



**UNIVERSIDAD CEU CARDENAL HERRERA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

FUNDACIÓN HOSPITALES NISA

**MASTER UNIVERSITARIO EN TÉCNICAS AVANZADAS DE ESTÉTICA
Y LASER. II EDICIÓN.**

**“ESTUDIO DE LOS FACTORES QUE PUEDEN MODIFICAR LA
CALIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)”.**

Alumna: DANELLA M. ELALUF MORALES

Tutor: DRA. MARIA JOSE OYONARTE RAMIREZ

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Valencia, 3 de Septiembre del 2014

INDICE

INTRODUCCIÓN	3
REPARACIÓN Y REGENERACIÓN TISULAR	3
DEFINICIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS	5
ACTIVACIÓN PLAQUETARIA	6
BIOESTIMULACIÓN CON PRP Y ENVEJECIMIENTO CUTÁNEO	8
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS	12
OBJETIVO GENERAL	12
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	12
MATERIALES Y MÉTODOS	13
DISEÑO	13
FUENTE DE OBTENCIÓN DE LOS DATOS	13
ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	13
DISCUSIÓN	15
PROTOCOLOS DE OBTENCIÓN DEL PRP	15
CONCENTRACIÓN DE PLAQUETAS	21
ACTIVACIÓN DEL PRP	23
INDICACIONES ACTUALES DE LA BIOESTIMULACIÓN CON PRP EN ESTÉTICA FACIAL	24
CONCLUSIONES	27
REFERENCIAS	28

INTRODUCCIÓN

En la mayoría de los casos, el objetivo de la investigación médica no se centra únicamente en prolongar el tiempo de vida del paciente, sino en procurar mejorar su calidad de vida. Es por ello, que en la actualidad gran número de investigaciones van dirigidas a la identificación de mecanismos implicados en la regeneración y reparación tisular, destacando el papel activo de los factores de crecimiento y de las proteínas plaquetarias y plasmáticas en la restitución celular. En este sentido, se empezó a estudiar y a utilizar el plasma rico en plaquetas (PRP) por sus propiedades moduladoras y estimuladoras de la proliferación de las células derivadas de células madres de origen mesenquimal (fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales, adipoblastos, miocitos y condrocitos, principalmente).

Reparación y regeneración tisular

La agresión a los tejidos tiene como resultado una respuesta del organismo que activa un proceso de restauración del tejido afectado. Dicho proceso siempre comienza con la aparición de un coágulo sanguíneo que rellena el defecto y aporta las proteínas necesarias para generar un tejido fibroso que termina en cicatricial, el cual no respeta la arquitectura ni funciones originales preexistentes. Este proceso se conoce como reparación. (1)

En ocasiones el proceso no lleva a una reparación sino a la creación de un tejido similar al original con una arquitectura y función exactamente iguales. En este caso se habla de regeneración (1).

El premio Nobel de medicina en 1990 *Joseph Murray* habla de las cuatro "R"; retirar, reparar, reemplazar y regenerar. (2)

Desde la antigüedad el objetivo se ha centrado en aportar de forma natural los factores que intervienen en la cicatrización, existiendo en la historia diferentes métodos, algunos muy pintorescos, como son los descritos en los trabajos de *Thomas* (3); que utilizaba gusanos para la curación de las heridas. Ya en las batallas napoleónicas los utilizaban para evitar la

sobreinfección al remover el tejido necrótico y promover la cicatrización de las heridas provocadas en la batalla.

El primer estudioso que aporta datos importantes acerca de la regeneración tisular ósea es de *Marshall Urist* que en 1965 describe la importancia de las proteínas morfogenéticas óseas en la regeneración de tejidos (4).

En 1994 es *Tayapongsak* quien completa las aportaciones de *Urist* con sus estudios de la importancia de la fibrina adhesiva autóloga (AFA) como mecanismo intrínseco de la respuesta celular aplicable a la regeneración tisular (5), describía la adaptación de la fibrina que forma parte del suero para vehiculizar al injerto en cirugía. Tras la extracción de sangre al paciente añadiendo anticoagulantes, ésta se centrifugaba depositándose elementos formes en el fondo del recipiente, formándose así el suero con la fibrina. Al ser las plaquetas el elemento menos pesado de todas las células sanguíneas se depositaban por encima del resto y por tanto quedaba embebido en dicha fibrina. La combinación de fibrina más plaquetas conseguía unos resultados óptimos en cirugía (5).

Posteriormente en la década de los 90, *Robert Marx* (6) aportó otro término a la bibliografía científica, plasma rico en plaquetas (PRP). El procedimiento para su obtención consiste en la adaptación del mismo compuesto de fibrina autóloga en la que se engloban el mayor número posible de plaquetas pensando en el aporte de las proteínas que en su interior existían. Estas proteínas, como ya se ha comentado, aportan señales importantes en el proceso de la cicatrización. Conociendo el comportamiento de los elementos formes y de los fluidos, como es la sangre, se pueden acotar unos parámetros en la centrifugación para decantar las células sanguíneas con mayor peso en el fondo y las de menor peso justo por encima. De esta forma, se consigue que los hematíes, que son los de mayor peso, se depositen en el fondo del recipiente, a continuación la serie blanca, e inmediatamente por encima las plaquetas, justo antes del suero con la fibrina.

Anitua propone, en 1999, utilizar el plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), y que dichas proteínas tienen propiedades como, la migración celular dirigida (quimiotaxis), proliferación y diferenciación celular. Todos estos procesos claves en la reparación y regeneración tisular (7).

Definición de plasma rico en plaquetas

El PRP se define como una fracción de plasma obtenido de sangre autóloga que tiene una concentración de plaquetas superior a la del plasma en condiciones basales (8)

En función del sistema utilizado varía la concentración de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento del preparado. En consecuencia, la nomenclatura PRP engloba las diferentes fracciones que se pueden obtener en función del método empleado: preparado rico en factores de crecimiento (PRGF), plasma rico en plaquetas y factores de crecimiento (PRPGF), plasma rico en plaquetas (PRP), plasma pobre en plaquetas (PPP), plasma rico en plaquetas y rico en leucocitos (LR-PRP), plasma rico en plaquetas y pobre en leucocitos (LP-PRP). (9)

El PRP contiene no solo un alto nivel de plaquetas, sino también de los factores de crecimiento que son secretados activamente por las plaquetas. Además, el PRP también es rico en proteínas que actúan a nivel de la adhesión celular (fibrina, fibronectina, y vitronectina), por lo que proporciona el soporte estructural necesario para la migración celular, y para la proliferación y crecimiento tridimensional de los tejidos sobre los que actúa.

El PRP tiene efectos no solo directamente sobre las células diana para los factores de crecimiento, sino también como matriz extracelular para la estimulación de la reparación y/o regeneración del tejido de un modo global. (10).

Activación plaquetaria

La activación plaquetaria en respuesta al daño tisular y vascular provoca la formación de un tapón plaquetario y un coágulo hemático cuyas funciones son la consecución de la hemostasia, y la secreción de proteínas biológicamente activas (factores de crecimiento) involucradas en el proceso de curación tisular.

En condiciones fisiológicas, las plaquetas circulan en forma no activa y expresan en su superficie un número relativamente pequeño de muchas de las moléculas que, en estado activado, van a facilitar su interacción con otras plaquetas y otras células de su entorno. Además las plaquetas contienen diferentes tipos de gránulos que al ser activadas, liberan diferentes factores almacenados en ellos y que a su vez estimulan aún más la actividad de la propia plaqueta. Estos factores tienen también efectos biológicos sobre otras células del entorno plaquetario. (11)

Como hemos señalado, las plaquetas contienen fundamentalmente tres tipos de gránulos: los gránulos densos, los gránulos α y los lisosomas.

Figura 1. Activación plaquetaria (11)

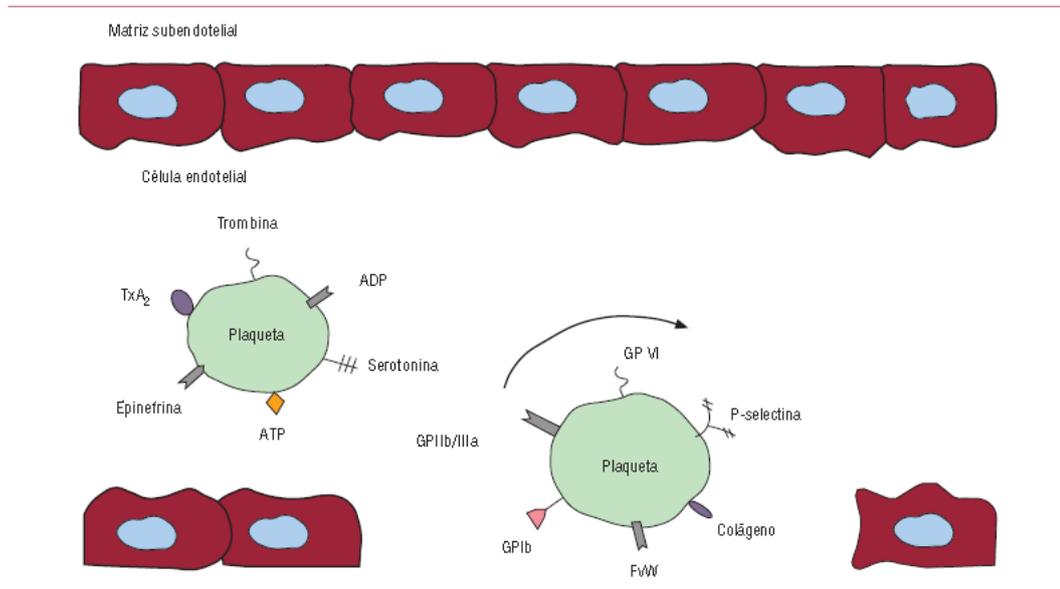


Figura 1. Principales agonistas y proteínas de adhesión que en la plaqueta participan en el proceso de activación plaquetaria. ADP: difosfato de adenosina; ATP: trifosfato de adenosina; FvW: factor de von Willebrand; GP: glucoproteína; TxA₂: tromboxano A₂.

Los gránulos α de las plaquetas

Los gránulos α de las plaquetas influyen poderosamente en la cicatrización y regeneración de los tejidos, ya que son reservorios de proteínas que van desde factores de crecimiento hasta moléculas de adhesión o receptores que utiliza la plaqueta para interaccionar con otras células.

Entre estos receptores se incluyen las glucoproteínas (GP) Iba y IIb β 3. Otra de las moléculas de adhesión contenidas en estos gránulos es la P-selectina, que permite la interacción de las plaquetas con las células endoteliales, los leucocitos y otras células inmunitarias.

La GPIba actúa en la fase inicial de frenado de las plaquetas sobre la pared vascular. La GPIba se expresa de forma constitutiva en la superficie de la plaqueta e inicia el proceso de adhesión plaquetario uniéndose al colágeno y al factor von Willebrand (FvW).

La interacción transitoria entre el FvW y la GPIb α permite la «rodadura» de las plaquetas en la zona dañada del vaso. Como resultado, las proteínas contenidas en la pared vascular, fundamentalmente el colágeno, inducirán la activación de las plaquetas y su adhesión firme a la pared, de tal manera que el colágeno y el FvW forman una especie de unidad funcional para la formación inicial del trombo, en el que el FvW contribuye a la captura inicial de las plaquetas en la superficie del vaso y el colágeno permite que se establezca una unión más estable con las plaquetas. En el proceso de interacción entre plaqueta y colágeno participan dos receptores plaquetarios, la GPVI y la integrina α 2 β 1. (11)

La activación, también conocida como degranulación, provoca que los gránulos α se fundan con la membrana celular de las plaquetas, donde algunas de las proteínas secretoras, por ejemplo, factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) (que incluye los isómeros $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ y $\alpha\beta$), el factor de crecimiento transformante (TGF)- β (que incluye los isómeros β 1 y β 2) pasan al estado activo al añadirseles histonas y cadenas laterales de carbohidratos. Así, las proteínas son secretadas, permitiendo que se

enlacen a los receptores de las células diana (por ejemplo, células madre mesenquimales, osteoblastos, fibroblastos, células endoteliales, o células epidérmicas). Una vez unidas a los receptores transmembrana, se activan las proteínas señalizadoras intracelulares, lo que lleva a la expresión de una secuencia de genes (distintos en cada tipo celular) que dirigen la proliferación celular, la formación de la matriz, la producción osteoide, la síntesis de colágeno, y otras acciones, en función del tipo de célula sobre el que actúen (12)

Las plaquetas empiezan a secretar activamente estas proteínas en los 10 minutos siguientes a la formación del coágulo, completando la secreción de más del 95% de los factores de crecimiento presintetizados en el plazo de 1 hora. Tras esta salva inicial de proteínas liberadas, las plaquetas sintetizan y secretan proteínas adicionales mientras se mantienen vivas (entre 5 y 10 días). Cuando empieza a disminuir la influencia directa de las plaquetas, los macrófagos que llegan arrastrados por el torrente vascular estimulados por las plaquetas, asumen la responsabilidad de la regulación de la cicatrización secretando sus propios factores. De esta forma, las plaquetas, en última instancia, establecen la pauta en el lugar de reparación de la herida (13).

Bioestimulación con PRP y envejecimiento cutáneo

En el campo de la medicina estética, la bioestimulación con PRP es una técnica ambulatoria para la prevención y manejo del envejecimiento cutáneo. Se utiliza principalmente por su papel en la bio-estimulación del fibroblasto cutáneo, y como bio-potenciador de los tratamientos de relleno con tejido adiposo. Se basa en la fisiología de la piel y ha demostrado excelentes resultados, tanto en monoterapia como dentro de un plan terapéutico combinado con otras técnicas.(14)

Recordemos que los objetivos fundamentales de una propuesta terapéutica bio-regeneradora en relación con el envejecimiento cutáneo y sus estigmas generales van a ser:

1. Activar al fibroblasto → BIOESTIMULACION
2. Procurar la disponibilidad de precursores biológicos para la construcción de la dermis y fundamentalmente de la matriz intercelular
3. Calentar fisiológicamente los tejidos a tratar
4. Y, en cualquier caso, mantener el pH fisiológico tisular y un nivel adecuado de radicales libres.

En la literatura encontramos descritas numerosas aplicaciones clínicas del plasma rico en plaquetas, principalmente en biología, odontología, medicina, cirugía y ciencias afines. En la mayoría de estudios se recopila suficiente evidencia de sus beneficios como para fomentar su uso; sin embargo, existen pocos estudios con controles que determinen y cuantifiquen definitivamente la magnitud de los efectos del plasma rico en plaquetas.

Actualmente, es una herramienta estética novedosa, con numerosos estudios realizados y otros muchos en marcha para acabar de establecer las propiedades y las indicaciones de este preparado capaz de mejorar las características de un gran número de células en nuestro organismo (15,16)

Por otro lado, existen interrogantes sobre qué factores son determinantes para obtener un PRP de mayor calidad.

HIPÓTESIS

El uso extendido del PRP como terapia regenerativa ha sobrepasado, en gran medida, la capacidad de la comunidad científica para generar evidencia sobre sus usos. En la mayoría de los estudios disponibles en la literatura se muestran los beneficios, en muchos casos muy llamativos, de la aplicación del PRP. Sin embargo son pocos los ensayos clínicos de calidad que expliquen la magnitud de dichos efectos, existiendo además cierta controversia sobre la consideración que se debe dar a este producto. (2). Por otra parte, ante la variabilidad metodológica existente hay poco consenso, lo que explica la ausencia de estandarización del empleo del PRP. (6)

En este contexto, la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios (AEMPS) en su resolución del día 23 de Mayo del 2013 (**INFORME/V1/23052013**), establece las primeras orientaciones y normas para regularizar y optimizar los tratamientos con PRP, el cual ha sido considerado en dicha resolución como un **medicamento de**

uso humano y como todos los medicamentos, es necesario establecer la dosis, indicación y su correcta aplicación. (17, 18)

Por otro lado, el pasado día 3 de diciembre de 2013 se celebró en la AEMPS una jornada informativa sobre el uso del PRP según la resolución del 23 de mayo del 2013, en la cual, La Agencia considera que la resolución establece claramente: (18)

- Considera el Plasma Rico en Plaquetas como Medicamento.
- Sería Medicamento de producción no industrial
- Es obligatorio su prescripción por médico, odontólogo o podólogo, dentro de sus competencias, en consultas autorizadas.
- Estaría prohibida toda publicidad.
- Se considera necesario, según se establece en la Resolución, la realización de analíticas.

Sin embargo, como el mismo informe lo revela, “queda pendiente establecer los requisitos mínimos necesarios para garantizar la calidad del PRP”. (18)

En base a esto, el presente trabajo pretende realizar una revisión bibliográfica que ayude a entender y esclarecer algunos parámetros relacionados con la calidad del PRP. En concreto, la necesidad de activar las plaquetas previo a su utilización, o, si por el contrario, el propio tejido tendría la capacidad de activarlas *“in situ”*. Es por ello que nos planteamos la siguiente cuestión:

¿La liberación y/o activación de los factores de crecimiento en el lecho o tejido a regenerar difiere según si el PRP se activa o no previamente con algún sustrato?

OBJETIVOS

Objetivo General:

- Estudiar la necesidad o no de la activación exógena del PRP y su influencia en la liberación y activación de factores de crecimiento en el lecho a regenerar.

Objetivos Específicos:

- Describir las diferentes técnicas de procesamiento y sistemas de obtención del PRP
- Estudiar el rendimiento del PRP y su relación con la técnica o sistemas de obtención.
- Resumir las indicaciones actuales de la bio-estimulación con PRP en estética facial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño

Se trata de un estudio descriptivo, transversal y observacional de la información recuperada mediante revisión bibliográfica.

Fuente de obtención de los datos

La información se obtuvo por medio de diversas fuentes primarias y secundarias, tales como libros, artículos científicos, documentos en línea, etc. Para ello, se realizó una búsqueda automatizada en diferentes bases de datos (MedLine, PubMed, upToday, Scopus, entre otras) utilizando *palabras claves* (*) y seleccionando los artículos relacionados con el tema a discusión, manejando como criterio de inclusión: menor de 8 años de publicación y textos completos incluidos.

(*) *Palabras Claves:*

- En español: plasma rico en plaquetas, activación plaquetaria, preparación de PRP, bioestimulación.
- En inglés: *Platelet concentrates platelet-rich plasma (PRP), quality control, standardization, quality management system.*

Análisis de la información

Una vez obtenida y seleccionada la información, se procedió al análisis crítico y descriptivo de la misma. Dicho análisis se realizó en varias etapas:

- a. Familiarización con el contenido de los documentos.
- b. Clasificación preliminar de los documentos sobre la base de su contenido y evaluación de la validez

- c. Selección y extracción de la información más relevante o sobresaliente, con la finalidad de eliminar toda aquella que no era necesaria.
- d. Verificación de los conceptos o datos en extractos individuales

Posteriormente, se condensó la información analizada de diversas fuentes en una estructura que, siguiendo un esquema y de acuerdo a los objetivos planteados, contribuyera a dar respuesta a nuestra hipótesis.

DISCUSIÓN

El estudio de los factores de crecimiento junto con el descubrimiento de su liberación por parte de las plaquetas ha conducido al desarrollo de un concentrado de plaquetas autólogo, útil para estimular la proliferación y la diferenciación celular en aquellos tejidos donde esto es requerido, tal y como sucede en las heridas y procesos de regeneración de los tejidos, o para luchar contra la involución celular que tiene lugar con el envejecimiento (16).

Todo proceso de manipulación de la sangre conlleva un cierto cambio en la ultraestructura de las células sanguíneas que puede traducirse en lesiones que afecten a su funcionalidad. Aunque estas lesiones son en gran parte reversibles, los cambios que tienen lugar en las plaquetas durante su procesamiento y almacenamiento actúan como parámetros útiles de predicción de la efectividad clínica de los concentrados. (19)

Protocolos de obtención del PRP

Desde la descripción de las aplicaciones clínicas el PRP se han empleado varios protocolos de obtención del mismo en función de las necesidades de uso. En los trabajos iniciales de *Marx*, el PRP se obtenía mediante técnica de aféresis (forma de procesamiento habitual para las plaquetas de uso transfusional), pero posteriormente, al ampliarse las indicaciones de uso del PRP en cirugía maxilofacial, se simplificó la técnica de obtención, adaptándola a cantidades menores de sangre periférica extraída por venopunción. (6)

Independientemente del método utilizado, la secuencia del proceso básicamente es la siguiente:

- Punción venosa
- Extracción de la sangre
- Separación celular (centrifugación)

La punción venosa por regla general se realiza en la región antecubital del paciente a tratar unos minutos antes de comenzar el procedimiento.

El volumen de sangre extraída puede variar dependiendo de la extensión de la de aplicación y de la lesión a tratar. Una vez extraída la muestra para preparar el PRP, se introduce en tubos de ensayo estériles con citrato sódico al 3,8% como anticoagulante (evita que el calcio se ionice y active la cascada de la coagulación). Otros anticoagulantes inducen cambios en la morfología de las plaquetas. El EDTA (ácido etilendiamida tetracético) no se recomienda debido a que tiende a fragmentar las plaquetas, mientras que el ACD al poseer un pH más bajo de 6.5 interfiere en la agregación plaquetaria. (20)

En cuanto a la fase de separación o centrifugación, existen diferentes métodos, se pueden considerar tres grandes grupos.

El primero es la aféresis plasmática que requiere de una maquinaria sofisticada, es un método aceptado por la comunidad científica internacional por ser un proceso completamente automatizado y cerrado, pero solo se realiza en ambiente hospitalario.

El segundo grupo utiliza maquinarias específicas de centrifugación y utiliza una cantidad de sangre menor (50 ml en su mayoría), considerándose sistemas cerrados como: (21)

- Curasan system ®.
- Friadent-Schützer ®.
- PDGF 90-1.
- PRGF System II. BTI ®.
- Vivostat PRF preparation Kit ®.
- PCCS plateler concéntrate collection system ®.
- Haverst ® Smart Prep 2APC 60 Process



Figura 1 – Haverst® Smart Prep (*Symphony II*) (21)

En función del sistema utilizado variarán las concentraciones de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento del preparado.

Es muy difícil ordenar e interpretar los datos disponibles, debido a un gran número de técnicas de preparación, terminologías y formas de estos preparados, y la interminable lista de aplicaciones potenciales. En este sentido, recientemente (2013) se realizó una conferencia de consenso de la Periodoncia, Cirugía Oral, Estética y la Odontología de Implantes (Poseido) para apoyar un sistema de clasificación de estos productos, con el fin de mejorar y aclarar las publicaciones sobre este tema. Cuatro familias principales de las preparaciones se pueden definir, en función de su contenido de la celda y la arquitectura de fibrina como se muestra en la tabla 1. Esta terminología sirve de base para futuras investigaciones sobre el tema. (22)

Tabla 1. Clasificación de los principales métodos disponibles de producción de concentrados de plaquetas (22)

Platelet Concentrate Class and terminology	Methods of production (generic name, detailed appellation when existing, company, city, country)[references]	
P-PRP (Pure Platelet-Rich Plasma), before activation (P-PRP gel , after activation)	AP	- Cell separator PRP (experimental)[7] - Vivostat PRF (Vivolution, Allerød, Denmark)[31]
	MP	- PRGF/Endoret (Preparation or Plasma Rich in Growth Factors, BTI BioTechnology Institute, Vitoria, Spain)[61,70] - E-PRP (Eye Platelet-rich Plasma, experimental)[8] - Nahita PRP (Nahita, Navarra, Spain)[28]
L-PRP (Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma), before activation (L-PRP gel , after activation)	AP	- PCCS PRP (Platelet Concentrate Collection System, 3I, Palm Beach Gardens, FL, USA)[26,31] - SmartPREP PRP (Harvest Corp, Plymouth, MA, USA)[27,31] - Magellan PRP (Magellan APS (Autologous Platelet Separator), Medtronic, Minneapolis, MN, USA)[30] - Angel PRP (Angel Whole Blood Processing System (AWBPS), Sorin Group, Mirandola, Italy) - GPS PRP (Gravitational Platelet Separation System, Biomet Biologic, Warsaw, IN, USA)[69]
	MP	- Friadent PRP (Friadent-Schütze, Vienna, Austria)[27] - Curasan PRP (Curasan, Kleinostheim, Germany)[26] - Regen PRP (Regen Laboratory, Mollens, Switzerland)[32] - Plateltex PRP (Plateltex, Prague, Czech Republic)[29] - Ace PRP (Surgical Supply and Surgical Science Systems, Brockton, MA, USA)[28]
P-PRF (Pure Platelet-Rich Fibrin)	MP	Fibrinet PRFM (Cascade Medical, Wayne, NJ, USA)[31,32]
L-PRF (Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin)	MP	- Intra-Spin L-PRF (Intra-Lock, Boca Raton, FL, USA)[36,37] - Titanium-prepared PRF (experimental)[42]

* Algunas técnicas requieren poco manejo y son considerados como procedimientos automatizados (AP), mientras que otros requieren más etapas de manipulación y se consideran como Manual de Procedimientos (MP).

Por último, el tercer grupo lo conforman los sistemas abiertos que utilizan tubos de ensayo y no precisa grandes volúmenes de sangre, (dicho volumen depende de la cantidad de concentrado final que se quiere obtener). Tienen el inconveniente de que son sistemas en los que el operador debe estar bien adiestrado para obtener unos resultados óptimos, además de estar expuestos a contaminación. (Figura 2)

Figura 2 - Pipeteado de la fracción correspondiente al plasma rico en plaquetas



En relación con las condiciones de obtención, la AEMPS ha establecido unas garantías mínimas de calidad que han de ser cumplidas por los facultativos prescriptores. Se considera de obligado cumplimiento el control de la esterilidad, la trazabilidad del producto y el seguimiento de los pacientes. En el caso de la técnica abierta se deberá solicitar una inspección a las autoridades competentes para que valore la adecuación de las instalaciones y de la calidad del producto. Y en el caso de la técnica cerrada, se deberán seguir las instrucciones de cada sistema comercial, no siendo necesaria la solicitud de permiso anterior. (17, 18)

También existen en la literatura diferentes protocolos para la obtención del concentrado plaquetario, de acuerdo a cada sistema e incluso a cada autor. En este sentido, podemos observar una amplia variación en cuanto al número de centrifugados y la duración de los mismos. (Tabla 2) (16)

Tabla 2 – Protocolos para la obtención del concentrado plaquetario según distintos autores y sistemas.

	Centrifugado 1	Centrifugado 2
Curasan Kit	10 min/2.400 rpm	15 min/3.600 rpm
Smart PreP	6 min/5.600 rpm	6 min/2.400 rpm
Friadent-Schütze	10 min/2400 rpm	15 min/3.600 rpm
PCCS system	3,45 min/3.000 rpm	13 min/3.000 rpm
PRGF	7 min/1.400 rpm	

Debemos considerar que existen varios trabajos que comparan los resultados de diferentes métodos (16), pero todos ellos comparan fundamentalmente el rendimiento de la obtención en número de plaquetas e incluso, en algunos, la determinación de factores de crecimiento, pero en la mayoría no se habla de la funcionalidad de esas plaquetas o del momento de la activación de las mismas, lo que es un factor determinante para realizar su función. Está demostrado que una activación prematura de las plaquetas conlleva una pérdida de factores, por eliminación o degradación, antes de alcanzar el lugar donde deben actuar. (19)

Ballester et al (23) comparó cuatro procedimientos de obtención de plasma concentrado en plaquetas utilizando tubos y centrífugas pequeñas. Estudia la física que aplican los métodos de obtención de plaquetas, demostrando que es la fuerza centrífuga expresada en “g” es la que determina la eficacia de la concentración y no la velocidad en revoluciones por minuto, ya que, dependiendo del brazo de giro de la centrífuga que se utilice se puede cambiar la velocidad del retorno para conseguir la misma fuerza centrífuga. Como conclusión observa la distorsión de los diferentes sistemas desde el punto de vista económico y señala las ventajas y desventajas de cada uno de ellos a la hora de su ejecución.

Zimmermann et al (24) comparó técnicas de preparación de concentrado de plaquetas, no desde el punto de vista del sistema utilizado sino desde el punto de vista del método de preparación, añadiendo diferentes sustancias para la conservación o la obtención de un mejor rendimiento de los factores

de crecimiento, siendo la disolución con Triton-X-100 la que mejor resultado obtuvo al cuantificar la conservación de las plaquetas de los factores de crecimiento derivado de las plaquetas.

En este sentido, lo ideal sería disponer de un método que aunara las ventajas de unos y otros sistemas, para obtener un plasma rico en plaquetas sin necesidad de gran volumen de sangre (si no lo requiere la técnica), y que el proceso se pudiera considerar un método cerrado en el que la intervención del operador no fuese definitiva para tener buenos resultados.

Concentración de Plaquetas

No hay consenso sobre la concentración de plaquetas del PRP, sin embargo, algunos investigadores han sugerido que para conseguir un PRP de calidad, con posibilidades de ser usado como tratamiento, la concentración de plaquetas debe ser de 3 a 5 veces superior al valor basal por unidad de volumen (150.000 plaq/ μ l en 5 ml) (8)(19). Otros autores consideran que se puede aplicar plasma con una concentración de plaquetas no inferior a 300.000 / 350.000 plaquetas / μ l, siempre que el plasma no contenga leucocitos. (20)

La relación entre el número de plaquetas añadido y la magnitud del beneficio clínico obtenido es uno de los parámetros que permanecen pendientes de determinar con exactitud.

Cabría esperar que la concentración de proteínas secretoras fuera proporcional a la concentración de plaquetas. Aunque dicha proporcionalidad se cumple en el caso de PDGF, TGF- β Y EGF, no se cumple para VEGF ni IGF. *Eppley et al.* (25) y *Weibrich et al.* (26) no encontraron utilidad al uso de la concentración de plaquetas para predecir los niveles resultantes de proteínas secretoras en el PRP. En cualquier caso, los niveles de proteínas siempre fueron inferiores a los esperados, lo

que podría deberse a una activación parcial de las plaquetas o a que parte de dichas proteínas se quedarán fijadas al coágulo.

Weibrich et al evaluaron la capacidad de concentrar plaquetas y factores de crecimiento con diversos sistemas de producción de PRP. Se evaluaron la plasmaféresis de banco de sangre (Blook Bank), Curasan Kit, Smart PreP, Friadent, PCCS, y PRGF (Tabla 3).

En una primera suposición, podríamos pensar que los niveles de factores de crecimiento son directamente proporcionales al número de plaquetas concentradas. Sin embargo, los datos publicados por *Weibrich et al* no demuestran una correlación estadísticamente significativa entre la concentración plaquetaria y los niveles de factores de crecimiento. (26)

Tabla 3.- Concentración de plaquetas y factores de crecimiento con diferentes sistemas de obtención.

	Plaq. [P/μL]	Leucoc. [P/μL]	PFGF-AB (ng/ml)	TGFβ1 (ng/ml)	IGF-1 (ng/ml)
Blood Bank	1.434.300	160	133,59	26,65	85,37
Curasan Kit	908.500	30.130	233,70	95,02	101,00
Smart PreP	1.227.890	19.261	208,85	77,20	91,40
Friadent-Schütze	1.440.500	21.691	251,60	198,80	72,80
PCCS system	2.232.500	15.300	251,80	467,10	91,00
PRGF	513.630	65	47	73	

Leitener et al compara Vivostat PRF preparation Kit®, PCCS platelet concentrate collection system®, Haverst® Smartprep 2APC 60 Process y Fibrinet® Autologous Fibrin y Platelet System. (27)

En este estudio no sólo se determinó la concentración de plaquetas o de factor de crecimiento derivado de las plaquetas sino que se analizó la imagen al microscopio electrónico de los concentrados obtenidos. El resultado del trabajo concluye que el concentrado de factor de crecimiento derivado de las plaquetas depende de la cantidad de concentrado de plaquetas obtenido y que dependiendo del sistema utilizado la integridad

de las plaquetas se mantiene o se pierde. En el sistema Vivostat las plaquetas estaban lisadas y su contenido había sido liberado al plasma. En los otros tres sistemas la imagen de las plaquetas era el de plaquetas activadas que mantenían su integridad y por tanto su contenido. (27)

Activación del PRP

Otra de las interrogantes que existe hasta el momento es cómo actúa el PRP cuando lo aplicamos al lecho o tejido diana, es decir, cómo se lleva a cabo exactamente la liberación y activación de factores en el lecho a regenerar, espacial y temporalmente.

Después de su preparación, el PRP es estable en condiciones de anticoagulación durante 8 horas o más. El PRP debe activarse para que los gránulos α liberen sus contenidos. El coágulo que se forma sirve de vehículo para contener las proteínas secretoras y mantenerlas en el lugar de la herida.

El mecanismo fundamental de liberación de los factores de crecimiento por los concentrados plaquetarios es por difusión, y se basa en los gradientes de concentración de los distintos factores en un momento específico de la cicatrización. La concentración temporal y la distribución espacial de los factores dentro del lugar de injerto varían en función de la infiltración del fluido durante la respuesta reparativa inicial, por lo que es fundamental tener en cuenta estos dos factores a la hora de verificar la eficacia del PRP en la regeneración tisular, es decir, la activación y presencia puntual en el momento y concentración exactos es un punto crítico en el inicio de la cascada de la regeneración. (28)

Distintos autores proponen diferentes métodos de activación de PRP. Hay quien mezcla a priori los componentes: desde la simple mezcla de cloruro cálcico y trombina con PRP, hasta la mezcla cuantificada de PRP, cloruro cálcico/trombina, aire y variables tiempos de agitación. (29)

Algunos autores proponen que la mezcla del PRP y la solución activadora se realicen in situ sobre la herida. Para ello utilizan un dispositivo que aúna 2 jeringas con diferente tamaño de émbolo, una con PRP y otra con la solución activadora. La activación se produce al mezclarse ambas soluciones inmediatamente antes de dispensarlas sobre la herida, es decir, las plaquetas ya se aplican activadas (7). Sea cual fuere el método utilizado para la activación del PRP, la mezcla activada debe aplicarse antes de 10 minutos para evitar que se retraiga el coágulo y que secuestre en su superficie las proteínas secretoras.

Existe actualmente controversia entre profesionales que emplean el PRP en distintas áreas, sobre la necesidad o no de mezclar el PRP obtenido con una sustancia activadora, puesto que, de manera fisiológica, el PRP al entrar en contacto con el colágeno en el lecho podría activarse sin un agente externo. Recordemos que el colágeno, inducirá la activación de las plaquetas y su adhesión firme a la pared, de tal manera que el colágeno y el FvW forman una especie de unidad funcional para la formación inicial del trombo, en el que el FvW contribuye a la captura inicial de las plaquetas en la superficie del vaso y el colágeno permite que se establezca una unión más estable con las plaquetas (30). En el proceso de interacción entre plaqueta y colágeno participan dos receptores plaquetarios, la GPVI y la integrina $\alpha 2\beta 1$. La expresión de estos receptores en el lecho tratado con PRP podría ser objeto de interesante estudios a futuro.

Indicaciones actuales de la bioestimulación con PRP en estética facial

A pesar de que la primera asociación del plasma rico en plaquetas (PRP) se realiza con la medicina estética, predominantemente el envejecimiento facial, y se muestre como una técnica aparentemente novedosa, se trata de un tratamiento empleado desde hace años en múltiples áreas de la medicina como lo muestra la figura 3

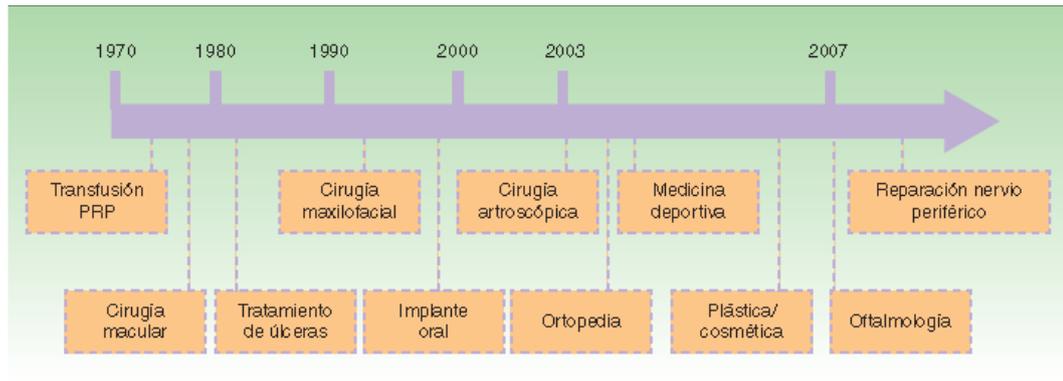


Figura 3 – Secuencia temporal de la aplicación del PRP en diferentes campos de la medicina. (9)

En el ámbito de la medicina cosmética y estética tenemos varias formas de utilizar el plasma rico en factores de crecimiento. Primeramente, el PRP se puede usar de manera tópica por sus efectos estimuladores sobre el fibroblasto dérmico, en forma de coágulo a modo de mascarilla, o mediante pulverización del mismo. Se suele usar como terapia tópica tras las exfoliaciones químicas o físicas o tras el «laser resurfacing», a modo de bioestimulador de la regeneración cutánea. También usamos el plasma rico en factores de crecimiento en forma de coágulo para rellenar cicatrices, arrugas, o surcos como el de la cuenca orbitaria («tear through»).

Existen en el mercado dermocosmético diversos preparados tópicos comercializados que incluyen en su composición factores de crecimiento y proteínas solubles de matriz secretadas por fibroblastos dérmicos humanos. La aplicación tópica de factores de crecimiento humanos en múltiples estudios clínicos ha demostrado reducir los signos y síntomas del envejecimiento cutáneo, incluyendo una reducción en las arrugas y la elastosis, además de un incremento en la síntesis de colágeno dérmico estadísticamente significativos (8). A nivel histológico, se ha evidenciado que producen un incremento en el grosor de la epidermis y un aumento en la densidad de fibroblastos en la dermis superficial (31).

Cuando el objetivo es realizar una bioestimulación cutánea, podemos utilizar el PRP a nivel intradérmico, a modo de mesoterapia, para el tratamiento de arrugas, cicatrices, elastosis o discromías. La inyección intradérmica de factores de crecimiento produce cambios clínicos notables sobre la piel envejecida: restaura la vitalidad cutánea, aumenta el grosor de la piel, recupera la consistencia elástica, mejora la afluencia vascular, estimula las secreciones, y mejora la tersura y apariencia de la piel. Los factores de crecimiento regulan la remodelación de la epidermis y de la dermis, y tienen una gran influencia sobre la apariencia y textura de la piel.

Otra aplicación novedosa del PRP es la destinada a mejorar la calidad celular de las infiltraciones de tejido graso libre lipoaspirado en la lipoescultura (31,32). El grupo de *Cervelli et al* ha publicado los más destacados estudios sobre los efectos del PRP mezclado con injertos de grasa libre usados para el rejuvenecimiento cutáneo, evidenciando, a nivel clínico, un mayor porcentaje de mantenimiento en el tiempo del contorno restaurado y de la tridimensionalidad estereológica cuando el injerto graso es mezclado con PRP, que cuando se aplica de manera aislada; e, in vitro, un significativo incremento de las células adipocitarias.

CONCLUSIONES

- En la mayoría de los estudios disponibles hasta el momento no se especifica si el PRP se activa previamente con algún sustrato (cloruro cálcico, trombina bovina, TRAP, etc.) o bien ni siquiera si se activa, y por ello cabe esperar que la liberación y/o activación de los factores en el lecho difiera según si el PRP se activa o no y según el método de activación, convirtiéndose esta cuestión en un factor más que pudiera afectar la eficacia del tratamiento con PRP.
- La expresión de los receptores plaquetarios que intervienen en el proceso de interacción entre plaqueta y colágeno, el GPVI y la integrina $\alpha 2\beta 1$, en el lecho tratado con el PRP, podría ser objeto de interesante estudios a futuro.
- Existe poco consenso sobre el proceso de obtención y caracterización del PRP, lo cual impide que se pueda establecer un protocolo estándar que sería necesarios para integrar la vasta literatura sobre el tema de un modo científico. Esta variabilidad puede dificultar el diseño y ejecución de futuros estudios clínicos.
- El PRP es una de las herramientas médicas regenerativas más novedosas en la medicina *anti-aging*, y son patentes sus efectos beneficiosos sobre el rejuvenecimiento cutáneo; aunque el mecanismo de acción de los factores de crecimiento es un terreno en el que aún queda mucho por investigar.

REFERENCIAS

1. Anitua E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. "Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF)". Puesta al día publicaciones, S.L. Victoria-Spain. 2000.
2. Las sorprendentes posibilidades de las células madre adultas [homepage on the Internet]. 6 octubre 2005. Available from: bioeticaweb.com.
3. Thomas S, Jones M, Wynn K, Fowler T. "The current status of maggot therapy in wound healing". Br J Nurs. 2001 12; 10(22): S5.
4. Gómez B, Becerro R, Losa M, et al. "Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF)". Revista Internacional de ciencias podológicas. Vol. 1, Núm. 1, 2007, 7-10. ISSN: 1887-7249.
5. Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Díaz LL. "Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate". Cancellous bone and marrow. J Oral Maxillofac Surg 1994; 52, 161-6.
6. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. "Platelet-Rich plasma. Growth factor enhancement for bone grafts". Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol, Oral Radio, Endod 1998; 85; 638-46.
7. Anitua EMP DDS. "The Use of Plasma Rich in Growth Factors (PRGF) in oral surgery". Prad Proced Aesthet Dent 2001; 13:487-93.
8. Rodriguez J, Palomar MA, Torres J. "Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial". Rev Esp Cir Oral Maxilofac. 2012; 34(1): 8-17

9. Conde Montero E, et al. Plasma rico en plaquetas: aplicaciones en Dermatología. Actas dermo-sifiliográficas. 2014. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ad.2013.12.021>
10. Mehta S, Watson JT. Platelet rich concentrate: basic science and current clinical applications. J Orthop Trauma. 2008;22:432–8.
11. Lopez A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. Rev Esp Cardiol Supl. 2013;13(B):2-7. Descargado de <http://www.revespcardiol.org> el 28/05/2014.
12. Rodriguez J, Palomar MA, Torres J. “Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial”. Rev Esp Cir Oral Maxilofac. 2012; 34(1): 8-17
13. Marx RE. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. J Oral Maxillofac Surg. 2004;62:489–96.
14. Escobar H. “Terapia de bioestimulación con plasma rico en plaquetas para el envejecimiento cutáneo”. Rev. argent. dermatol. vol.93 no.1 Ciudad Autónoma de Buenos Aires ene. /mar. 2012.
15. Redaelli A, Romano D, Marcianó A. “Face and neck revitalization with platelet-rich plasma (PRP): Clinical outcome in a series of 23 consecutively treated patients”. J Drugs Dermatol. 2010;9:466---72.
16. Rodriguez J, Palomar MA, Torres J. “Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial”. Rev Esp Cir Oral Maxilofac. 2012; 34(1): 8-17
17. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. “Resolución por la que se establece la clasificación del uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, como medicamentos de uso humano para atender necesidades especiales”. 23 de mayo del 2013.
18. <http://www.aemps.gob.es/eventosCongresos/AEMPS/2013/J-plasma-rico-plaquetas.htm>

19. Sáez-Torres C, Calvo J, Gayá A. Calidad del plasma rico en plaquetas: Estudio de la activación plaquetaria. *Rev. Esp. Cir Oral y Maxilofac.* 2007; 29,4 (julio-agosto):240-248© 2007.
20. Anitua E, Andía I, Sanchez M. PRGF (Plasma rico en factores de crecimiento). *Dental Dialogue* 2004; 2:2-15.
21. Lorente A, Estudio de microscopía electrónica y cuantificación de los factores de crecimiento mediante un nuevo procedimiento de obtención de plasma rico en plaquetas. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. Departamento de Cirugía. Madrid, 2010.
22. Dohan Ehrenfest DM, Sammartino G, Shibli JA, Wang HL, Zou DR, Bernard JP. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. *POSEIDO.* 2013; 1(1):17-27.
23. Ballester JF, Sola J, Borrás J, Ferreira J, Morales D, Arnás M, et al. Estudio comparativo de cuatro procedimientos para la obtención del coágulo concentrado en plaquetas. *Revista española odontoestomatología de implantes.* 2003; 11(1):6-13.
24. Zimmermann R, Jakubietz R, Jakubietz M, Strasser E, Schlegel A, Wiltfang J, et al. Different preparation methods to obtain platelet components as a source of growth factors for local application. *Transfusion.* 2001 10; 41(10): 1217-24.
25. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2004;114:1502–8
26. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in latelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg.*2002; 30:97–102.

27. Leitner GC, Gruber R, Neumuller J, Wagner A, Kloimstein P, Hocker P, et al. Platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: A comparison of four different systems. *Vox Sang.* 2006 08/21; 91(2): 135-9.
28. Marx RE. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62:489–96.
29. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: A review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2006; 118:147e–59e.
30. Lopez A, Macaya C. Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2013; 13(B):2-7. Descargado de <http://www.revespcardiol.org> el 28/05/2014.
31. Rodríguez-Flores J, Palomar-Gallego MA, Enguita-Valls AB, Rodríguez-Peralto JL, Torres J. Influence of Platelet-Rich Plasma on the Histologic Characteristics of the Autologous Fat Graft to the Upper Lip of Rabbits. *Aesth Plast Surg.* 2011; 35:480–6.
32. Cervelli V, Gentile P, Scioli MG, Grimaldi M, Casciani CU, Spagnoli LG, et al. Application of platelet-rich plasma to fat grafting during plastic surgical procedures: clinical and in vitro evaluation. *Tissue Eng Part C Methods.* 2009;15:625–34.