

Nicola Maffulli

PLASMA RICO EN PLAQUETAS

 **Biblioteca digital**

Incluye **e-Book**

*en la práctica
musculoesquelética*



Plasma rico en plaquetas en la práctica musculoesquelética

Nicola Maffulli

Departamento de Trastornos Musculoesqueléticos
Facultad de Medicina, Cirugía y Odontología
Universidad de Salerno
Salerno, Italia



2021



Prefacio

En el futuro cercano, la mayoría de los países occidentales tendrán que hacer frente a las implicaciones económicas de las demandas impuestas por la creciente tasa de enfermedades musculoesqueléticas. Por lo tanto, existe una necesidad real de desarrollar más investigación y nuevas terapias. Los padecimientos osteoarticulares y las tendinopatías afectan tanto a los adultos mayores como a los jóvenes, son comunes y causan dolor intenso a largo plazo y discapacidad crónica, impactando negativamente en la calidad de vida e induciendo sedentarismo.

El problema está empeorando, ya que hay una mayor incidencia de los factores de riesgo, incluidos el envejecimiento, las lesiones traumáticas deportivas y las enfermedades metabólicas. La morbilidad y los costos financieros son muy importantes. El progreso crítico en las intervenciones biológicas novedosas podría satisfacer necesidades urgentes de salud, reducir costos y permitir a los pacientes reanudar un estilo de vida saludable y activo.

Durante la última década, ha ganado terreno el concepto de que las afecciones musculoesqueléticas crónicas, como la osteoartritis y la tendinopatía, están relacionadas con la cicatrización deficiente por la falla de uno o varios de los procesos celulares/moleculares involucrados. La carga económica y social de los trastornos musculoesqueléticos es un desafío, y las intervenciones biológicas en su forma actual no pueden satisfacer la demanda clínica de un tratamiento duradero.

Las nuevas tecnologías están haciendo posible lidiar con la complejidad intrínseca del mecanismo regenerativo. Sin embargo, las tecnologías destinadas a esto siguen siendo caras y limitadas.

En este contexto, el uso de plasma rico en plaquetas (PRP) y sus derivados es alentador. La sangre y sus productos son atractivos porque la sangre contiene factores biológicamente activos y es responsable de la hemostasia, la síntesis de nuevo tejido conjuntivo y la revascularización. Los factores de crecimiento, y la inducción de una mayor liberación de factores de crecimiento, parecen mejorar el proceso de curación en lesiones crónicas y acelerar la reparación en lesiones agudas y crónicas. El PRP se puede utilizar para mejorar la cicatrización de las articulaciones y los tejidos blandos y, a menudo, se recomienda como la mejor práctica para el tratamiento de las lesiones musculoesqueléticas.

Aún hay muchas preguntas sin responder en cuanto al volumen y la frecuencia más apropiados de las inyecciones, el período ideal entre inyecciones múltiples y el mecanismo por el cual se aprovecharía su efecto beneficioso. Bajo este panorama, *Plasma rico en plaquetas en la práctica musculoesquelética* ofrece algunas ideas sobre el uso de PRP en este campo. Está escrito por entusiastas que han realizado muchas investigaciones sobre el tema. Todos los autores reconocen que estamos al comienzo de un largo camino por recorrer. Todavía no sabemos por qué funciona el PRP, cuándo está contraindicado y por qué algunos pacientes responden maravillosamente bien, mientras otros no lo hacen en absoluto. Sin embargo, tenemos que comenzar, y este es el primer paso.

AMOLCA

Nicola Maffulli

Salerno, Italia

Londres, Reino Unido

Prefacio a la edición en español

Hace más de 20 años ya se utilizaba el plasma rico en plaquetas (PRP), método seguro por ser autólogo, utilizado en áreas como odontología, cirugía maxilofacial, entre otros. Es así como los nuevos avances e investigaciones han permitido tener mayor conocimiento en el área musculoesquelética. Sin embargo, a pesar de todos los estudios sobre el PRP, aún es controversial su uso, ya que dependen de muchos factores como el mecanismo de cicatrización y el tejido receptor que varía entre pacientes.

Este libro no solo está dirigido para el traumatólogo sino también para aquellos que se dedican a la fisioterapia y medicina del deporte, ya que son ellos quienes nos derivarán a los pacientes que no hayan mejorado con el tratamiento conservador y es ahí donde el plasma rico en plaquetas pueda actuar en su beneficio.

En la práctica diaria atendemos muchos pacientes con lesiones musculoesqueléticas, muchos de ellos con múltiples tratamientos fallidos, y el tratamiento biológico debe ser parte de nuestro abanico de opciones para ellos, ya que han demostrado buenos resultados en diferentes patologías como se demostrarán en los siguientes capítulos.

El libro está dividido en diez capítulos, desde el inicio vamos a conocer el contenido y la composición del plasma rico en plaquetas, aprenderemos sobre factores de crecimiento, terminología como plasma rico y pobre en leucocitos, métodos de activación, centrifugado y conoceremos un poco sobre los PRP comerciales, así como su efecto en diferentes tejidos, seguiremos con el uso del plasma rico en plaquetas para el manejo del dolor, y su utilización para bloqueos nerviosos guiados eco-

gráficamente para lesiones ligamentarias, tendinosas y de columna, con buenos resultados por su gran poder antiinflamatorio. Seguiremos con un capítulo sobre tips para el uso del PRP orientado a su utilización y lo beneficioso para coadyuvar un tratamiento de rehabilitación, y a continuación se presentarán diversos capítulos sobre patología ligamentaria, tendinosa, de cartílago y manejo de la osteoartritis de rodilla, todos ellos con estudios aleatorizados para recomendar o no el uso del PRP.

Los últimos dos capítulos nos hacen referencias sobre el efecto del plasma sobre otros receptores y factores de crecimiento en otros tejidos y hormonas, así como la biología de los tendones y su efecto contrario con el plasma rico en plaquetas para la cicatrización.

Esperemos que, así como yo, queden satisfechos con *Plasma rico en plaquetas en la práctica musculoesquelética* de Nicola Maffulli y dispuestos a poner en práctica el uso del plasma rico en plaquetas en lesiones musculoesqueléticas.

Claudia Arias Calderón

Médico especialista en cirugía reconstructiva de rodilla
Hospital Nacional Edgardo Rebagliatti Martins

Lima, Perú

AMOLCA

Sobre el editor

Nicola Maffulli

Departamento de Trastornos Musculoesqueléticos, Facultad de Medicina, Cirugía y Odontología, Universidad de Salerno, Salerno, Italia

Centro de Medicina Deportiva y del Ejercicio, Barts and London School of Medicine and Dentistry, Queen Mary University of London, Londres, Reino Unido

The logo for AMOLCA features a stylized 'AM' monogram in a light blue color, enclosed within a thin red circular border. Below this graphic, the word 'AMOLCA' is written in a large, bold, light blue sans-serif font.

AMOLCA

Contenido

1	Contenido y formulaciones del plasma rico en plaquetas.....	1
	Amy S. Wasterlain, Hillary J. Braun y Jason L. Dragoo	
2	Plasma rico en plaquetas en medicina del dolor	31
	José Fábio Santos Duarte Lana, Eduardo Fonseca Vicente, Adam Weglein, William Dias Belangero, Fabrício Dias Assis y André Marques Mansano	
3	PRP: consejos para la aplicación en el sistema musculoesquelético.....	63
	Steven Sampson, Ken Mautner, Alessio Giai Via y Angie Botto-van Bemden	
4	PRP en tendones y otros tejidos no óseos	93
	Sebastiano Vasta, Rocco Papalia, Vincenzo Denaro y Nicola Maffulli	
5	Plasma rico en plaquetas en lesiones del cartílago articular	107
	Elizaveta Kon, Giuseppe Filardo, Berardo Di Matteo, Giulia Venieri y Maurilio Marcacci	
6	Plasma rico en plaquetas en la osteoartritis de rodilla en el atleta	123
	Mary Alexis Iaccarino y Joanne Borg-Stein	
7	Plasma rico en plaquetas en cirugía de pie y tobillo	147
	Catie Cunningham, Amit Sood y Sheldon Lin	

8	Plasma rico en plaquetas para terapia biológica: aplicaciones y límites	175
	Giuliana Gobbi y Marco Vitale	
9	Efectos sistémicos del plasma rico en plaquetas	199
	Amy S. Wasterlain, Hillary J. Braun y Jason L. Dragoo	
10	Posibles vínculos entre la patología tendinosa y la biología del plasma rico en plaquetas	223
	Isabel Andia, Eva Rubio-Azpeitia y Nicola Maffulli	
	Índice	241



Contenido y formulaciones del plasma rico en plaquetas

1

Amy S. Wasterlain, Hillary J. Braun
y Jason L. Dragoo

Varios estudios han demostrado el papel del plasma rico en plaquetas (PRP) en acelerar y facilitar la respuesta a la lesión. La respuesta celular a la lesión progresa a través de cuatro etapas generales: hemostasia, inflamación, proliferación y finalmente remodelación. Cada fase se caracteriza por una mayor actividad celular o molecular, todas las cuales involucran plaquetas. El plasma sanguíneo y las plaquetas son responsables de la hemostasia, mientras que los leucocitos y las plaquetas activadas median la inflamación, y los factores de crecimiento derivados de los gránulos α de las plaquetas influyen en la regeneración tisular. En específico, se cree que el contenido de leucocitos del PRP influye en la fase inflamatoria, mientras que las concentraciones de factor de crecimiento angiogénico y mitogénico ayudan a la regeneración tisular [1]. Tanto la composición precisa como la formulación de PRP afectan el entorno celular en el que se coloca y determinan su efecto general sobre la reparación del tejido.

A.S. Wasterlain, MD • H.J. Braun, MD • J.L. Dragoo, MD (✉)

Departamento de Cirugía Ortopédica, Universidad Stanford, Stanford, California, EUA

Correo electrónico: jdragoo@stanford.edu

Contenido de preparaciones de plasma rico en plaquetas

El objetivo de cualquier terapia de regeneración de tejidos es facilitar el desarrollo de una matriz extracelular bien organizada capaz de lograr el rendimiento mecánico y la funcionalidad del tejido no lesionado [2]. Por lo tanto, es imprescindible caracterizar los constituyentes moleculares de estas terapias cuando se evalúa su eficacia. La respuesta celular al PRP está influenciada por la composición de este, incluidas las concentraciones relativas de plaquetas, glóbulos blancos (WBC, por sus siglas en inglés), fibrinógeno y fibrina y factores de crecimiento.

Plaquetas

Actualmente, el PRP se define de manera consistente solo por la cantidad absoluta de plaquetas y no por otros componentes. En los humanos, el recuento normal de plaquetas en la sangre entera varía de aproximadamente 150.000 a 350.000/ μl [3], mientras que el plasma rico en plaquetas a menudo se define como al menos 1.000.000 de plaquetas/ μl suspendidas en plasma [4]. Para garantizar que las plaquetas estén suspendidas y no formen un coágulo, el PRP debe hacerse con sangre anticoagulada.

La lógica detrás del PRP es que las plaquetas son las primeras en llegar al sitio de la lesión tisular y, por lo tanto, tienen el potencial de liberar factores de crecimiento que desempeñan un papel crítico en la curación [5]. Por ejemplo, la piel, la membrana sinovial y el tendón tratados con preparaciones que contienen concentraciones de plaquetas de dos o cuatro veces mostraron proliferación celular significativamente mayor que los tejidos no tratados [6]. Muchas de las citocinas y factores de crecimiento que se cree que son responsables de los efectos de PRP están contenidos dentro de los gránulos α de las plaquetas. Las citocinas básicas contenidas en las plaquetas incluyen el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1), el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) [3]. La activación plaquetaria desencadena la desgranulación y la liberación de estos factores de crecimiento. El tiempo

y la liberación acumulativa de factores de crecimiento se determina por el método de activación (véase «Activación plaquetaria» a continuación), pero puede continuar durante la vida útil de las plaquetas de 8 a 10 días [3]. Muchos expertos han sugerido que, a diferencia de los tratamientos con factor de crecimiento exógeno, el PRP ofrece el beneficio de mantener las relaciones fisiológicas normales de estas moléculas.

La relación precisa entre el recuento de plaquetas y las concentraciones de factor de crecimiento permanece sin dilucidar. Algunos estudios han demostrado que el recuento de plaquetas está correlacionado con el tipo y la cantidad de factores de crecimiento liberados después del tratamiento con PRP. Por ejemplo, Sundman y cols. recientemente encontraron correlaciones positivas entre los recuentos de plaquetas y las concentraciones de TGF- β 1 y PDGF-AB dentro de las preparaciones de PRP [7]. Dado que TGF- β 1 y PDGF-AB se consideran factores de crecimiento anabólico, los autores sugieren que las plaquetas aumentan la señalización anabólica.

Esto es consistente con los efectos clínicos del PRP en facilitar la reparación del tendón [8, 9]. Por otro lado, otros han argumentado que la simple suposición de que la concentración de plaquetas es directamente proporcional a la concentración del factor de crecimiento es errónea [10]. El análisis de regresión lineal realizado por Eppley mostró poca correlación entre el número de plaquetas y la concentración del factor de crecimiento, con una alta variación de paciente a paciente [11]. Aunque encontraron aumentos significativos en VEGF (6,2 \times), PDGF-BB (5,1 \times), EGF (3,9 \times) y TGF- β 1 (3,6 \times) en PRP en relación con la sangre entera, la correlación entre el recuento de plaquetas y este crecimiento los factores fue baja, con la mejor correlación a solo 60,4 % para TGF- β 1 [11]. Zimmerman y cols. demostraron que hasta el 50 % de la variación en las concentraciones de factor de crecimiento puede explicarse por el grado de contaminación con WBC [10]. También mostraron que las condiciones de almacenamiento, como la temperatura y el tiempo desde la preparación inicial, influyen en el contenido total del factor de crecimiento. Un estudio publicado recientemente también sugirió que los factores de crecimiento derivados de las plaquetas pueden quedar atrapados en el pegamento de fibrina asociado con las preparaciones de gel de PRP [12].

La relación entre el recuento de plaquetas y la respuesta celular también es ambigua. Una comparación de los efectos de diferentes concentraciones de plaquetas en la expresión de fibroblastos de los niveles de colágeno tipo I no mostró una relación dosis-respuesta al aumento de las concentraciones de plaquetas [6]. Sin embargo, Haynesworth y cols. demostraron que la proliferación de células madre mesenquimales humanas es proporcional a las concentraciones de plaquetas en PRP, y comienza con un aumento de cuatro veces en el número de plaquetas [13]. Del mismo modo, Lui y cols. demostraron que el aumento de las concentraciones de plaquetas y los niveles ácidos de pH estimulan la proliferación de fibroblastos y la producción de colágeno tipo I [14].

Vale destacar que, si bien se ha demostrado que el PRP mejora la curación de la lesión del tendón, la mejora clínica no está necesariamente correlacionada con la concentración de plaquetas. Por ejemplo, un modelo animal *in vivo* de curación del ligamento cruzado anterior mostró una disminución del 24 % en la densidad celular de los tejidos de reparación tratados con una concentración de plaquetas 3× en relación con 5×, pero no hubo diferencias significativas en las propiedades estructurales o mecánicas del ligamento [15]. De manera alternativa, las concentraciones de plaquetas excesivamente altas pueden tener efectos nocivos sobre la curación [3]. En un estudio que comparó los efectos de PRP con concentraciones de plaquetas bajas (dos millones de plaquetas/ μ l) y altas (cinco millones de plaquetas/ μ l) sobre las anastomosis intestinales, la concentración más baja de plaquetas promovió la cicatrización de heridas anastomóticas, mientras que la concentración más alta inhibió la curación [16].

Leucocitos

A diferencia de las plaquetas, que aumentan la señalización anabólica, los leucocitos contienen y producen citocinas que son catabólicamente activas y promueven la inflamación (Tabla 1.1). Un alto recuento de leucocitos se ha asociado con una mayor liberación de VEGF [17, 18]. Dragoo y cols. también han demostrado una respuesta inflamatoria aguda con gran aumento de la celularidad y la vascularización en los tendones de conejo 5 días después del tratamiento con PRP rico en leucocitos (LR-PRP) en relación con PRP pobre en leucocitos (LP-PRP) (Fig. 1.1). El mismo estudio mostró que la inflamación aguda se resolvió a los 14 días.

TABLA 1.1 Factores de crecimiento asociados con diferentes tipos de células

Tipo de célula	Factores de crecimiento asociados
Leucocitos	PDGF, VEGF
Neutrófilos	MMP-9, IL-1B
Monocitos	IL-1B
Plaquetas	PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, VEGF, TGF-B1

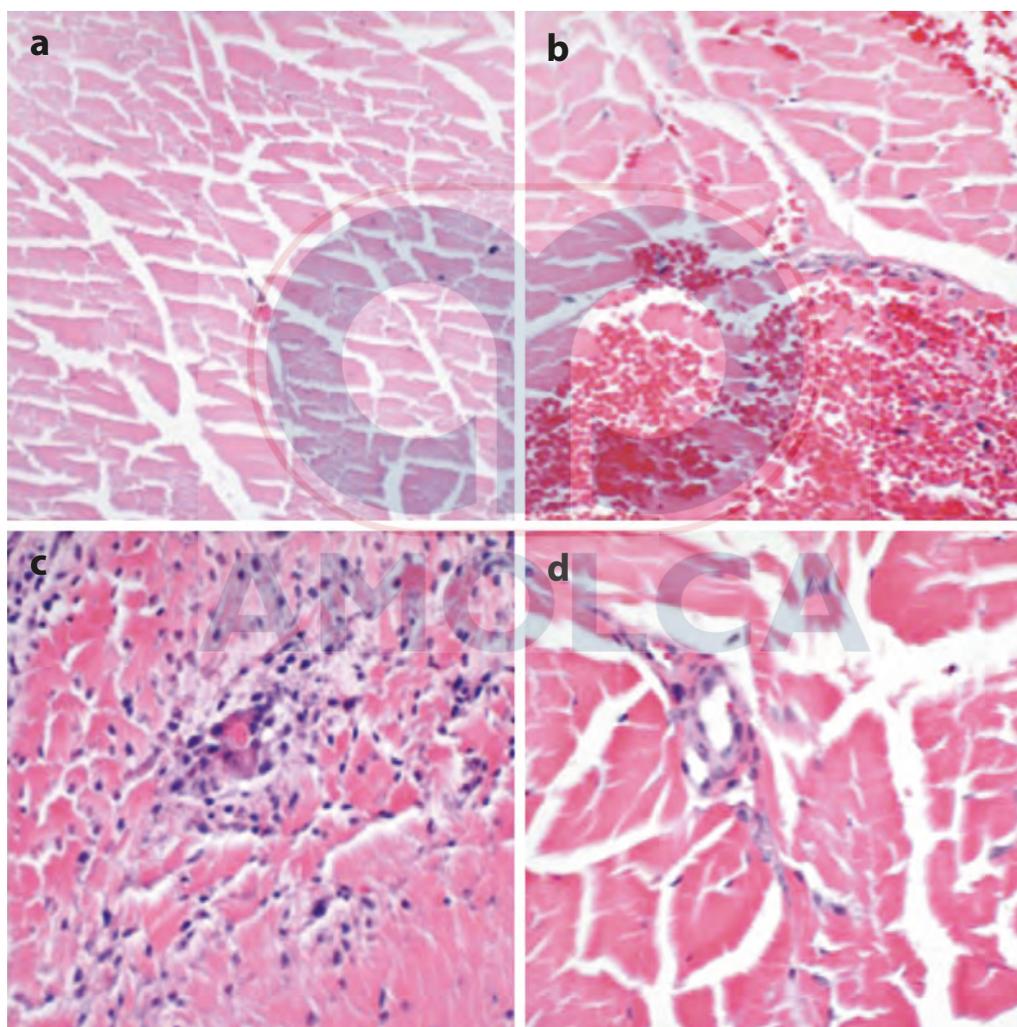


Figura 1.1 Se muestran campos representativos de alta potencia (400x) para cada grupo de tratamiento de tendones a los 5 días después de la inyección de solución salina (**a**), sangre entera (**b**), PRP rico en leucocitos (LR-PRP) (**c**) y PRP pobre en leucocitos (LP-PRP) (**d**). Los tendones tratados con solución salina (**a**) parecen relativamente normales, mientras que los tratados con LP-PRP (**d**) muestran una pequeña respuesta inflamatoria. Los tendones tratados con sangre entera (**b**) muestran cierta infiltración de células inflamatorias, mientras que los tratados con LP-PRP (**c**) muestran una marcada infiltración de macrófagos y linfocitos.

La concentración de leucocitos se asocia positivamente con la expresión génica catabólica y negativamente con la expresión génica de la matriz en el tendón y el ligamento [19]. Los gránulos de neutrófilos contienen colagenasas, gelatinasas, lisozimas, elastasas, serprocidinas y mieloperoxidasa, que facilitan la degradación de tendones y ligamentos [20]. Específicamente, los neutrófilos están asociados con mayores concentraciones de MMP-9 e IL-1B, y los monocitos están asociados con mayores concentraciones de IL-1B en PRP [7]. La relación antagónica entre las plaquetas y los leucocitos, y los factores de crecimiento y las citocinas que producen, sugiere que la preparación de PRP ortopédico ideal podría tener una alta proporción de plaquetas con respecto a leucocitos, promoviendo así el anabolismo sobre el catabolismo.

Por otro lado, es posible que los leucocitos puedan desempeñar un papel antimicrobiano importante en el PRP, particularmente durante la operación, donde el riesgo de infección es mayor. Por ejemplo, un análisis retrospectivo de 1.400 pacientes mostró que el LR-PRP redujo significativamente las infecciones de la herida en el pecho y disminuyó el drenaje de la herida en el pecho y las piernas después de la cirugía de revascularización coronaria [21]. Aunque el LR-PRP reduce el dolor y la inflamación después de procedimientos ortopédicos abiertos y cerrados [22, 23], el efecto del LR-PRP no se ha comparado directamente con el del LP-PRP.

Fibrina

En respuesta a la lesión celular *in vivo*, la trombina escinde el fibrinógeno soluble en monómeros de fibrina que se ensamblan en redes de polímeros de fibrina insolubles. En última instancia, estas redes forman una matriz provisional en el sitio de la lesión en la que las plaquetas, los leucocitos y otras células pueden proliferar, organizarse y ejecutar funciones especializadas [24]. Las terapias de regeneración de tejidos, incluidas las preparaciones ricas en plaquetas, a menudo apuntan a replicar y modificar estas matrices naturales. Debido a que la estructura y función de estas matrices de fibrina está determinada por varias condiciones, incluidas las tasas de coagulación y polimerización [24], es importante tener en cuenta la concentración de fibrinógeno, la densidad

de fibrina y la polimerización al evaluar las terapias de regeneración de tejidos [25].

Las formulaciones líquidas de PRP contienen fibrinógeno soluble, que es la molécula precursora de los monómeros de fibrina. El fibrinógeno modula la actividad de monocitos y macrófagos y, por lo tanto, media la transición entre las etapas inflamatorias y regenerativas de la respuesta a la lesión [26]. El fibrinógeno es una molécula heterogénea, con diferencias que dependen de modificaciones de proteínas postraduccionales, así como de variantes genéticas [27]. Por lo tanto, las respuestas celulares a las matrices de fibrinógeno o fibrina dentro de las aplicaciones de PRP pueden ser altamente individualizadas. A diferencia de las formas de PRP en gel o membrana, el PRP líquido no contiene una matriz de fibrina *ex vivo*.

Las aplicaciones de gel o de membrana contienen formas variables de matrices de fibrina que pueden servir como andamios (*scaffolds*) para la regeneración de tejidos. Sin embargo, debido a que todas las aplicaciones de gel o matriz sólida de PRP se derivan de la fracción sanguínea líquida inicial, la densidad de fibrina se determina por la concentración de fibrinógeno durante la preparación. La mayoría de los protocolos de PRP finalmente producen una matriz de fibrina de baja densidad adecuada para la aplicación quirúrgica, pero carecen de la verdadera red de soporte que puede ayudar a la curación [28]. Otro factor importante, la polimerización de fibrina, está determinado por la relación de fibrinógeno y trombina y las propiedades biomecánicas finales del producto de PRP. Las altas concentraciones de trombina desencadenan una rápida polimerización, lo que lleva a la formación de una red densa que dificulta la señalización de citocinas y la migración celular. Por el contrario, la polimerización lenta crea un andamio más flexible y un entorno que es más propicio para la migración celular y la señalización de citocinas [29].

Algunas formulaciones comerciales de PRP pueden permitir la preparación de PRP líquido o en gel, lo que puede ser útil para ciertas aplicaciones clínicas (véase la sección «Sistemas de PRP comerciales» a continuación).

TABLA 1.2 Papeles de los factores de crecimiento y otras moléculas contenidas en PRP

Papel	Pro-	Anti-
Angiogénesis [40, 41]	Angiopoyetina-1, CD40L, HGF, PDGF, TGF- β 1, VEGF	Endostatinas, factor plaquetario 4, trombospondina 1, tromboglobulina B
Inflamación	EGF, IL-1 β , PDGF, VEGF	HGF
Deposición de matriz	TGF- β	MMP-9
Proliferación y migración celular	EGF, FGF, hGH, IGF-1, PDGF, TGF- β	

Factores de crecimiento y citocinas

El PRP contiene numerosos factores de crecimiento, cuyas propiedades varían de forma significativa (Tabla 1.2). El PRP por lo general contiene un aumento de tres a cinco veces en las concentraciones de factor de crecimiento. La actividad anabólica y la capacidad de inducir la diferenciación de condrocitos y tenocitos son propiedades importantes para tener en cuenta en ortopedia.

Los factores de crecimiento anabólico contenidos en PRP incluyen TGF- β 1, PDGF, IGF-1, VEGF, hormona de crecimiento humano (hGH) y bFGF. IGF-1 mejora la proliferación de fibroblastos, que es fundamental para la reparación del tendón. Dado que es producido por el hígado, IGF-1 está contenido principalmente en plasma y, por lo tanto, es constante en la mayoría de las preparaciones de PRP, independientemente del recuento de plaquetas. VEGF, PDGF y TGF- β 1 son factores de crecimiento clave derivados de las plaquetas. Tanto IGF-1 como hGH se correlacionan positivamente con la expresión de colágeno musculotendinoso [30]. VEGF es un poderoso estimulador de la angiogénesis, construyendo nueva vasculatura para llevar células extrínsecas, nutrientes y factores de crecimiento adicionales al sitio de la lesión [31, 32]. TGF- β 1 mejora la síntesis y deposición de colágeno *in vitro*, y regula la proliferación celular, la división y la apoptosis [33-35]. PDGF se encuentra principalmente y se almacena en los gránulos α de las plaquetas [36], y por lo tanto es directamente proporcional al número de plaquetas en PRP. Es quimiotáctico para los macrófagos y fibroblastos, mejora la deposición de fibronectina y glicosaminoglicanos y aumenta la actividad

celular temprano en la respuesta de curación [37, 38]. bFGF, también conocido como FGF-2, contribuye a la angiogénesis al estimular la proliferación de células endoteliales e interactúa con TGF- β y PDGF-BB para mejorar la proliferación de células satélite, las células madre del músculo maduro [39].

Los factores de crecimiento catabólico encontrados en PRP incluyen MMP-9 e IL-1 β . MMP-9 degrada el colágeno y otras moléculas de la matriz extracelular, y se asocia con una mala cicatrización. IL-1 β es una potente citocina inflamatoria, y se ha implicado en enfermedades autoinflamatorias, tendinitis y traumatismos. Los tendones del manguito de los rotadores humanos lesionados contienen IL-1 β incrementada, e IL-1 β activa su propio circuito de retroalimentación positiva, incrementando aún más IL-1 β y generando una respuesta inflamatoria masiva [39].

Aunque el PRP contiene algunos factores de crecimiento que se sabe que son anabólicos, también contiene muchas moléculas que pueden antagonizar su efecto sobre el metabolismo de los tejidos. Por ejemplo, el PRP contiene muchos factores de crecimiento que son procondrogénicos, incluidos TGF- β 1, IGF-1, bFGF y BMP-2. Sin embargo, la mayoría de las preparaciones también contienen altos niveles de factores de crecimiento anticondrogénicos, tales como VEGF, IGFBP, PDGF y EGF. Estudios adicionales han demostrado que si bien los factores de crecimiento condrogénico como el TGF- β 1 estimulan directamente la producción de colágeno tipo I en la piel, tejido sinovial y tendón, las preparaciones de PRP que contienen la misma cantidad de TGF- β 1 inhiben la producción de colágeno [6]. Estos resultados reflejan el complejo conjunto molecular contenido en PRP y apuntan a los posibles efectos antagónicos de muchos de estos factores de crecimiento. Este hallazgo ha despertado interés en modificar las preparaciones de PRP para eliminar los factores de crecimiento antagonistas indeseados.

Formulaciones ricas en plaquetas

Dos cuestiones principales enturbian la literatura actual sobre el PRP. Primero, hay poco consenso sobre los componentes exactos del PRP; la única definición mantenida de manera consistente en la literatura define el PRP como un volumen de plasma autólogo que tiene una concen-

tración de plaquetas por encima de la línea de base normal, que suele oscilar entre 150.000/ μl a 350.000/ μl [4]. En segundo lugar, los sistemas de nombres utilizados para clasificar las formulaciones de PRP son muy inconsistentes. Por ejemplo, el gel de plasma pobre en plaquetas (PPP) también se conoce como pegamento de fibrina o sellador de fibrina. De manera similar, algunos autores utilizan gel de PRP, matriz de fibrina de PRP y membrana de PRP de manera intercambiable, mientras que otros documentan diferencias sutiles en los protocolos de preparación o las propiedades biomecánicas finales.

Sin embargo, independientemente de la nomenclatura, todas las técnicas de preparación que caen bajo el paraguas de PRP tienen varias cosas en común [25]. Primero se extrae sangre del paciente con anticoagulante y se centrifuga inmediatamente dentro de la hora. Esta centrifugación inicial separa los glóbulos rojos (RBC) del plasma pobre en plaquetas (PPP) acelular y la «capa leucocitaria» (*buffy coat*), que contiene plaquetas concentradas y glóbulos blancos (WBC). A través de varios otros pasos, las capas de PPP y RBC se descartan y queda el concentrado de plaquetas. Las plaquetas contenidas dentro de esta capa se pueden activar usando trombina, cloruro de calcio o factores ambientales, y esta capa se puede aplicar al sitio de la lesión como una inyección líquida o como un gel después de un procesamiento adicional. El PRP (incluyendo PRP pobre en leucocitos), PRP rico en leucocitos (LR-PRP) y preparación rica en factores de crecimiento (PRGF) son preparaciones líquidas comúnmente inyectadas. Este tipo de tratamiento se puede realizar en un entorno ambulatorio mínimamente invasivo y envía la preparación activada de forma directa al sitio de la lesión, lo que resulta en una liberación inmediata de factores de crecimiento que pueden influir en las células durante un máximo de 7 días [42, 43].

Plasma rico en plaquetas (PRP)

Se han propuesto varias definiciones para PRP. Una definición es una fracción de sangre autóloga con una concentración de plaquetas de al menos un millón de plaquetas/ μl , o aproximadamente cinco veces mayor que al de la sangre entera [4, 44]. Como alternativa, otros han propuesto cualquier concentración de plaquetas por encima de la lí-

nea de base normal, que típicamente varía de 150.000/ μ l a 350.000/ μ l [4]. El PRP se obtiene extrayendo un pequeño volumen de sangre (generalmente, 25-50 ml), separando los componentes de plasma, plaquetas y glóbulos rojos por centrifugación, y extrayendo aproximadamente 3-5 ml de la «capa leucocitaria» rica en plaquetas. Esta fracción autóloga rica en plaquetas y factores de crecimiento puede preactivarse con la trombina del factor de coagulación o inyectarse directamente de nuevo al paciente en el sitio de la lesión muscular o tendinosa. Dentro del PRP, varios métodos de preparación conducen a la producción de PRP rico en leucocitos (LR-PRP), PRP pobre en leucocitos (LP-PRP) o preparación rica en factores de crecimiento (PRGF).

PRP rico en leucocitos (LR-PRP)

El PRP rico en leucocitos incluye a estos en la fracción de sangre autóloga. Debido a que se requiere un sistema de separación para excluir los leucocitos, la mayoría de los protocolos utilizados en la literatura actual producen LR-PRP.

Varios estudios recientes han caracterizado la concentración de leucocitos producida por los sistemas de preparación de PRP disponibles comercialmente [7, 45]. Estas investigaciones han planteado preguntas sobre el papel de los leucocitos en la aplicación de PRP. Un estudio reciente de Drago y cols. evaluó el efecto inflamatorio de la inyección intratendinosa de LR-PRP en comparación con LP-PRP, sangre entera y solución salina [46]. Los tendones inyectados con LR-PRP mostraron una respuesta inflamatoria aguda aumentada a los 5 días en comparación con otros grupos de tratamiento. La literatura disponible restante es limitada, pero estudios previos han mostrado resultados mixtos, algunos informan que el suministro concentrado de leucocitos al sitio de la lesión puede dificultar la respuesta de curación o amplificar la liberación de mediadores catabólicos proinflamatorios [19, 47, 48], mientras que otros sostienen que los leucocitos pueden desempeñar un papel antimicrobiano importante y mejorar la liberación del factor de crecimiento [10]. Los sistemas disponibles comercialmente incluyen: Arterio-cyte/Medtronic Magellan (Cleveland, OH, EUA), Biomet GPS III (War-

saw, IN, EUA), EmCyte GenesisCS (Fort Myers, FL, EUA), Harvest SmartPRP 2 (Plymouth, MA, EUA).

PRP pobre en leucocitos (LP-PRP)

El PRP pobre en leucocitos excluye específicamente los leucocitos en la fracción de sangre autóloga mediante el uso de sistemas de separación celular. En comparación con LR-PRP, LP-PRP no provoca una gran respuesta inflamatoria a los 5 días después de la inyección intratendinosa [46]. A los 14 días después de la inyección, los tendones tratados con LR-PRP y LP-PRP mostraron respuestas inflamatorias similares. Un tipo particular de LP-PRP conocido como preparación rica en factores de crecimiento (PRGF) aparece con frecuencia en la literatura existente. PRGF, también conocido como Endoret (acrónimo en inglés para tecnología regenerativa endógena), se refiere a un protocolo específico desarrollado por Anitua y cols. [49] y a menudo se refiere al uso del PRGF System II (BTI, Vitoria-Gasteiz, España). Este protocolo finalmente produce LP-PRP que puede convertirse en una matriz o membrana de fibrina [50]. Los sistemas LP-PRP disponibles comercialmente incluyen: MTF/CONMED Cascade (Edison, NJ, EUA), Cytomedix Angel (Gaithersburg, MD, EUA), BTI PRGF-Endoret (BTI, Vitoria-Gasteiz, España), EmCyte Pure PRP (Fort Myers, FL, EUA), Cascade/Factores estéticos SELPHYL (Bethlehem, PA, EUA) y Arthrex ACP (Naples, FL, EUA).

Plasma pobre en plaquetas (PPP)

El plasma pobre en plaquetas es un subproducto del proceso de preparación de PRP y es la fracción de sangre desprovista de plaquetas que se produce después de la centrifugación para separar los glóbulos rojos del plasma. Algunos protocolos recomiendan la centrifugación de doble centrifugado para garantizar que las plaquetas se granulan y se contienen dentro de la capa de PRP. El PPP no tiene las mismas ventajas terapéuticas porque carece de los factores de crecimiento y las citocinas derivados de las plaquetas. Sin embargo, todavía contiene el complemento completo de proteínas plasmáticas responsables de la cascada de coagulación y puede usarse clínicamente para ayudar a la hemostasia. Un estudio porcino de 2007 encontró que el PPP mejoró la cicatrización

de heridas en comparación con los controles no tratados, pero no fue tan efectiva como el PRP [51]. Muchos kits de PRP disponibles comercialmente también producen una fracción de plasma pobre en plaquetas (Tabla 1.3).

Además de servir como un mecanismo directo de administración del factor de crecimiento, los derivados de PRP también se pueden usar como un andamio de tejido. Este tipo de aplicaciones, como los geles y las matrices de fibrina, permiten una liberación más prolongada y más prolongada de factores de crecimiento y proporcionan una red de fibrina más madura. Existen ligeras variaciones en la viscosidad, elasticidad, suturabilidad y plasticidad de esta clase de biomateriales. En consecuencia, algunos geles son preparaciones inyectables, mientras que muchas matrices y membranas de fibrina deben aplicarse directamente al sitio de la lesión, a menudo mediante intervención quirúrgica. Además, las características técnicas específicas de algunos kits pueden afectar la cantidad y la cinética de la liberación de factores de crecimiento derivados de plaquetas [52].

Gel de PRP

El gel de PRP es una categoría más amplia que abarca la matriz de fibrina rica en plaquetas y las aplicaciones de membrana de fibrina rica en plaquetas. Estas preparaciones incluyen fibrina y están diseñadas para proporcionar algún soporte estructural para el proceso de reparación de tejidos. Los geles de PRP se pueden producir *ex vivo* a partir de cualquier formulación de PRP líquida mediante la adición de trombina y cloruro de calcio, que inicia la polimerización de fibrina. En consecuencia, el gel de PRP puede incluir o excluir leucocitos, dependiendo del contenido celular de la fracción líquida original. La inclusión de una matriz de fibrina más madura puede ser ventajosa para algunas aplicaciones ricas en plaquetas. La formación de matriz de fibrina es parte de la respuesta natural de curación de heridas, y se ha demostrado que mejora la administración de factores de crecimiento de plaquetas [53]. Muchos kits de PRP disponibles comercialmente también contienen un activador que se puede usar para producir un gel de PRP (Tabla 1.3). Los sistemas disponibles comercialmente comercializados específicamente como geles PRP incluyen: Cytomedix

TABLA 1.3 Comparación de los recuentos medios de células entre los principales sistemas comerciales de preparación de PRP

Sistema	Empresa	Volumen de sangre requerido (ml)	Volumen enriquecido producido (ml)	Tiempo de procesamiento (min)	¿PPP producido?	¿Activador de gel disponible?	Aumento de [plaquetas] (tiempos de referencia)	Eficiencia de captura de plaquetas (% de rendimiento)	Aumento de [WBC] (tiempos de referencia)	Clase PAW	Clase Mishra
Leucocitos: rico en PRP											
GenesisCS	EmCyte	60 ^a	4-5 [73]	12-16 ^a [73]	+		10 ^a	68-96% [¶] [74]	5 ^a	P4-A α	1A
GPS III	Biomet	60 ^a	6 ^a	27 [73]	+	+ Clotalyt	2,1-8,1 [7, 45, 68]	23-90% [¶] [45, 67]	4,3-5 [7, 45]	P2-A α	1A/B, o 2A/B
Magellan	Arteriocyte/ Medtronic	60 [72]	1-10 [73]	17-22 [72, 73]	+		2,8-7,1a [45, 72]	66 % [45]	2-2,9 [45, 72]	P2-A α	1A/B
SmartPreP 2	Harvest	60 [72]	10 [73]	15-17 ^a [72]	+		6-8,2 ^a [72]	62-72% [65, 67, 69]	3,5-4a [72]	P2-A α	1A
Leucocitos: pobre en PRP											
ACP	Arthrex	11-16a	4a	5		+	2,1 ^a	60 % ^a	0,13 [7]	P2-B β	3B o 4B
Angel	Cytomedix	40-180 ^a	1-20 ^a		+		6-8 ^a				3A
Cascade	MTF/ CONMED	18 [45]	7,5 [45]	21 [73]		+	1,6 [45]	68 % [45]	0,2 [45]	P2-B β	3B o 4B

PRGF-Endoret	BTI	9 ^a	2-4 [75]	28 ^a				+	2-3 ^a			P2-B β	3B o 4B
PRP puro	EmCyte	50 ^a	6 ^a						9,0 ^a	2,2 ^a			3A
SELPHYL (FIBRINET)	Cascade/Aesthetic Factors			20 [73]				+	1,3 [65]	66 % [65]	0,03 [65]		3B o 4B
PRP gel													
Autologel	Cytomedix							+		78 % ^a			
Clotalyst	Biomet	11 ^a	4-10 ^a	20 ^a			+	+					2A/B
Plateltex ACT	Plateltex						+	+	4,4 [51]				
RegenKit	Stryker/RegenLab	9 ^a	4-5 ^a	10 ^a				^a	1,7 ^a	95 % ^a	2-6x ^a		2B ^a
Vivostat PRF	Vivostat	120 ^a	5-6 ^a	25 ^a				+	3,8-7 ^a [65]	17 % [65]	0,04 [65]		2A/B

^a Datos obtenidos de la literatura promocional de los fabricantes

Abreviaturas: ACP, plasma condicionado autólogo; BTI, Biotechnology Institute; LP-PRP, plasma rico en plaquetas pobre en leucocitos, MTF: Fundación de Trasplante Musculoesquelético; PCCS, sistema de recolección de concentrado de plaquetas; PPP, plasma pobre en plaquetas; PRGF, plasma rico en crecimiento factores; PRP, plasma rico en plaquetas, LR-PRP: plasma rico en plaquetas rico en leucocitos

AutoloGel (Gaithersburg, MD, EUA), Biomet Clotallyst (Warsaw, IN, EUA), Plateltex ACT (Bratislava, Eslovaquia), RegenLab/Stryker Regen-Kit (Le Mont-Sur-Lausanne, Suiza) y Vivostat PRF (Medicon Valley, Escandinavia).

Gel de PPP (pegamento y sellador de fibrina)

Este grupo comprende el gel de plasma pobre en plaquetas, también conocido como pegamento de fibrina o sellador de fibrina, el cual se produce al agregar cloruro de calcio a la fracción de sangre de PPP. Debido a que el PPP todavía contiene todas las proteínas de coagulación, forma una matriz de fibrina cuando se activa con cloruro de calcio. Se ha demostrado que la matriz de fibrina sola puede mejorar la curación al proporcionar un andamio conductor para la migración celular y la formación de nuevas matrices [3, 28]. En la actualidad, no hay sistemas disponibles comercialmente destinados de manera específica a proporcionar gel de PPP. Sin embargo, el sistema Plateltex ACT (Bratislava, Eslovaquia) produce PPP y también incluye reactivos de activación de gel.

Procedimientos de activación

El término «activación» se refiere a dos procesos clave dentro de las preparaciones de PRP que pueden iniciarse: (1) desgranulación de plaquetas para liberar gránulos α que contienen factores de crecimiento y (2) escisión del fibrinógeno para iniciar la formación de la matriz. La mayor parte de la literatura actual simplemente indica los medios por los cuales se produce la activación general de PRP, pero rara vez especifica qué componentes celulares son objeto de estas técnicas. La adición de trombina y cloruro de calcio, o colágeno, son efectivos para activar tanto las plaquetas como el fibrinógeno, mientras que la activación mediante ciclos de congelación/descongelación inicia solo la desgranulación. En consecuencia, la activación rápida de plaquetas se puede lograr mediante los siguientes tres mecanismos: (1) adición de cloruro de calcio y trombina, (2) ciclos de congelación/descongelación y (3) exposición directa al colágeno *in vivo*. Una vez activada, la composición de PRP a menudo se denomina PRP liberado.

Activación de trombina y cloruro de calcio

En el abordaje de activación de trombina y cloruro de calcio (CaCl_2), la trombina activa directamente las plaquetas a través de un receptor proteolítico de proteínas acopladas a G. El calcio luego repone el sitio de unión previamente unido por el anticoagulante. La proteólisis extracelular da como resultado la agregación plaquetaria y la lisis intracelular del gránulo α [54]. Aunque existen diferentes protocolos, el abordaje clínico estándar utiliza una proporción de 10:1 de trombina y CaCl_2 (142,8 U/ml de trombina y 14,3 mg/ml de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) [43, 55].

La activación de la trombina conduce a una activación plaquetaria y desgranulación muy rápida e irreversible, liberando factores de crecimiento como VEGF, PDGF-BB y TGF- β [55, 56]. Las concentraciones más altas de calcio y trombina también pueden conducir a concentraciones extracelulares más altas de PDGF-BB y TGF-B. Una desventaja de la activación de trombina y cloruro de calcio es el requisito de usar una sustancia exógena, lo que aumenta el riesgo de infecciones y reacciones alérgicas u otras. Esto es especialmente problemático con el uso de trombina bovina, que es inmunogénica.

Como alternativa, la trombina o el calcio pueden usarse independientemente para estimular la activación plaquetaria. La activación mediada por calcio inicia de manera simultánea la liberación del factor de crecimiento y la polimerización de fibrinógeno en fibrina [57].

Activación del ciclo de congelación/descongelación

Los ciclos de congelación/descongelación se utilizan para aplicaciones de PRP *in vitro*. El PRP es estable durante 5 días a temperatura ambiente [58-60] y durante períodos prolongados cuando está congelado. Posteriormente, la descongelación lisa las plaquetas y libera el contenido de los gránulos α de las plaquetas [61]. El objetivo de la activación de congelación/descongelación es dañar físicamente las plaquetas para iniciar la granulación. Sin embargo, no hay consenso con respecto al número preciso de ciclos de congelación/descongelación necesarios para la desgranulación completa. Muchos protocolos sugieren que cuatro ciclos de congelación/descongelación son adecuados para estudios *in vitro*.

Este método es útil para experimentos de laboratorio *in vitro* porque utiliza un mecanismo físico, no químico, de activación plaquetaria. En consecuencia, no requiere la adición de ningún sustrato y, por lo tanto, no altera el contenido de la muestra. Sin embargo, este método requiere mucho tiempo y, por lo tanto, no es práctico para aplicaciones clínicas.

Activación de colágeno *in vivo*

Finalmente, el PRP no activado puede inyectarse directamente en el tejido lesionado, que se activa al entrar en contacto con el colágeno. El colágeno es uno de los activadores más potentes de la adhesión y agregación plaquetaria [62]. Específicamente, el colágeno fibrilar trombogénico tipo I y III son los activadores plaquetarios más potentes, dado su alto contenido de factor von Willebrand, un sustrato importante que media la interacción entre el colágeno y las plaquetas [62].

La activación de colágeno *in vivo* es el método preferido para activar el PRP en muchas aplicaciones clínicas, porque conduce a una liberación más lenta y sostenida de factores de crecimiento en relación con el método de trombina. La activación del colágeno conduce a una liberación más sostenida de TGF- β 1, y una liberación acumulativa 80 % mayor durante un período de 7 días en relación con la activación de la trombina [56, 63]. Por otro lado, la liberación acumulativa de VEGF parece no verse afectada por el método de activación, y PDGF ha mostrado resultados mixtos. Los coágulos formados con colágeno tipo I tuvieron una retracción significativamente menor que los formados con trombina bovina [63]. Los beneficios adicionales de la activación de colágeno *in vivo* son que se puede inyectar a través de una aguja de calibre más pequeño porque el coágulo aún no se ha formado, y que elimina el riesgo de reacciones inmunológicas a sustancias activadoras exógenas como el calcio o la trombina.

Sistemas comerciales de PRP

Al menos 16 sistemas comerciales de separación de plaquetas están disponibles hoy en día, muchos de los cuales pueden variar significativamente en las cantidades relativas de plaquetas, leucocitos, eritrocitos y factores de crecimiento anabólico y catabólico. Esto tiene dos implicaciones importantes. Primero, es difícil generalizar los resultados de los ensayos clínicos con un fabricante de PRP determinado para anticipar los resultados clínicos con una preparación de PRP comercial diferente. Por otro lado, los médicos pueden adaptar su elección del sistema PRP a las necesidades únicas del paciente.

Aunque los estudios *in vitro* han comenzado a dilucidar los contenidos celulares y moleculares de diferentes sistemas comerciales de PRP, no está claro cómo estas diferencias afectan los resultados clínicos en los pacientes. Los parámetros de plaquetas comúnmente reportados incluyen la concentración de plaquetas y el aumento desde el valor basal en sangre entera, y la recuperación de plaquetas o la eficiencia de captura. Múltiples investigaciones han evaluado los componentes de varios sistemas de preparación ricos en plaquetas disponibles comercialmente, cuyos resultados se resumen en la Tabla 1.3.

Sistemas de clasificación de PRP

Muchos investigadores en el campo han enfatizado que no todos los PRP se crean de la misma manera. Como se delinea en la Tabla 1.3 y se describe anteriormente, los kits de PRP varían de manera amplia en sus recuentos de plaquetas, leucocitos y eritrocitos, así como en sus métodos de administración. Estas diferencias dificultan la comparación de los resultados de la ciencia básica y los estudios de investigación clínica, y también pueden tener un efecto significativo en la utilidad clínica de formulaciones específicas de PRP. En reconocimiento de este problema, se han propuesto algunos sistemas de clasificación de PRP.

DeLong y cols. idearon el sistema «PAW», acrónimo en inglés que se refiere al recuento absoluto de **p**laquetas, método de **a**ctivación plaquetaria y presencia o ausencia de glóbulos blancos (***w**hite*) [71]. El recuento

de plaquetas se clasifica como \leq basal (P1), basal a 150.000 (P2), 750.000 a 1.250.000 (P3) o $>1.250.000$ (P4). El método de activación se clasifica como exógeno (x) o no (sin letra asignada). Los glóbulos blancos se clasifican como por encima de la línea de base (A) o por debajo de la línea de base (B), y el recuento de neutrófilos también se clasifica como por encima (α) o por debajo (β) de la línea de base. Los autores señalan que, en última instancia, el investigador o el médico decide si activar el PRP de forma endógena a través del contacto directo con colágeno o de forma exógena, independientemente del kit comercial utilizado.

Mishra y cols. también propusieron un sistema de clasificación que explica los recuentos de leucocitos y plaquetas, así como el método de activación [72]. Definieron cuatro tipos de PRP: rico en leucocitos (aumento de leucocitos sobre la línea de base) no activado (1), rico en leucocitos activado (2), pobre en leucocitos (mínimo o sin leucocitos) no activado (3) y pobre en leucocitos activado (4). Los subtipos se asignan según el contenido de plaquetas: $>5\times$ plaquetas (A) o $<5\times$ plaquetas (B).

Efecto de PRP en el entorno celular

El entorno celular en el que se colocan las preparaciones ricas en plaquetas influye fuertemente en la dirección y la magnitud de la respuesta del tejido. En ortopedia, la mayoría de las investigaciones de PRP se han centrado en sus efectos sobre los tejidos conjuntivos, como tendones, ligamentos y músculos. Los componentes principales de la matriz extracelular del tendón incluyen colágeno (65-80 % de peso seco), elastina (1-2 %) y sustancia básica. Los tendones contienen principalmente colágeno tipo I, que le confiere fuerza. La elastina proporciona flexibilidad y elasticidad. Los componentes celulares clave de estos tejidos se analizan aquí.

Fibroblastos

Los fibroblastos son críticos para mantener la integridad estructural de los tejidos conjuntivos, e inician los primeros eventos moleculares que conducen a la reparación de los tejidos. Anitua y cols. demostraron que la proliferación de fibroblastos de la piel, tejido sinovial y tendón es es-

estimulada por preparaciones ricas en factores de crecimiento [6]. Sin embargo, solo las células sinoviales mostraron una respuesta proliferativa dependiente de la dosis para la concentración de plaquetas. Además, los fibroblastos tendinosos respondieron significativamente más que los fibroblastos del tejido sinovial y la piel a las señales proangiogénicas en las preparaciones de plasma.

Colágeno

El PRP desencadena la diferenciación de las células madre del tendón en tenocitos activos y en proliferación capaces de producir grandes cantidades de colágeno, lo que contribuye a la reparación de los tendones lesionados con déficit de células y matrices [64]. La forma primaria de colágeno en los tendones sanos es el colágeno tipo I (COL1). Los tendones lesionados tienen un mayor porcentaje de tipo III (COL3), que tiene menos enlaces cruzados entre y dentro de las unidades de tropocolágeno. Un estudio *in vitro* mostró que los coágulos pobres en plaquetas y ricos en plaquetas disminuyeron la expresión de COL1 y COL3 en las células del tendón humano, sin cambios significativos en la relación relativa de los tipos de colágeno [39]. Por otro lado, otro estudio demostró un aumento en la expresión del gen COL3 pero no COL1 por las células del ligamento cruzado anterior (LCA) humano después de la exposición a PRP, y atribuyó el aumento en la producción total de colágeno en las células tratadas con PRP a la proliferación celular, más que al aumento de la producción de colágeno por las células existentes [65].

Tenocitos

El PRP también desencadena la diferenciación de las células madre del tendón en tenocitos activos y en proliferación capaces de producir grandes cantidades de colágeno, lo que contribuye a la reparación de los tendones lesionados con déficit de células y matrices [56].

Efectos sistémicos

Véase el Capítulo 9 para una discusión completa de los efectos sistémicos del PRP.

Conclusión

Las preparaciones ricas en plaquetas pueden desempeñar un papel importante en la aceleración de los procesos de reparación y regeneración de tejidos de la respuesta celular a la lesión. El potencial de estas preparaciones ricas en plaquetas se debe en gran medida a los factores de crecimiento y las citocinas derivadas de las plaquetas y la presencia de proteínas de coagulación que ayudan en la formación temprana de matrices. La composición celular, las propiedades biomecánicas finales y el entorno celular en el que se coloca el tratamiento son consideraciones importantes al evaluar aplicaciones ricas en plaquetas.

Referencias

1. Rozman P, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatoven APA*. 2007;16(4):156–65.
2. Rehfeldt F, Engler AJ, Eckhardt A, Ahmed F, Discher DE. Cell responses to the mechanochemical microenvironment – implications for regenerative medicine and drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007;59(13):1329–39.
3. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med*. 2009;37(11):2259–72.
4. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225–8.
5. Creaney L, Hamilton B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. *Br J Sports Med*. 2008;42(5):314–20.
6. Anitua E, Sanchez M, Zalduendo MM, de la Fuente M, Prado R, Orive G, et al. Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Prolif*. 2009;42(2):162–70.
7. Sundman EA, Cole BJ, Fortier LA. Growth Factor and Catabolic Cytokine Concentrations Are Influenced by the Cellular Composition of Platelet-Rich Plasma. *Am J Sports Med*. 2011;39(10):2135–40.

8. de Jonge S, de Vos RJ, Weir A, van Schie HT, Bierma-Zeinstra SM, Verhaar JA, et al. One-year follow-up of platelet-rich plasma treatment in chronic Achilles tendinopathy: a doubleblind randomized placebo-controlled trial. *Am J Sports Med.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2011;39(8):1623–9.
9. Peerbooms JC, Sluimer J, Bruijn DJ, Gosens T. Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *The American journal of sports medicine.* [Randomized Controlled Trial Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2010;38(2):255–62.
10. 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;41(10):1217–24.
11. 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(6):1502–8.
12. Araki J, Jona M, Suga H, Eto H, Kato H, Aoi N, et al. Optimized preparation method of platelet-concentrated plasma (PCP) and non-coagulating platelet-derived factor concentrates (PFC): maximization of platelet concentration and removal of fibrinogen. *Tissue Eng Part C Methods.* 2012;18(3):176–85.
13. Haynesworth SE, Kadiyala S, Liang LN. Mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet release suggest a mechanism for enhancement of bone repair by platelet concentrates. 48th meeting of the Orthopedic Research Society. Boston; 2002.
14. Lui Y, Kalen A, Risto O. Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent. *Wound Repair Regen.* 2002;10(336).
15. Mastrangelo AN, Vavken P, Fleming BC, Harrison SL, Murray MM. Reduced platelet concentration does not harm PRP effectiveness for ACL repair in a porcine in vivo model. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.*[Research Support,N.I.H.,Extramural]. 2011;29(7):1002–7.
16. Yamaguchi R, Terashima H, Yoneyama S, Tadano S, Ohkohchi N. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. *J Surg Res.* 2010;2.
17. Freeman MR, Schneck FX, Gagnon ML, Corless C, Soker S, Niknejad K, et al. Peripheral blood T lymphocytes and lymphocytes infiltrating human cancers express vascular endothelial growth factor: a potential role for T cells in angiogenesis. *Cancer Res.* 1995;55(18):4140–5.

18. Nielsen HJ, Werther K, Mynster T, Brunner N. Soluble vascular endothelial growth factor in various blood transfusion components. *Transfusion*. 1999;39(10):1078–83.
19. McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. *J Orthop Res*. 2009;27(8):1033–42.
20. Faurschou M, Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes Infect*. 2003;5(14):1317–27.
21. Khalafi RS, Bradford DW, Wilson MG. Topical application of autologous blood products during surgical closure following a coronary artery bypass graft. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2008;34(2):360–4.
22. Everts PA, Devilee RJ, Brown Mahoney C, van Erp A, Oosterbos CJ, Stellenboom M, et al. Exogenous application of platelet-leukocyte gel during open subacromial decompression contributes to improved patient outcome. A prospective randomized double-blind study. *Eur Surg Res*. 2008;40(2):203–10.
23. Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med*. 2006;34(11):1774–8.
24. Laurens N, Koolwijk P, de Maat MP. Fibrin structure and wound healing. *J Thromb Haemost*. 2006;4(5):932–9.
25. Dohan Ehrenfest DM, Rasmuson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009;27(3):158–67.
26. Flick MJ, Du X, Degen JL. Fibrin(ogen)-alpha M beta 2 interactions regulate leukocyte function and innate immunity in vivo. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2004;229(11):1105–10.
27. de Maat MP, Verschuur M. Fibrinogen heterogeneity: inherited and noninherited. *Curr Opin Hematol*. 2005;12(5):377–83.
28. Clark RA. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;936:355–67.
29. van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci*. 2001;936:426–37.
30. Doessing S, Holm L, Heinemeier KM, Feldt-Rasmussen U, Schjerling P, Qvortrup K, et al. GH and IGF1 levels are positively associated with musculotendi-

- nous collagen expression: experiments in acromegalic and GH deficiency patients. *Eur J Endocrinol.* 2010;163(6):853–62.
31. Gustafsson T, Kraus WE. Exercise-induced angiogenesis-related growth and transcription factors in skeletal muscle, and their modification in muscle pathology. *Front Biosci.* [Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, P.H.S. Review]. 2001;6:D75–89.
 32. Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Santisteban J, et al. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35(10):1648–52.
 33. Banfi G, Corsi MM, Volpi P. Could platelet rich plasma have effects on systemic circulating growth factors and cytokine release in orthopaedic applications? *Br J Sports Med.* [Editorial]. 2006;40(10):816.
 34. Ljungqvist A, Schweltnus MP, Bachl N, Collins M, Cook J, Khan KM, et al. International Olympic Committee consensus statement: molecular basis of connective tissue and muscle injuries in sport. *Clin Sports Med.* [Consensus Development Conference]. 2008;27(1):231–9, x–xi.
 35. WADA Laboratory Committee. Decision Limits for the Confirmatory Quantification of Threshold Substances; 2009 Sep Document Number: TD2009DL. Version: 1.0.
 36. Knies A, Ziegler E, Kratzsch J, Thieme D, Muller RK. Potential parameters for the detection of hGH doping. *Anal Bioanal Chem.* [Clinical Trial Comparative Study Controlled Clinical Trial Evaluation Studies Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2003;376(5):696–700.
 37. Anitua E, Andia I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zalduendo M, de la Fuente M, et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005;23(2):281–6.
 38. Juul A, Scheike T, Pedersen AT, Main KM, Andersson AM, Pedersen LM, et al. Changes in serum concentrations of growth hormone, insulin, insulin-like growth factor and insulin-like growth factor-binding proteins 1 and 3 and urinary growth hormone excretion during the menstrual cycle. *Hum Reprod.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 1997;12(10):2123–8.
 39. de Mos M, van der Windt AE, Jahr H, van Schie HT, Weinans H, Verhaar JA, et al. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair? A cell culture study. *Am J Sports Med.* 2008;36(6):1171–8.

40. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004;91(1):4–15.
41. Min JK, Lee YM, Kim JH, Kim YM, Kim SW, Lee SY, et al. Hepatocyte growth factor suppresses vascular endothelial growth factor-induced expression of endothelial ICAM-1 and VCAM-1 by inhibiting the nuclear factor-kappaB pathway. *Circ Res.* 2005;96(3):300–7.
42. He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2009;108(5):707–13.
43. 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 Radiol Endod.* 1998;85(6):638–46.
44. Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler WE. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg.* 2002;30(2):97–102.
45. Castillo TN, Pouliot MA, Kim HJ, Dragoo JL. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *Am J Sports Med.* 2011;39(2):266–71.
46. Dragoo JL, Braun HJ, Durham JL, Ridley BA, Odegaard JI, Luong R, Arnoczky SP. Comparison of the acute inflammatory response of two commercial platelet-rich plasma systems in healthy rabbit tendons. *Am J Sports Med.* 2012 Jun;40(6):1274–81. doi: 10.1177/0363546512442334. Epub 2012 Apr 10. PMID: 22495144.
47. Felisaz N, Boumediene K, Ghayor C, Herrouin JF, Bogdanowicz P, Galerra P, et al. Stimulating effect of diacerein on TGF-beta1 and beta2 expression in articular chondrocytes cultured with and without interleukin-1. *Osteoarthritis Cartilage.* 1999;7(3):255–64.
48. Roman-Blas JA, Stokes DG, Jimenez SA. Modulation of TGF-beta signaling by proinflammatory cytokines in articular chondrocytes. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15(12):1367–77.
49. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14(4):529–35.

50. Weibrich G, Kleis WK, Hitzler WE, Hafner G. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005;20(1):118–23.
51. Pietrzak WS, An YH, Kang QK, Demos HA, Ehrens KH. Platelet-rich and platelet-poor plasma: development of an animal model to evaluate hemostatic efficacy. *J Craniofac Surg.* 2007;18(3):559–67.
52. Mazzucco L, Balbo V, Cattana E, Guaschino R, Borzini P. Not every PRP-gel is born equal. Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet, RegenPRP-Kit, Plateltex and one manual procedure. *Vox Sang.* 2009;97(2):110–8.
53. Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Orive G, et al. Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mat Res Part A.* [Evaluation Studies Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2006;77(2):285–93.
54. Brass LF. Thrombin and platelet activation. *Chest.* 2003;124(3 Suppl):18S–25.
55. Roussy Y, Bertrand Duchesne MP, Gagnon G. Activation of human platelet-rich plasmas: effect on growth factors release, cell division and in vivo bone formation. *Clin Oral Implants Res.* [Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2007;18(5):639–48.
56. Harrison S, Vavken P, Kevy S, Jacobson M, Zurakowski D, Murray MM. Platelet activation by collagen provides sustained release of anabolic cytokines. *Am J Sports Med.* 2011;39(4):729–34.
57. Anitua E, Alkhrasat MH, Orive G. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *J Control Release.* 2011;8.
58. Cognasse F, Hamzeh-Cognasse H, Lafarge S, Acquart S, Chavarin P, Courbil R, et al. Donor platelets stored for at least 3 days can elicit activation marker expression by the recipient's blood mononuclear cells: an in vitro study. *Transfusion.* 2009;49(1):91–8.
59. Hartley PS, Savill J, Brown SB. The death of human platelets during incubation in citrated plasma involves shedding of CD42b and aggregation of dead platelets. *Thromb Haemost.* 2006;95(1):100–6.
60. Landi EP, Roveri EG, Ozelo MC, Annichino-Bizzacchi JM, Origa AF, de Carvalho Reis AR, et al. Effects of high platelet concentration in collecting and freezing dry platelets concentrates. *Transfus Apher Sci.* 2004;30(3):205–12.

61. Johnson LN, Winter KM, Reid S, Hartkopf-Theis T, Marks DC. Cryopreservation of buffy-coat-derived platelet concentrates in dimethyl sulfoxide and platelet additive solution. *Cryobiology*. 2011;62(2):100–6.
62. Farndale RW, Siljander PR, Onley DJ, Sundaresan P, Knight CG, Barnes MJ. Collagen-platelet interactions: recognition and signalling. *Biochem Soc Symp*. 2003;(70):81–94.
63. Fufa D, Shealy B, Jacobson M, Kevy S, Murray MM. Activation of platelet-rich plasma using soluble type I collagen. *J Oral Maxillofac Surg*. [Comparative Study Research Support, N.I.H., Extramural Research Support, Non-U.S. Gov't Research Support, U.S. Gov't, Non-P.H.S.]. 2008;66(4):684–90.
64. Zhang J, Wang JH. Platelet-rich plasma releasate promotes differentiation of tendon stem cells into active tenocytes. *Am J Sports Med*. 2010;38(12): 2477–86.
65. Fallouh L, Nakagawa K, Sasho T, Arai M, Kitahara S, Wada Y, et al. Effects of autologous platelet-rich plasma on cell viability and collagen synthesis in injured human anterior cruciate ligament. *J Bone Joint Surg Am*. 2010;92(18):2909–16.
66. 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*. [Comparative Study Evaluation Studies]. 2006; 91(2):135–9.
67. Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J Extra Corpor Technol*. [Comparative Study In Vitro Research Support, Non-U.S. Gov't]. 2004;36(1):28–35.
68. Woodell-May JE, Ridderman DN, Swift MJ, Higgins J. Producing accurate platelet counts for platelet rich plasma: validation of a hematology analyzer and preparation techniques for counting. *J Craniofac Surg*. 2005;16:749–56; discussion 57–9.
69. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. [Review]. 2004;62(4):489–96.
70. DeLong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. *Arthroscopy*. 2012;28(7):998–1009.
71. Mishra A, Harmon K, Woodall J, Vieira A. Sports medicine applications of platelet rich plasma. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012;13(7):1185–95.

72. Kochan A, Scarpone M, Mandle R. Platelet rich plasma preparation: a comparison of the harvest SmartPREP 2 APC+ with the arteriocyte magellan. AAOS.org. 2009. <http://orthodoc.aaos.org/WilliamFBennettMD/Comparison%20of%20SmartPREP%202%20and%20Arteriocyte%20Magellan.pdf>.
73. <http://www.perfusion.com/perfusion/prpdevicesummary.asp>. Accessed 9 Apr 2013.
74. Mandle. Analysis of EmCyte Corporation Concentrating Systems. An independent review of pre-clinical performance data. <http://www.emcyte.com/articles/PerformanceData.pdf>.
75. Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med.* 2007;35(2): 245–51.

