Regenerative Medicine in Domestic and Companion Animals: A Multispecies Perspective. *Reproduction in Domestic Animals*. Vol 49 (Suppl.4). 2014. pp 2-10.
11. SCHNEIDER M.R., WOLF E., BRAUN J., KOLB H-J., ADLER H. Canine embryonic stem cells: State of the art. *Theriogenology*, Vol 74. 2010. pp 492-497.
12. POUREBRAHIM N. *et al.* A comparison of tissue-engineered bone from adipose-derived stem cell with autogenous bone repair in maxillary alveolar cleft model in dogs. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*. Vol 42. 2013. pp 562-568.
13. VERFAILLIE CATHERINE M. Adult Stem Cells: Assessing the case for pluripotency. *TRENDS in Cell Biology*. Vol 12 No. 11. November 2002. pp 502-508.
14. Hall V., HINRICHS K., LAZZARI G., BETTS D.H., HYTTEL P. Early embryonic development, assisted reproductive technologies and pluripotent stem cell biology in domestic mammals. *The Veterinary Journal*. Vol 197. 2013. pp 128-142.
15. KHAN WASIM S., JOHNSON DAVID S., HARDINGHAM E. The potential of stem cells in the treatment of knee cartilage defects. *The Knee*. Vol 17. 2010. pp 369-374.
16. BOGSO ARIFF. History and Perspective of stem cell research. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology*. Vol 18 No. 16. 2004. pp 827-842.
17. TRIGO TAVERA, F.J. *Patología Sistémica Veterinaria*. Quinta Edición. México D.F. Mc Graw Hill Interamericana Ediciones S.A. de C.V. Editoriales F.T. S.A. de C.V. 2011. pp. 388. ISBN: 978-607-15-0407-4
18. COTRAN R.S., KUMAR V., COLLINS T. *Patología Estructural y Funcional de Robbins*. Sexta Edición. Mc Graw Hill Interamericana Ediciones S.A. de C.V. 2000. pp 1462. ISBN: 970-10-2787-6.
19. MORGAN J.P., WING A., DAVIDSON A.P., *Enfermedades articulares y óseas hereditarias del perro*. Osteocondrosis, Displasia de cadera, Displasia de codo. Co-Edición Schütersche GmbH & Co. KG, Verlag und Druckerei, Hannover y Editorial InterMédica S.A.I.C.I. 2001. pp 312. ISBN: 950-555-240-8.
20. HOU Y, WANG Y, LU X, *et al.* Monitoring Hip and Elbow Dysplasia Achieved Modest Genetic Improvement of 74 Dog Breeds over 40 Years in USA. *Public Library of Science*. Vol 8, Issue 10. October 2013. e 76390
21. CSAKI C., SCHNEIDER P.R.A., SHAKIBAEI M. Mesenchymal stem cells as a potential pool for cartilage tissue engineering. *Annals of Anatomy*. Vol.190. July 2008. pp 395-412
22. SERIGANO K., *et al.* Effect of Cell Number on Mesenchymal Stem Cell Transplantation in a Canine Disc Degeneration Model. *Journal of Orthopaedic Research*. doi: 10.1002/jor.21147. April 2010. pp 1267-1275

23. KODE J., *et al.* Mesenchymal stem cells: immunobiology and role in immunomodulation and tissue regeneration. International Society for cell therapy. Cytotherapy. Vol 11, No. 4. 2009. pp 377-391
24. KELLER G., DZIUK E., BELL J. How the Orthopedic Foundation for Animals (OFA) is tackling inherited disorders in the USA: Using hip and elbow dysplasia as examples. The Veterinary Journal. Vol 189. 2011. pp 197-202
25. CHUNG D., *et al.* Osteogenic proliferation and differentiation of canine bone marrow and adipose tissue derived mesenchymal stromal cells and the influence of hypoxia. Research in Veterinary Science. Vol 92, 2012. pp 66-75
26. L. BLANK LINDA, DVM *et al.* Effect of Intraarticular Injection of Autologous Adipose-Derived Mesenchymal Stem and Regenerative Cells on Clinical Signs of Chronic Osteoarthritis of the Elbow Joint in Dogs. Veterinary Therapeutics. Vol. 9, No. 3. Fall 2008. pp 192-200.
27. FOTIER L., TRAVIS A. Stem cells in veterinary medicine. Stem Cell Research and Therapy. Biomed Central doi:10.1186/scrt50. 2011. pp 2-9
28. MARX C., *et al.* Acupoint Injection of Autologous Stromal Vascular Fraction and Allogeneic Adipose-Derived Stem Cells to Treat Hip Dysplasia in Dogs. Stem Cells International. Hindawi Publishing Corporation. 08/2014; 2014:391274. DOI: 10.1155/2014
29. VILAR J. *et al.* Assessment of the effect of intraarticular injection of autologous adipose derived mesenchymal stem cells in osteoarthritic dogs using a double blinded force platform analysis. BMC Veterinary Research. 2014. 10:143 1746-6148
30. RYCHEL J, DVM, VMA, CCRP. Diagnosis and Treatment of Osteoarthritis. Topics in Companion Animal Medicine, 2010. Vol 25, Issue 1, pp 20-25.
31. GUANGPENG L. *et al.* Bone regeneration in a canine cranial model using allogeneic adipose derived stem cells and coral scaffold. Biomaterials. 2013. Vol 36, pp 2655-2664.