

# TESIS DOCTORAL

## **EFICACIA Y SEGURIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN PACIENTES CON ÚLCERAS DE ETIOLOGÍA VENOSA**

---

PROGRAMA DE DOCTORADO NUEVAS  
TENDENCIAS ASISTENCIALES Y DE  
INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS DE LA SALUD

**AUTOR: D. MANUEL ESCAMILLA CARDEÑOSA**

08/06/2016

DIRECTORES:

D. GABRIEL DOMINGUEZ MALDONADO

D. ANTONIO CORDOBA FERNANDEZ



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

FACULTAD DE ENFERMERÍA, FISIOTERAPIA Y PODOLOGIA

D. GABRIEL DOMÍNGUEZ MALDONADO, Profesor del Departamento de Podología de la Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología de la Universidad de Sevilla, y D. ANTONIO CORDOBA FERNANDEZ, Profesor del Departamento de Podología de la Facultad de Podología de la Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología de la Universidad de Sevilla.

CERTIFICAN:

Que D. MANUEL ESCAMILLA CARDEÑOSA ha realizado, bajo su dirección y coordinación, el trabajo titulado *Eficacia y Seguridad del Plasma Rico en Plaquetas en pacientes con úlceras de etiología venosa* para optar al grado de Doctor por la Universidad de Sevilla.

Dicho trabajo reúne a su juicio las condiciones necesarias para ser sometido a la lectura y discusión ante el Tribunal.

Sevilla, Mayo 2016

DIRECTOR



GABRIEL DOMÍNGUEZ MALDONADO

DIRECTOR



ANTONIO CORDOBA FERNÁNDEZ

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar me gustaría dar mi más sincero agradecimiento a mis directores:

D. Gabriel Domínguez Maldonado, quien me dio la oportunidad de formar parte del mundo de la investigación, agradezco sobre todo su apoyo y paciencia.

D. Antonio Córdoba Fernández, quien a pesar de múltiples ocupaciones ha trabajado duramente para sacar esta tesis adelante poniendo a mi disposición todos sus conocimientos.

Especialmente importante en la fase de trabajo de campo ha sido la colaboración de M<sup>a</sup> del Carmen González Fernández, muchas mañanas de intenso trabajo en la unidad de investigación encargándose del trabajo sin duda más duro, no solo en el fraccionamiento plasmático para la elaboración del plasma rico en plaquetas, sino en la citación de pacientes, en la organización de la unidad para que todo estuviera a punto, en la recogida de datos, y sobre todo aportando ese buen ánimo y humor que hicieron una etapa inolvidable durante cuatro años de atención a los pacientes, creando un vínculo casi familiar con muchos de ellos.

A todos y cada uno de los pacientes y familiares que pusieron toda su disposición e interés con la plena confianza de que los resultados obtenidos traerían bienestar en sus vidas. Quisiera hacer mención especial a nuestro querido paciente Enrique D. C. por su incondicional apoyo y fe ciega en nosotros, su extraordinario humor en momentos tan complicados cercanos al final de su vida y que irradiaron una energía especial para conseguir nuestros objetivos.

Al Área Sanitaria de Osuna, y en especial a la Unidad de Investigación, que desde el primer momento pusieron a mi disposición todo lo necesario para el desarrollo del estudio. D. Antonio Espino, director de la Unidad quien nos aconsejó en todo momento en el planteamiento del trabajo de campo y el acondicionamiento del espacio para la atención de los pacientes, estando siempre dispuesto a la atención de nuestros requerimientos. Agradecer a numerosos profesionales que han creído en nuestro proyecto y han colaborado de manera muy importante derivándonos pacientes para que participaran en el estudio.

A mis padres, Antonio, ya ausente, y Rosario; por el extraordinario esfuerzo que habéis realizado para conseguir lo que soy hoy en día.

A mi mujer Carmen e hijos Manu y Tete, quienes han sabido comprender en todo momento la importancia que para mí suponía la consecución de este proyecto, entendiendo mis ausencias, vuestro apoyo y comprensión me han ayudado durante todo este tiempo.

A mis mejores amigos, Juan José Díaz y Manuel Aguilar fallecidos durante el desarrollo de este trabajo que durante muchos años formaron parte de mi vida y sin duda creyeron en mí, aportando el apoyo y estímulo necesarios para crecer como persona y afrontar las numerosas dificultades que he podido superar gracias a vosotros.

# INDICE

	Página
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	2
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	5
<b>2. MARCO TEÓRICO .....</b>	<b>11</b>
2.1. ÚLCERAS VENOSAS .....	12
2.1.1. Historia de las Úlceras Venosas .....	12
2.1.2. Concepto, incidencia, etiopatogenia y fisiopatología.....	13
2.1.3. Localización, morfología, sintomatología, evolución y diagnóstico.....	18
2.1.4. Tratamiento. ....	21
2.2. EL PROCESO DE REPARACIÓN TISULAR .....	36
2.3. FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS Y APLICACIONES DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS .....	53
2.3.1. Las Plaquetas.....	53
2.3.2. Los Factores de Crecimiento.....	55
2.3.3. Plasma Rico en Plaquetas.....	60
<b>3. OBJETIVOS.....</b>	<b>88</b>
<b>4. HIPÓTESIS .....</b>	<b>91</b>
<b>5. MATERIAL Y METODOLOGÍA .....</b>	<b>95</b>
5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO .....	96
5.1.1. Tipo de diseño .....	96
5.1.3. Población diana. ....	101
5.1.4. Población de estudio.....	101
5.2. MATERIAL Y RECOGIDA DE DATOS.....	112
5.3. ESTUDIO DE LAS VARIABLES.....	112
5.4. DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN .....	118
5.4.1. Equipamiento utilizado .....	127
5.4.2. Material fungible .....	128
5.4.3. Método de elaboración del PRP .....	129
5.5. ASPECTOS ETICOS.....	136

5.6. ENTRADA Y GESTIÓN INFORMÁTICA DE LOS DATOS. ANALISIS DE DATOS. ....	139
<b>6. RESULTADOS.....</b>	<b>142</b>
6.1. ESTUDIO DESCRIPTIVO.....	143
6.2. ESTUDIO DE LAS VARIABLES.....	148
6.3. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA CICATRIZACIÓN Y EL DOLOR EN LAS ULCERAS VENOSAS.....	158
6.4. EFECTO DE DISTINTAS VARIABLES SOBRE LA CICATRIZACIÓN Y EL DOLOR EN LAS ULCERAS VENOSAS.....	163
<b>7. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....</b>	<b>167</b>
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>184</b>
<b>9. PROSPECTIVA .....</b>	<b>186</b>
<b>10. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>188</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>212</b>

# ABREVIATURAS

---

IVC: Insuficiencia Venosa crónica

UV: Úlcera Venosa

HTV: Hipertensión venosa

SVS: Sistema venoso superficial

TVP: Trombosis venosa profunda

SVP: Sistema venoso profundo

RV: Reflujo venoso

VVPP: Venas perforantes

VSI: Vena safena interna

TC: Terapia compresiva

I T/B: Índice Tobillo/Brazo

FC: Factor de Crecimiento

PDFG: Factor de crecimiento derivado de las plaquetas

IGF-1: Factor de crecimiento ligado a la insulina.

EGF: Factor de crecimiento epidérmico

FGF: Factor de crecimiento fibroblástico

TGF- $\alpha$ : Factor alfa transformador del crecimiento

TGF- $\beta$ : Factor beta transformador del crecimiento

CTGF: Factor de crecimiento conectivo

VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular

TNF- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral

NGF: Factor de crecimiento nervioso

BDNF: Factor neurotrófico derivado del cerebro

MMP: Metaloproteinasas de la matriz extracelular

TIMP: Inhibidores tisulares endógenos de las metaloproteinasas de la matriz extracelular

IL: Interleucina.

CSF: Factor estimulante de colonias tisulares

PRP: Plasma Rico en Plaquetas

PRGF: Plasma rico en factores de crecimiento

PRPGF: Plasma rico en plaquetas y factores de crecimiento

PPP: Plasma pobre en plaquetas

LR-PRP: Plasma rico en plaquetas y rico en leucocitos

LP-PRP: Plasma rico en plaqueta en plaquetas y pobre en leucocitos

MSC: Células madre mesenquimales

H<sub>0</sub>: Hipótesis Nula

H<sub>1</sub>: Hipótesis de investigación

ECA: Ensayo clínico controlado

HbAc1: Hemoglobina glucosilada

F1: Fracción plasmática superior

F3: Fracción plasmática rica en plaquetas

EVA: Escala visual analógica del dolor

CCVUQ: Cuestionario Charing Cros sobre calidad de vida en úlcera venosa



# 1. INTRODUCCIÓN

---

## INTRODUCCIÓN.

### 1.1.PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La curación de heridas es una técnica que se remonta a la prehistoria <sup>1</sup>. El hombre de Neandertal en Irak 60.000 años A.C. usó hierbas contra las quemaduras y según el papiro de Smith los apósitos datan desde 5000 años A.C <sup>1</sup>, En el antiguo Egipto ya se usaban como apósitos el barro, gomas, resinas, miel, mirra y sustancias oleosas. Por otro lado Hipócrates trataba las heridas con vino, cera de abejas, roble sagrado, aceite y azúcar, escuela que incluso se mantiene hasta nuestros días <sup>1</sup>.

La aplicación de apósitos basados en creencias ha hecho que la curación de una herida tenga mucho de ritual y magia. Basados en este hecho Ambroise Pare en 1585 afirmó: *”Yo curo la herida pero solo dios la cicatriza”* <sup>2</sup>.

Wiseman <sup>3</sup> fue el primero en utilizar el término “úlceras varicosas” en 1676, pero desde antes los cirujanos ya operaban las venas para curar las úlceras; un ejemplo de ello fue Paré en el siglo XVI. Sin embargo, entre los diferentes tipos de úlceras de piernas encontradas en las clasificaciones de los escritores del siglo XVIII las úlceras varicosas no estaban incluidas y no fue sino hasta finales de ese siglo cuando Sir Everard Home redescubrió el concepto, y publicó sus opiniones en un tratado en 1797: “La operación de acceso por la vena safena”. En 1855 John Gay escribió “La frecuente coincidencia de úlceras indolentes y venas varicosas, que incrementaba la posibilidad de creer que dichas úlceras eran directamente debidas a la enfermedad de las venas”. En una publicación en la revista The Lancet (1868), el mismo autor escribió: cuando una vena es ligada para curar una úlcera *“...con que gratificación la cicatrización de la úlcera es obtenida en casi todos los casos”* <sup>3</sup>.

En el apartado de tratamiento tópicos, John Bell de Edimburgo comentó que “es imposible tomar en serio la efectividad terapéutica cuando se enumeran los miles de remedios que se han aplicado para las úlceras...” diferentes autores, antes de John Bell, habían reconocido el valor del reposo y la elevación de la pierna para curar las úlceras. En 1771 John Aikin observó que las úlceras podían curarse con “estricta vigilancia, con el paciente en reposo y postura reclinada”<sup>3</sup>.

Se considera úlcera cutánea crónica a una pérdida de sustancia que afecta a la epidermis, dermis y, en ocasiones a planos más profundos, que no cura en el tiempo esperado, presentando una escasa tendencia a la cicatrización. Las úlceras cutáneas crónicas más prevalentes en nuestro medio son las vasculares de extremidades inferiores, las del pie diabético y las úlceras por presión. A pesar de un diagnóstico y un manejo adecuados, incluso en unidades especializadas de úlceras crónicas, hasta un 20% de las úlceras no evolucionan favorablemente<sup>4</sup>.

El ambiente bioquímico que promueve la cronicidad de estas lesiones se define por una prolongación de la fase inflamatoria debido a un aumento de las citocinas proinflamatorias y la actividad proteasa, déficit de factores de crecimiento y de fibrina. La hipoxia y la necrosis tisular, así como las infecciones de repetición, promueven el exceso de enzimas proteolíticas, con la consecuente destrucción de la matriz extracelular que impide la cicatrización. Para conseguir una intervención exitosa con estos pacientes, ha de cortarse este círculo vicioso. Para ello, se describe como crucial el papel de los factores de crecimiento<sup>5</sup>. El manejo convencional de las úlceras crónicas, que incluye los apósitos bioactivos, el desbridamiento quirúrgico, el vendaje compresivo y los injertos de piel, no proporciona estos factores esenciales en el proceso de cicatrización<sup>6</sup>.

El plasma rico en plaquetas (PRP), muy popular en la actualidad por su aplicación en diversos campos, está mostrando un papel beneficioso en gran variedad de situaciones clínicas. Gracias a su riqueza en factores de crecimiento, y a sus propiedades mitógenicas y quimiotácticas, el PRP se propone como una alternativa eficaz en el manejo de úlceras cutáneas crónicas resistentes a tratamiento convencional <sup>5</sup>.

El conocimiento de los factores de crecimiento en la práctica clínica no es un hecho nuevo. Ya desde los trabajos de Cohen Y Levi- Montalcini <sup>7</sup> en la década de los 50 en relación con factores de crecimiento nervioso, que les condujo a la concesión del Premio Nobel en 1986, así como la descripción del factor de crecimiento epidérmico por Cohen en 1962, suponen dos hitos básicos en el desarrollo de este tipo de tratamiento clave en los fenómenos reparativos. Específicamente en relación con los factores de crecimiento derivados de plaquetas son destacables los trabajos de Raines y Ross y de Bowen-Pope y Ross, en los que se analiza de forma detallada tanto la definición de los mismos como su capacidad de unión a células cultivadas. Desde entonces, han sido múltiples las experiencias en la clínica en relación con el PRP en diferentes ámbitos <sup>8</sup>.

## 1.2.JUSTIFICACIÓN

A pesar del mayor conocimiento y del desarrollo de intervenciones cada vez más sofisticadas, muchos clínicos se enfrentan a diario ante heridas de “difícil cicatrización” en las que a pesar de poner en juego grandes esfuerzos y mejores intenciones, la cicatrización se prolonga en el tiempo o no se llega a alcanzar. Esta situación provoca frecuentemente un aumento del estrés psicosocial y de la ansiedad para todos los que han participado en la intervención y se convierte en una carga financiera importante para los ya de por sí presionados sistemas de salud. Muchas heridas crónicas, independientemente de su etiología, se eternizan en su devenir, multiplicando los plazos previstos de evolución, ya de por sí prolongados y alimentan la idea de la irreversibilidad de muchas de estas lesiones, lo que puede desvirtuar la cantidad y calidad de las intervenciones terapéuticas orientadas a su curación <sup>9</sup>.

La úlcera venosa es una patología de difícil manejo, puede sanar, pero si no se soluciona el problema de base, aproximadamente en el 45% de los casos, es posible que aparezca una nueva, lo que convierte en una dolencia con recurrencia importante y de comportamiento crónico <sup>10,11</sup>

Los pacientes con una herida crónica que no cicatriza presentan una serie de factores que, a través de una compleja interacción, influyen en la respuesta psicológica y en la capacidad para afrontar la situación. Estos factores abarcan las experiencias previas y las circunstancias personales, las creencias y los valores del paciente, y sus consecuencias en la calidad de vida tiene una gran repercusión y a menudo van más allá del tratamiento local de una herida abierta <sup>9</sup>.

Muchos de los pacientes con heridas crónicas se ven obligados a modificar sensiblemente sus hábitos de vida, algunos incluso hasta el punto de retirarse de la vida

laboral, porque comprendieron que sus hábitos en ese momento impedirían la cicatrización de la úlcera. Los pacientes experimentaban un sentimiento de culpa cuando afrontaban la elección entre seguir los consejos del profesional sanitario o continuar con una actividad como el trabajo, algo que ellos percibían como de mayor importancia. En tales situaciones era frecuente que los profesionales sanitarios culparan a la conducta, lo que aumentaba el sufrimiento emocional de los pacientes y en especial si la herida no cicatrizaba <sup>12</sup>.

Hopkins llevó a cabo una evaluación exhaustiva de los pacientes con úlceras de la pierna <sup>13</sup>. Se analizaron las consecuencias de las úlceras de la pierna en la vida cotidiana y se obtuvieron valiosos datos cuantitativos. Se observó que aunque los pacientes aceptaban las úlceras de la pierna como una “parte inseparable” de su vida, se enfrentaban a la exclusión social que conllevan estas lesiones. Franks y Moffatt demostraron mediante una escala de valoración general que las úlceras grandes de la pierna se acompañan de dolor, problemas emocionales y aislamiento social, y que el dolor y el aislamiento prolongaban significativamente la duración de la úlcera <sup>14</sup>.

La ulcera venosa tiene un gran impacto sobre la calidad de vida relacionada con la salud tanto de los pacientes que la padecen como de su grupo familiar, esto sumado a:

1. La prevalencia significativa en la mayoría de los países desarrollados y de la que no se excluyen los países de América Latina.
2. Los altos costos que comprometen los presupuestos sanitarios, relacionados con el talento humano involucrado en el cuidado de las personas, con los materiales de curación necesarios, cada vez más sofisticados en virtud de las complicaciones de las lesiones y su cronicidad.

3. Los costes sociales ocasionados por la enfermedad que conlleva absentismo laboral de la persona afectada.

Todos estos, aspectos que catalogan la úlcera venosa como un verdadero problema de salud pública, son motivos suficientes para plantear el presente estudio.

El dolor es el principal factor predictivo de la depresión en los pacientes con úlceras de la pierna e interfiere en la capacidad personal de afrontar la situación <sup>15</sup>. La clave para resolver los problemas de la calidad de vida del importante grupo de pacientes con heridas crónicas que no cicatrizan reside en identificar pronto los problemas. Los profesionales deben dar prioridad a conseguir que los pacientes tengan la mejor calidad de vida posible a pesar de vivir con una herida crónica. Hay que hacer hincapié en el control adecuado de los síntomas, con la eliminación del dolor como prioridad para todos los pacientes sean cuales sean la enfermedad subyacente o el pronóstico. Los objetivos del tratamiento deben ser la comodidad y la tolerancia del paciente <sup>16</sup>. Para ello en nuestro estudio evaluamos el efecto del tratamiento propuesto sobre el dolor, así como la posible aparición de efectos adversos que nos ayude a conocer la tolerancia del paciente.

La prevalencia de las úlceras venosas de la pierna se ha estimado que es entre un 0,06 y un 2%, demostrándose que aumenta con la edad <sup>17</sup>. Se admite que allí donde hay protocolos de tratamiento adecuados basados en la investigación, cerca del 50% de las úlceras cicatriza en un plazo de cuatro meses, el 20% no lo hace en un plazo de dos años y alrededor del 8% no cicatriza siquiera después de cinco años <sup>9</sup>.

No es fácil conocer los datos de prevalencia e incidencia de la Insuficiencia Venosa Crónica (IVC) en España, la encuesta epidemiológica EI DETECT-IVC (2006) encuentra un 71% de los pacientes con algún dato clínico de IVC: hasta un 62%

presentaba algún signo de IVC, y hasta un 2% con úlcera cutánea. En este estudio epidemiológico transversal que incluyó a 16.770 sujetos que acuden por cualquier motivo a una consulta de Atención Primaria, la úlcera venosa resultó ser el trastorno más limitante y con más repercusiones económicas sobre la salud, identificándose en un 2% de los encuestados <sup>18</sup>.

Debido a su frecuencia y cronicidad, las úlceras venosas tienen un alto impacto socioeconómico, de hecho, el tratamiento de éstas representa el 1% de los presupuestos de salud en algunos países occidentales. En los Estados Unidos, se estima que de los 2,5 millones de pacientes con insuficiencia venosa crónica, el 20% se ven afectados por úlceras venosas, con un costo anual de 2,5 mil millones de dólares para el tratamiento de 6 millones de pacientes cada año <sup>17</sup>. En Reino Unido, el coste total calculado del tratamiento de las úlceras venosas de la pierna en 2005-2006 fue como mínimo de 168-198 millones de libras <sup>14</sup>. Los factores que se relacionan positivamente con un aumento del coste son la duración del tratamiento activo, el tamaño de la úlcera y la presencia de al menos una enfermedad concomitante <sup>19</sup>.

Se ha comprobado que las úlceras de la pierna que tiene una superficie de más de 10 cm<sup>2</sup> o más y una larga duración (seis meses o más) son las más caras de tratar. En Suecia, por ejemplo, el coste anual calculado del tratamiento de una úlcera venosa de la pierna de menos de seis meses de evolución era de 1.827 euros, frente a 2.585 euros para una úlcera de más de seis meses de duración <sup>20</sup>.

A menudo se considera que el coste de los productos empleados en la cura de las úlceras crónicas es sinónimo del coste del tratamiento, sin embargo este gasto suele ser despreciable en comparación con otros factores, como el coste derivado de la frecuencia de los cambios de apósito, el tiempo dedicado por el personal de enfermería, el tiempo



transcurrido hasta la cicatrización, la calidad de la cicatrización, la capacidad de reanudar un trabajo remunerado y el gasto del centro asistencial <sup>9</sup>.

La cicatrización de las heridas sigue habitualmente una secuencia previsible, pero en algunos casos se prolonga o no llega a conseguirse. La cicatrización es el resultado de una interacción compleja entre los factores del paciente y de la herida, el tratamiento empleado y las habilidades y conocimientos de los profesionales sanitarios. Para los profesionales, el reto es instaurar estrategias terapéuticas eficaces en el momento oportuno y de la manera más coste-efectiva para reducir la complejidad de la herida, tratar los síntomas y las expectativas de los pacientes y, siempre que sea posible, conseguir la cicatrización <sup>9</sup>. Décadas de investigación sobre la insuficiencia venosa crónica, etiología y factores de riesgo, así como tratamiento para la úlcera venosa han dado lugar a numerosas declaraciones de consenso y directrices basadas en la evidencia; sin embargo la gestión global sigue siendo subóptima <sup>21,22</sup>. Por desgracia, las personas con insuficiencia venosa crónica y úlcera venosa sufren consecuencias funcionales y psicológicas importantes, que conducen a una baja actividad física, mayor riesgo de otras enfermedades concomitantes (como la obesidad, ansiedad y depresión) que conducen a una merma en su calidad de vida <sup>21,23</sup>

La investigación sobre los mecanismos moleculares que controlan la señalización celular y conducen a la regeneración de tejidos ha permitido el desarrollo de nuevos abordajes terapéuticos. Las proteínas son las responsables directas del estado y destino celulares en las distintas situaciones patológicas; dentro de este contexto biológico están los factores de crecimiento, que controlan la evolución de los procesos de regeneración y reparación de los distintos tejidos. Los factores de crecimiento tienen capacidad para regular funciones celulares importantes como son la proliferación, migración y diferenciación celular y síntesis de matriz extracelular, todos ellos procesos

esenciales en la reparación y regeneración. La expresión de los factores de crecimiento y de sus receptores se encuentra modulada después de una lesión y las células de los tejidos en proceso de regeneración son sensibles a la interacción de los factores de crecimiento <sup>24</sup>.

Según Carrillo Mora <sup>25</sup>, pocas son las indicaciones en las que se encuentra plenamente demostrada la utilidad del PRP, de tal manera que la enorme difusión del uso y utilidad de éste contrasta con la escasa evidencia científica que avale las diferentes aplicaciones sugeridas. En este sentido Conde Montero <sup>26</sup> afirma que mayoría de estudios que se encuentran en la literatura se muestran los beneficios, en muchos casos muy llamativos, de la aplicación de PRP. Sin embargo, existen pocos ensayos clínicos de calidad que permitan establecer la magnitud de sus efectos. Además, ante la variabilidad metodológica existente hay poco consenso, lo que explica la ausencia de estandarización del empleo del PRP, y, por tanto, la dificultad para general evidencia científica fácilmente reproducible.

Lo que pone de manifiesto la importancia de realizar este estudio que permita mejorar los niveles de evidencia sobre el uso del PRP, ayudando a desarrollar adecuadamente el potencial terapéutico de éste. El objetivo del presente estudio es analizar la eficacia y seguridad del uso de PRP en úlceras venosas, valorar la utilidad clínica de este producto y poder contribuir a la protocolización de dosis, volúmenes y regímenes de administración más adecuado, precisando aspectos importantes sobre su utilidad terapéutica como método de obtención, procesamiento y activación, asimismo se realizará una evaluación rigurosa de su potencial lesivo y efectos sobre la reducción del dolor en la úlcera.

## 2.MARCO TEÓRICO

---

## MARCO TEÓRICO

### 2.1. ÚLCERAS VENOSAS

#### 2.1.1. HISTORIA DE LAS ÚLCERAS VENOSAS

Se piensa que la aparición de las úlceras venosas (UV) data desde hace 900.000 años, cuando el hombre pasó de ser cuadrúpedo al ortostatismo, posición que posiblemente generó compresión en las venas ilíacas, originando hipertensión venosa de las extremidades inferiores por la ley de gravedad <sup>27</sup>.

Quizás la primera referencia científica de las UV viene de Hipócrates, 460-377 A.C., en su obra “De Ulceribus”, en la que reconocía la relación entre las úlceras a nivel del tobillo y las venas varicosas <sup>10,19,27</sup>.

Aurelius Cornelius Celso, médico romano, en su publicación “De Medicina” entre 25-50 D.C, hace una mejor distinción entre las heridas generales y las UV, y recomienda la aplicación de cataplasmas de verduras, y el uso de vendas de yeso en el tratamiento de las UV <sup>10,27</sup>.

Hari-Abbas (Avicena) dermatólogo del siglo X, describió el concepto de riesgo de las úlceras en personas que trabajan de pie, siendo el inicio del descubrimiento de la importancia médico-social del problema varicoso y sus factores etiopatogénicos <sup>10,28</sup>.

Durante el siglo XVII, el término “úlceras varicosas” se le atribuye a Richard Wiseman, cirujano y sargento del rey Carlos II, quien describió el uso de la compresión externa en 1676, tiempo que se empezaron nuevos tratamientos, y se describió la formación de coágulos sanguíneos debido al estasis venoso <sup>10,27,29</sup>.

En 1770, José Else, cirujano del Hospital St.Thomas de Londres, expresó: *“ninguna enfermedad es tan común en nuestro hospital como las úlceras en las piernas. Su cuidado es, en general, tedioso y molesto, a menudo laborioso y, a veces, no exento de peligros”*<sup>27</sup>.

En el siglo XVIII hubo avances significativos, en 1860, Rudolf Virchow mencionó que las úlceras en las piernas no iban necesariamente acompañadas de venas varicosas visibles<sup>10,27</sup>.

Sobre 1870, Martín Boston, redujo la recurrencia de úlceras con el uso de un vendaje de goma pura (goma india) que fue un éxito, al aplicarse junto con una pequeña cantidad de sulfuros directamente sobre la piel y la úlcera<sup>27</sup>.

En 1882, el dermatólogo alemán Paul Gerson Unna, inventó el uso de la pasta de óxido de zinc para tratar la dermatitis por estasis venosa, posteriormente, empapó una venda, logrando una pasta de Unna, lo que se convirtió en el principio de la terapia de compresión activa para UV, también reiteró la necesidad de la compresión dosificada, gradual y la importancia de ser calculada de forma individual según cada caso<sup>10,27</sup>.

### 2.1.2. CONCEPTO, INCIDENCIA, ETIOPATOGENIA Y FISIOPATOLOGÍA

La úlcera venosa es una lesión con pérdida de sustancia, que asienta sobre piel dañada por una dermatitis secundaria a hipertensión venosa (HTV)<sup>30</sup>. La evaluación inicial de los pacientes con UV debe incluir una historia médica completa así como un examen físico, análisis bioquímico y nutricional; siendo muy recomendable la utilización de la clasificación CEAP (tabla 1)<sup>17,31</sup>. El diagnóstico diferencial debe incluir otro tipo de úlceras de extremidad inferior, siendo importante las mediciones

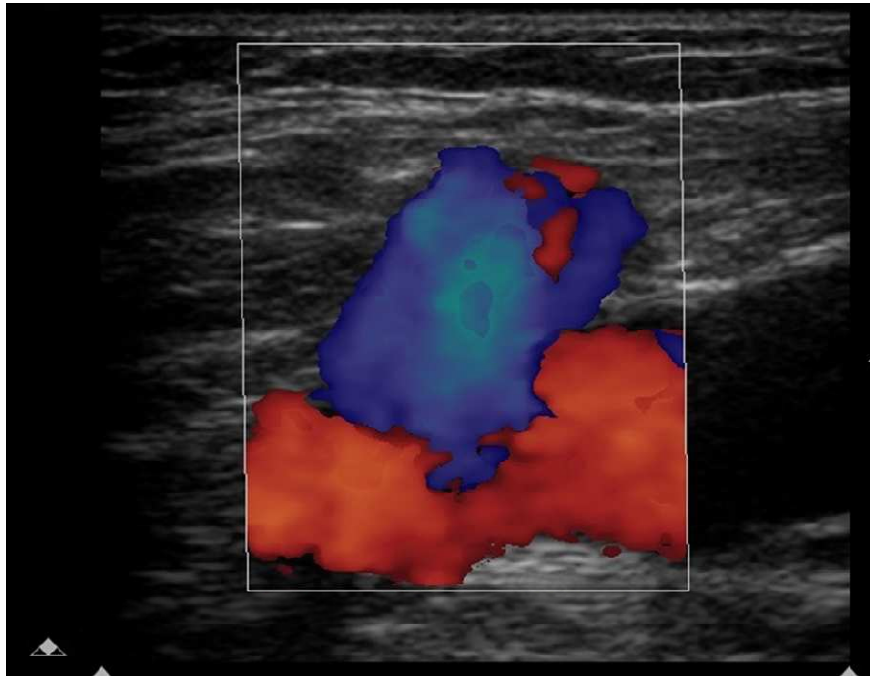
iniciales tanto del tamaño como de la profundidad <sup>17</sup>. El examen vascular es un complemento esencial para la evaluación de los pacientes con UV. Cada paciente debe someterse a una ecografía Doppler venosa para conocer el reflujo venoso superficial y profundo, la evaluación de la permeabilidad venosa profunda, signos de trombosis venosa profunda previa, así como la medición del índice tobillo/brazo <sup>17,31</sup>.

**Tabla 1: Clasificación CEAP**

<b>CLASIFICACIÓN CEAP</b>		
<b>C</b>	<b>CLINICA</b>	C0. Sin signos visibles ni palpables. C1. Telangiectasias o venas reticulares. C2. Varices C3. Edema C4. Cambios cutáneos sin úlcera. C5. Cambios cutáneos con úlcera cicatrizada. C6. Cambios cutáneos con úlcera activa. A: Asintomático. S: Sintomático.
<b>E</b>	<b>ETIOLOGÍA</b>	Ec: congénita. Ep: primaria. Es: secundaria (postraumática o postrombótica).
<b>A</b>	<b>ANATOMIA</b>	As: venas del sistema venos superficial. Ad: venas del sistema venoso profundo. Ap: venas perforantes.
<b>P</b>	<b>FISIOPATOLOGÍA</b>	Pr: reflujo Po: obstrucción Pro: reflujo y obstrucción

El diagnóstico de la UV se establece en aquellas circunstancias clínicas en que la fisiopatología inicial de la úlcera y su curso evolutivo puedan correlacionarse de forma inequívoca con la existencia de HTV ambulatoria en la extremidad, no siendo suficiente elemento diagnóstico la existencia de plexos venosos dilatados y varices. Cada paciente con UV e IVC debe someterse a estudio diagnóstico para descartar otras causas de edema, descartar la enfermedad arterial periférica concomitante es crucial en el

tratamiento de la enfermedad venosa, ya que debe ser abordado antes que ésta; la ecografía Doppler venosa es la investigación más importante en estos pacientes <sup>32</sup>. En la imagen 1 se observa signo de insuficiencia venosa por reflujo en el sistema venoso.



**Imagen 1: Eco Doppler donde se evidencia flujo reverso en unión safeno-femoral ante la maniobra de Vasalva <sup>33</sup>.**

La elevada prevalencia, cronicidad y tasa de de recurrencia constituyen las principales características epidemiológicas de la úlcera de etiología venosa. Del 75 al 80% de las úlceras de la extremidad inferior son de esta etiología <sup>34</sup>. Se acepta que la tasa de recurrencia de la úlcera de etiología venosa es elevada, si bien existen limitados trabajos que la analicen, según lo expresado por diversos autores, varía entre el 20 y el 30% a los dos años; entre el 35 y el 40% a los tres años, y entre el 55 y el 60% a los cinco años <sup>35,36</sup>.

La UV es una patología de difícil manejo, pueden sanar, pero si no se soluciona el problema de base, aproximadamente en el 45% de los casos, es posible que pronto aparezca una nueva, lo que la convierte en una dolencia con recurrencia importante y de

comportamiento crónico <sup>11</sup>. Diversos estudios indican que el 60% de las UV tienen antigüedad mayor de seis meses y el 33% mayor a un año. El problema aumenta progresivamente con la edad y afecta mayoritariamente a las mujeres frente a los hombres, en una relación variable entre 1:5 a 1:10 <sup>37</sup>.

En el Reino Unido, un reciente estudio, mostro una prevalencia anual de 1,69% en la población mayor de 65 años, con una incidencia de 0,76 en hombres y de 1,40 en mujeres por 1000 personas/año. En Europa se ha calculado que afecta entre el 0,15 y el 1% de la población <sup>38</sup>.

La sintomatología clínica de la IVC es muy variable y con frecuencia difícilmente demostrable. No obstante, los signos clínicos si pueden establecerse y varían desde la presencia de varices con grados moderados de edema a las complicaciones cutáneas y la úlcera <sup>34</sup>.

A nivel fisiopatológico, la variable fundamental de la IVC es la incapacidad de los segmentos venosos de la extremidad inferior de mantener un flujo centrípeto adecuado de retorno en situación de bipedestación estática, pero fundamentalmente dinámica <sup>34</sup>.

La etiología de la IVC puede ser primaria o secundaria. La sintomatología clínica no es sustancialmente diferente entre ambas, pero si su curso clínico, que es más rápidamente evolutivo y por tanto de peor pronóstico en la IVC secundaria que en la primaria. En la etiología de la UV, la IVC secundaria tiene una prevalencia muy superior que la IVC primaria, en una proporción de ocho a dos. La IVC primaria es de etiología congénita y en el 75% de las situaciones se ha podido establecer su carácter hereditario <sup>39,40</sup>.



En la IVC de etiología primaria la situación observada con más frecuencia es que la HTV afecte de forma exclusiva al sistema venoso superficial (SVS).

La causa inicial de la insuficiencia venosa secundaria es la trombosis venosa profunda (TVP) y las transformaciones que su curso evolutivo comporta en la estructura parietal y valvular de los segmentos venosos trombosados. En su fase aguda, la obstrucción trombótica del sistema venoso profundo (SVP) provoca una grave limitación en la progresión del flujo venoso centrípeto y la subsiguiente derivación de éste hacia el SVS, que inicia un proceso adaptativo a la HTV <sup>34</sup>.

En cuanto a la fisiopatología de las alteraciones cutáneas, hay que destacar que cuando la HTV es de carácter crónico, se generan una serie de alteraciones vasculares e histológicas irreversibles, que dan lugar a la denominada “histioangiopatía hipertensiva venosa” <sup>34</sup>.

Browse y Burnand, en 1982, fueron los primeros investigadores que expusieron la hipótesis de que la HTV mantenida comportaba consecuencias lesionales irreversibles en la microcirculación. Según su teoría, las presiones elevadas en el interior de los vasos provocan estas alteraciones. Las paredes de los vasos se dañan, trayendo consigo un aumento de la permeabilidad capilar con liberación de macromoléculas de su interior hacia la piel, lo que provoca las alteraciones cutáneas observadas bajo la forma de edemas, eczemas, hiperpigmentación, lipodermatoesclerosis, culminando con la ulceración del tejido <sup>41</sup>.

Falange y Eaglstein, en 1993 publicaron la teoría “trap growth factor hipótesis”, donde según los autores, el fibrinógeno y otras macromoléculas, como la albúmina y la alfa-2 macroglobulina liberadas por la dermis como consecuencia de la HTV, se agrupan con factores de crecimiento y otras sustancias estimulantes u homeostáticas,

volviéndose incompatibles para el mantenimiento de la integridad del tejido y para el proceso de reparación <sup>42</sup>.

Podemos afirmar que la úlcera venosa es la culminación de una cascada de eventos celulares y humerales complejos que se magnifica por la predisposición genética e iniciado por la HTV <sup>31,43</sup>. La persistencias de las alteraciones hemodinámicas, concretamente la HTV conduce a la progresión de la enfermedad venosa, y algunos de estos pacientes desarrollan UV. El proceso de vinculación de alteración hemodinámica a la progresión de ulceración incluye cambios en la microcirculación que causan mecanismos celulares y moleculares que implican inflamación, actividad proteolítica y fibrosis <sup>43</sup>.

### 2.1.3. LOCALIZACIÓN, MORFOLOGÍA, SINTOMATOLOGÍA, EVOLUCIÓN Y DIAGNÓSTICO.

El diagnóstico de la UV se hace principalmente sobre la base de una evaluación de la historia del paciente y el examen clínico, esta evaluación debe determinar si hay una historia familiar de IVC y/o condiciones tromboembólicas pasadas o presentes, la disfunción de la bomba muscular a nivel de la pantorrilla, que causan el aumento de la resistencia al retorno venoso y el daño de las válvulas <sup>21,44</sup>. Se debe preguntar al paciente sobre ulceraciones pasadas y presentes, teniendo en cuenta la ubicación, carácter, la duración, el tratamiento, el número de recurrencias y posibles factores desencadenantes. La evaluación en el ámbito clínico debe incluir un índice tobillo-brazo como una medida del estado de perfusión de la extremidad inferior <sup>44</sup>, descarta coexistencia de enfermedad arterial y determina el nivel adecuado de compresión que se utilizará en el tratamiento <sup>21,45</sup>; a menudo está presente la neuropatía sensorial periférica

en los pacientes con IVC, por este motivo debe incluirse la prueba de monofilamento 21,46 .

Si bien la UV puede localizarse en principio en cualquier zona del tercio distal de la extremidad inferior, en el 90% de los casos se localiza en su cara lateral interna, zona supramaleolar y zonas marginales interna y externa del pie. Esta localización está en consonancia con la zona de máxima repercusión de la HTV secundaria al reflujo venoso (RV) procedente de las venas perforantes (VVPP) y la propia vena safena interna (VSI). Otra localización más infrecuente es la zona pretibial, siendo excepcional que localice en la cara lateral externa de la pierna, en cuyo caso debe realizarse el diagnóstico diferencial con la úlcera de etiología hipertensiva arterial. En la inspección física las UV suelen ser irregulares y poco profundas, fondo de color pálido donde se mezcla tejido de granulación y fibrina. Otros hallazgos en la extremidad inferior incluyen venas varicosas, dermatitis por estasis, hiperpigmentación, lipodermatoesclerosis y edema <sup>32</sup>, tal como se aprecia en la imagen 1.



**Imagen 2. Paciente con úlcera postrombótica de larga duración. Se aprecia la típica localización, bordes irregulares, escasa profundidad, hiperpigmentación y lipodermatoesclerosis.**

Su desencadenante más frecuente es un traumatismo sobre lesiones preulcerosas. Si bien es verdad, que con cierta frecuencia se inicia de forma espontánea sobre éstas, a partir de una zona de infarto cutáneo y está precedida de dolor puntiforme o prurito. La disminución de la sensibilidad en estas zonas cutáneas, que se desarrollaría a partir de alteraciones vasomotoras, facilitarían el traumatismo inadvertido <sup>34</sup>.

De un modo general, las UV son más superficiales que las úlceras de la pierna de otras etiologías; los contornos son normalmente irregulares; son extremadamente exudativos, el dolor es, generalmente variado, mejorando con la elevación del miembro; hay presencia de edema y la evolución es lenta. Inicialmente, la UV puede presentar diversas morfologías, si bien a partir de una evolución de pocas semanas, la más prevalente es la oval, con diámetro longitudinal mayor al transversal. Sus dimensiones son variables y guardan relación con el grado de lesión de los márgenes periulcerosos. Como criterio general y en relación con las úlceras de otras etiologías, la úlcera de etiología venosa puede considerarse de un área y volumen grandes. Los bordes periulcerosos suelen ser excavados y bien delimitados <sup>47</sup>. El dolor suele mejorar o incluso desaparecer con la elevación de la extremidad en decúbito supino, aspecto fundamental que la diferencia de la úlcera de etiología isquémica arterial o de etiología hipertensiva arterial, en las que empeora el nivel de dolor al adoptar esta posición sobre todo de noche.

La UV es altamente exudativa, signo clínico que no guarda relación con su tamaño, y sí con la infección <sup>34</sup>.

El diagnóstico de la UV debe basarse en los exámenes que permitan establecer dos premisas fundamentales:

- La existencia de IVC.
- La ausencia de otros factores etiopatogénicos, como la isquemia o la arteritis.

Los estudios hemodinámicos y en última instancia, el angiográfico (flebografía ascendente o retrógrada) permiten establecer con un valor predictivo positivo de entre el 97 y el 100% la existencia de IVC, y también identificar los sectores venosos responsables de la HTV mantenida en la zona de la úlcera.

#### 2.1.4. TRATAMIENTO.

La gestión de las UV requiere un enfoque integral que incluye la modificación del estilo de vida, la terapia de compresión, la atención adecuada de la herida y las intervenciones farmacológicas <sup>17</sup>.

##### 2.1.4.1. Farmacológico

La medicación oral generalmente no es necesaria para la gestión de la úlcera venosa si la insuficiencia venosa y el edema son corregibles, y los pacientes son capaces de tolerar la terapia de compresión. Sin embargo, los pacientes con úlceras grandes y recalcitrantes pueden requerir medicación oral como tratamiento coadyuvante <sup>32</sup>.

La Pentoxifilina, un inhibidor de la agregación plaquetaria, disminuye la viscosidad sanguínea y mejora la microcirculación. La Pentoxifilina (400 mg tres veces al día) ha demostrado ser un tratamiento adyuvante eficaz para las úlceras venosas cuando se añade a la terapia de compresión <sup>32,48</sup>.

Existen estudios donde se afirma que la aspirina (300 mg/día) en combinación con la terapia de compresión da lugar a una mejora en el tiempo de recurrencia y las

tasas de curación en comparación con la terapia de compresión sola <sup>32,49</sup>. Sin embargo, la aspirina no se utiliza de forma rutinaria en pacientes con úlcera venosa.

#### **2.4.1.2. Esclerosis venosa**

Consiste en la inyección intravenosa de una sustancia irritante que provoca una respuesta inflamatoria en el endotelio de la vena para su posterior trombosis y fibrosis. Su fundamento es la reducción o eliminación de la HTV en la zona donde ésta se localiza mediante la oclusión de los segmentos venosos responsables e identificados con eco-Doppler. El producto más utilizado en España es el polidocanol y la espuma de polidocanol.

Los estudios observacionales publicados por diversos autores en los años setenta indican un porcentaje de cicatrización del 82%, pero son poco concluyentes ya que a la escleroterapia se asocian otras terapéuticas <sup>50</sup>.

#### **2.4.1.3. Quirúrgico**

Aunque la cirugía sobre el sistema venoso superficial ha demostrado que disminuye la tasa de recurrencia de UV, la evidencia demuestra que también puede mejorar la tasa de curación de las UV recalcitrantes <sup>21</sup>. Las técnicas mínimamente invasivas para tratar grandes varicosidades de las safenas incluyen escleroterapia de espuma guiada por ultrasonido, la ablación por radiofrecuencia y la terapia con láser endovenoso <sup>51</sup>. Cuando estas técnicas se comparan con la ligadura a nivel safenofemoral hay menos complicaciones, menos tiempo perdido de trabajo, la mejora en la calidad de vida, menos necesidad de anestesia general, y tasas de recurrencia similares de UV <sup>21</sup>. Los ensayos clínicos actuales sugieren que la escleroterapia con espuma guiada por

ultrasonido, la terapia con láser endovenoso, y la ablación por radiofrecuencia es al menos tan eficaz como la cirugía en el tratamiento del sistema venoso de las safenas. Aunque la ablación térmica endovenosa superficial está ganando en popularidad, no hay ensayos clínicos controlados y aleatorizados acerca de sus efectos sobre la curación de la UV, calidad de vida y su costo-eficacia <sup>52</sup>.

- *Técnicas sobre el sistema venoso superficial y venas perforantes*

Estas técnicas tienen como objetivo fundamental la eliminación del reflujo venoso (RV), y en consecuencia la reducción de la HTV ambulatoria sobre la úlcera. Las técnicas quirúrgicas más utilizadas son: la ligadura de las venas perforantes, la fleboextracción y la técnica CHIVA.

- *Técnicas quirúrgicas sobre el sistema venoso profundo*

En un porcentaje elevado de úlceras venosas, la HTV se genera en el SVP, siendo su etiología primaria en un 30% y posttrombótica en el 70%. Ya que no es posible modificar el RV y la HTV mediante estrategias sobre el SVS y las VVPP, se han propuesto diversas técnicas dirigidas a reducir o eliminar ambos en el SVP <sup>34</sup>.

#### **2.1.4.4. Terapia compresiva.**

Está aceptado que la compresión es un tratamiento efectivo para la HTV y es considerado el estándar de oro en la atención de la IVC y las UV. La compresión reduce la distensión de las venas superficiales y ayuda a la bomba muscular de la pantorrilla al impedir el flujo retrógrado de la sangre, lo que provoca una reducción del edema <sup>21,53</sup>. Se comparó el efecto de la cirugía del sistema venoso superficial mediante fleboextracción de las safenas en comparación con la terapia de compresión sobre la

curación y recurrencia de la UV. Se estudiaron un total de 500 pacientes de 3 hospitales que fueron aleatorizados para someterse a tratamiento de UV mediante compresión sola o combinada con cirugía de las safenas. En general, el 65% de los pacientes en ambos grupos sanó en el punto final de 24 meses. Sin embargo, hubo una reducción significativa en la recurrencia de la úlcera en el grupo de compresión y cirugía en comparación con el grupo de compresión solo (12% vs 28%, respectivamente) <sup>54</sup>. En un segundo informe, los resultados a largo plazo del estudio no mostraron ninguna diferencia estadísticamente significativa en la tasa de curación de la úlcera (compresión 89% y compresión junto a cirugía 93%,  $p = 0,73$ ) a los tres años siguientes, y un aumento de la tasa de recurrencia en el grupo de compresión solamente (56% vs 27%) a los cuatro años <sup>55</sup>.

En posición normal de reposo la presión venosa en las extremidades inferiores es de aproximadamente 60 a 80 mmHg. Los principales efectos hemodinámicos se pueden esperar con una compresión entre 35 y 40 mmHg. Una compresión sostenida en el exterior de 60 mm Hg se ha demostrado que es el límite máximo seguro, incluso en pacientes con un índice tobillo-brazo mayor o igual a 0,5 <sup>56</sup>.

La aplicación de la compresión externa inicia diversos efectos fisiológicos y bioquímicos complejos que afectan a los sistemas venoso, arterial y linfático. Siempre que el nivel de compresión no afecta adversamente al flujo arterial y se apliquen las técnicas y materiales correctos, los efectos de la compresión pueden ser drásticos, reduciendo el edema y el dolor a la vez que favorecen la curación de úlceras causadas por IV <sup>57</sup>.

La terapia compresiva (TC) es sin ningún género de dudas la estrategia terapéutica que acredita una mayor efectividad en el tratamiento de la UV. Desde que



Unna, dermatólogo del siglo XIX desarrollase una venda compresiva de óxido de zinc para el tratamiento de la UV, la principal terapia para dichas heridas ha sido la compresión del miembro afectado <sup>42</sup>.

El edema, acumulación de fluido en el tejido extravascular, se produce como resultado de interacciones complejas donde participan la permeabilidad de las paredes capilares y los gradientes de presión hidrostática y oncótica existentes entre los vasos sanguíneos y los tejidos circundantes <sup>58</sup>.

La ecuación de Starling sugiere que la aplicación de compresión externa contrarrestará la pérdida de fluido capilar incrementando la presión local del tejido y reforzará la reabsorción empujando el fluido hacia las venas y los vasos linfáticos. Esto, a su vez, ayudará a resolver el edema. Según la presión aplicada, un vendaje de compresión puede influir en el volumen interno de venas, arterias y vasos linfáticos. Las estructuras próximas a la superficie de la piel se comprimen más que los vasos profundos. Esto se debe a que la fuerza compresiva se disipa parcialmente en parte por compresión de los tejidos circundantes.

En el sujeto de pie, la sangre fluye lentamente por las venas. La presión venosa, igual al peso de la columna de sangre existente entre el pie y la aurícula derecha, es de unos 80-100 mmHg. Sin embargo, al caminar, el flujo sanguíneo se acelera por acción combinada de la bomba muscular de la pantorrilla y la bomba del pie, lo que en los pacientes con válvulas idóneas reduce el volumen de sangre venosa del pie y reduce la presión venosa en unos 10-20 mm. Si las válvulas de las venas grandes dejan de ser idóneas debido a la degeneración primaria o a lesiones postrombóticas, la sangre oscilará en sentido ascendente y descendente en los segmentos que carecen de válvulas funcionales. El flujo retrógrado resultante (contrario al sentido habitual) de las venas de

la pierna (reflujo venoso) produce una menor caída de la presión al caminar (Hipertensión Venosa Ambulatoria). Esto provoca una salida de fluidos hacia los tejidos, y la formación del edema <sup>58</sup>.

La terapia de compresión está contraindicada en la insuficiencia arterial aguda o la insuficiencia cardíaca descompensada, y celulitis aguda sin tratar; sin embargo, la compresión puede ser utilizada con seguridad en pacientes con insuficiencia mixta arterial y venosa, si el nivel de compresión es modificado. Para Índice Tobillo/Brazo (I T/B) < 0,50 mm de Hg la compresión está contraindicado, y el paciente debe ser evaluado para revascularización. En casos de celulitis aguda, el paciente es tratado inicialmente con elevación y antibióticos sistémicos, y cuando la inflamación y el dolor ceden, se puede iniciar la compresión <sup>21,59</sup>.

En cuanto a la recurrencia de la UV, una reciente revisión Cochrane incluyó cuatro ensayos compuestos por un total de 979 pacientes. Los resultados fueron consistentes con una significativa menor tasa de recurrencia de la úlcera en el grupo de tratamiento de compresión <sup>60</sup>.

Hay dos tipos principales de compresión utilizado en el tratamiento de la UV: estático y dinámico. La compresión estática se caracteriza por un gradiente de presión constante de distal a proximal en las extremidades inferiores la compresión dinámica consiste en un dispositivo tipo bomba de compresión neumática intermitente que proporciona cambios continuos en la intensidad de la presión y no requiere ningún vendaje, este tipo de compresión es útil para los pacientes inmóviles o aquellos con necesidad de presión más altas o que no toleran sistemas de compresión estática <sup>44</sup>. La evidencia sugiere que la compresión dinámica facilita la cicatrización en comparación con ningún sistema de compresión, sin embargo hay pruebas limitadas acerca de si la

compresión dinámica ofrece mayor beneficio para la curación de la UV que los sistemas de compresión estática <sup>44,61</sup>.

Según Abbad y cols. <sup>62</sup> la elastocompresión incrementa la curación de las UV comparada con la no compresión, los sistemas multicapa son más efectivos que los de una sola capa, y los elásticos son más efectivos que los inelásticos. El mejor vendaje es el de 4 capas: han demostrado una curación más precoz que los que llevan una compresión fuerte pero corta.

- *Vendajes compresivos*

La presión que genera un vendaje inmediatamente después de su aplicación viene determinada principalmente por la tensión en el tejido, el número de capas aplicadas y el perímetro de la extremidad. La relación entre estos factores se rige por la Ley de Laplace, que establece que la presión ejercida sobre una estructura circular es directamente proporcional a la tensión externa aplicada e inversamente proporcional al radio de la curvatura de dicha estructura <sup>63</sup>.

Con los vendajes elásticos, un pequeño cambio en la extensión (como el que puede ocurrir mientras se camina) puede ocasionar fluctuaciones menores en la presión debajo del vendaje. Asimismo, estos vendajes pueden acomodarse a cambios en la circunferencia o perímetro de la extremidad, como sucede cuando se reduce el edema, con efectos mínimos en la presión debajo del vendaje. Sin embargo, con los vendajes no elásticos pueden producirse grandes cambios en la presión debajo del vendaje a partir de cambios menores en la geometría de la pantorrilla. Estos vendajes pueden producir una compresión elevada mientras se camina y presiones bajas durante el descanso <sup>63</sup>.

- *Vendajes elásticos de compresión fuerte*

Estos vendajes elásticos, muy extensibles se expanden o se contraen para adaptarse a los cambios en la geometría de la pierna al caminar, de que los cambios de presión sobre la pantorrilla son bastante pequeños. Asimismo, mantienen las presiones aplicadas durante largos períodos de tiempo, incluso si el paciente se encuentra en reposo <sup>7</sup>.

- *Vendajes no elásticos de compresión fuerte*

Estos vendajes de algodón inelásticos y de extensión mínima, si se aplican con fuerza, no pueden adaptarse a los cambios en la circunferencia de la extremidad. En consecuencia, las presiones debajo de dichos vendajes tienden a aumentar cuando se camina, ya que el músculo de la pantorrilla intenta expandirse contra la cubierta textil relativamente rígida e inextensible. Por tanto, el vendaje refuerza o sostiene la acción de la bomba muscular de la pantorrilla <sup>63</sup>.

- *Vendaje multicapa*

Suelen tener entre 3 y 4 capas y pueden ser vendajes compresivos bien elásticos, bien inelásticos, vendajes cohesivos/adhesivos, vendajes de crepé y/o capas de almohadillado. Los componentes de cada uno de los sistemas son diferentes y su extensibilidad, módulo y elasticidad también lo son. Posiblemente el éxito de los sistemas compresivos multicapa radique en el hecho de que en general contiene una combinación de vendas. El vendaje elástico ofrece una compresión constante, mientras que el vendaje inelástico cohesivo/adhesivo aporta rigidez y mejora la función de la bomba muscular de la pantorrilla. El concepto multicapa es porque la presión se aplica por capas, de modo que se logra una acumulación de presión <sup>7</sup>.

#### **2.1.4.5. Bases del tratamiento local de la UV**

Sin duda, la estrategia terapéutica de mayor eficacia sobre la úlcera de la extremidad inferior es aquella que incide sobre su etiología y que muestra capacidad para resolverla, ya sea de forma temporal o definitiva. Si bien un porcentaje no inferior al 60% de las úlceras de la extremidad inferior tienen una difícil solución etiológica y que otras, a pesar de un resultado terapéutico inicial aceptable, evolucionan de una forma lenta hacia su cicatrización<sup>34</sup>; de tal manera es posible influir en el curso evolutivo de la úlcera mediante una serie de estrategias de tratamiento local, que se exponen a continuación:

Junto a una educación eficaz del paciente serán necesarios los siguientes principios para que la preparación del lecho de la herida tenga éxito<sup>64</sup>:

- Corregir la causa de la úlcera tratando la enfermedad venosa subyacente (intervención quirúrgica en caso necesario).
- Mejorar el retorno venoso mediante terapia de alta compresión.
- Crear el entorno local óptimo en el lugar de la herida.
- Mejorar otros factores que puedan retrasar la cicatrización.
- Mantener una evaluación constante para identificar cambios en la etiología.
- Mantener la extremidad con terapia compresiva durante toda la vida, para evitar recidivas.

La mayoría de las úlceras venosas sin complicación presentan relativamente poco tejido necrótico en la superficie de la herida y no precisan desbridamiento. Las úlceras de larga duración pueden desarrollar una base fibrosa crónica que es adherente y de un color pálido brillante. La eliminación de esta capa mediante un desbridamiento

intensivo con anestesia local puede facilitar la cicatrización, pero dicho desbridamiento debe aplicarse con extremo cuidado para no dañar estructuras más profundas <sup>65</sup>.

El desbridamiento autolítico mediante apósitos con alto contenido en agua, como los hidrogeles y los hidrocoloides, es lento y la experiencia clínica apunta que no es el modo más eficaz de desbridamiento con terapia compresiva <sup>66</sup>.

Los problemas en la piel circundante como la formación de callos y la hiperquetatosis, pueden interferir en la cicatrización. La experiencia clínica sugiere que se puede facilitar la eliminación del tejido mediante la aplicación de agua tibia con emolientes durante más de 10 minutos. Las hemorragias consecutivas al desbridamiento pueden resolverse mediante la aplicación de un hemostático tipo alginato, junto con compresión <sup>66</sup>.

Las bacterias pueden favorecer una inflamación persistente que puede ocasionar la producción de mediadores inflamatorios y enzimas proteolíticos. Entre otros muchos efectos, esto produce degradación de la matriz extracelular e inhibición de la reepitelización <sup>67</sup>. Por consiguiente, debe controlarse la carga bacteriana para facilitar la cicatrización, o bien, maximizar la eficacia de técnicas terapéuticas más recientes, como la bioingeniería de tejidos o las terapias con factores de crecimiento <sup>66</sup>.

Para llegar al diagnóstico de infección de la herida será necesaria cierta habilidad clínica basada en la realización de un historial minucioso y en la observación clínica. Las infecciones en las UV suelen ser de tipo localizado y pueden presentar celulitis. Pocas veces desarrollan infecciones sistémicas, aunque pacientes inmunodeprimidos pueden presentarlas. La leucocitosis y los reactivos de fase aguda como la tasa de sedimentación globular y la proteína C reactiva, no aportan datos fiables, puesto que estos pacientes sufren constantes enfermedades menores o lesiones

periféricas que pueden elevar estos índices. Por tanto, deben observarse otros signos que suelen aparecer en estas heridas, como un incremento en la intensidad del dolor o un cambio en las características del dolor <sup>68,69</sup>.

El diagnóstico microbiológico debería reservarse para situaciones donde existen indicios evidentes de que en el retraso de la cicatrización está implicada la carga bacteriana. Aunque se considera que lo mejor es el recuento bacteriano a partir de una biopsia de la herida, el muestreo de la superficie es más sencillo y barato. Asimismo, cada vez se apunta más a que la interacción de las sinergias bacterianas es más importante que el número exacto de unidades ya que una diversidad mayor (es decir, más de cuatro especies) está vinculada con heridas que no evolucionan hacia la cicatrización <sup>70,71</sup>. Se considera que los anaerobios son tan perjudiciales para la cicatrización como los aerobios <sup>70</sup>. El *Staphylococcus Aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* son las bacterias que suelen aislarse con mayor frecuencia en úlceras de la pierna infectadas, aunque también se encuentran en heridas no infectadas. Los estreptococos hemolíticos no suelen aparecer en las úlceras de la pierna, pero su aparición puede ser bastante preocupante y puede ocasionar lesiones tisulares masivas si no se identifica y se trata con prontitud de un modo eficaz <sup>66</sup>.

Es esencial aumentar la resistencia del paciente corrigiendo la enfermedad vascular subyacente y eliminando o reduciendo los factores de riesgo, entre otros: fumar, insuficiencia cardíaca, edema, dolor, malnutrición y los efectos de medicamentos tales como los esteroides y los agentes inmunosupresores. Aunque el tratamiento de la infección viene determinado por las características locales de la herida, la eliminación del tejido desvitalizado y de los cuerpos extraños es el primer paso para restablecer el equilibrio bacteriano. Esto puede conseguirse con un control del exudado, lavados con

solución salina estéril y un desbridamiento quirúrgico si es necesario, u otros métodos de desbridamiento <sup>72</sup>.

En una reciente evaluación de la función de los antisépticos <sup>73</sup> se ha observado que existen nuevas formulaciones de liberación lenta y sostenida de yodo y plata que reducen la carga bacteriana de un modo seguro y eficaz. Al seleccionar apósitos que contienen antisépticos <sup>74</sup>, además de las propiedades antibacterianas, deben tenerse en cuenta otras características, como la retención de humedad, la absorción de endotoxinas, la reducción de la inflamación <sup>75</sup> y el alivio del dolor <sup>69,76</sup>.

Es preferible la utilización de antisépticos porque aún no se han presentado problemas clínicos de resistencia <sup>69</sup>. Si no se observa mejoría transcurridas dos semanas, se debe interrumpir el tratamiento con antisépticos, volver a evaluar la herida y considerar la posibilidad de aplicar antibióticos sistémicos. Los antibióticos tópicos pueden administrarse en altas concentraciones sobre la herida, al tiempo que se minimiza el riesgo de toxicidad sistémica. Sin embargo, se ha detectado sensibilización cutánea, inactivación e inhibición de la cicatrización y selección de cepas resistentes <sup>77</sup>, por lo que no se recomiendan. Se ha utilizado gel de metronidazol para tratar el olor y reducir la colonización por anaerobios <sup>78</sup>, mientras que el ácido fusídico y la mupirocina actúan contra las bacterias gram positivas, incluido el *Staphylococcus Aureus* resistente a meticilina. No debe utilizarse polimixina B, neomicina ni bacitracina, ya que pueden provocar alergias. Deben utilizarse antibióticos sistémicos en caso de que se presenten signos de invasión sistémica, celulitis o cuando una infección activa no consiga controlarse mediante terapias locales <sup>66</sup>.

En cuanto al exudado, las UV suelen producir un exudado abundante <sup>79</sup>, lo que puede retrasar la cicatrización y provocar maceración de la piel circundante. Como se



refirió en el apartado anterior, el exudado crónico provoca descomposición de las proteínas de la matriz celular y de los factores de crecimiento, prolonga la inflamación, inhibe la proliferación celular y conduce a la degradación de la matriz tisular<sup>80,81</sup>. Esta es la razón por la que tratarlo es esencial para un buen acondicionamiento del lecho de la herida<sup>82</sup>.

Es necesario lograr un equilibrio de la humedad, para lo cual es fundamental eliminar el edema utilizando una terapia compresiva constante<sup>64</sup>. La compresión contribuye a optimizar el equilibrio de humedad local reduciendo la producción de exudado y la maceración tisular, así como a garantizar una perfusión tisular adecuada el retorno venoso. La selección del método de compresión depende de los recursos disponibles, de la movilidad del paciente, del tamaño y de la forma de la pierna afectada, así como de las preferencias del paciente. Si las UV continúan produciendo exudado abundante y existen signos de edema, es probable que la compresión no sea adecuada. Posiblemente, deban cambiarse los vendajes con más frecuencia si éstos se manchan por un exudado excesivo o si disminuye considerablemente el diámetro del miembro<sup>66</sup>.

Para facilitar la acción de la compresión debe recomendarse a los pacientes que no permanezcan de pie durante periodos prolongados y que coloquen la pierna por encima del nivel del corazón cuando estén sentados o tumbados.

En las UV es necesario aplicar los principios básicos de cura en ambiente húmedo, ya que no suele producirse sequedad del lecho de la úlcera. Es importante adoptar medidas sencillas como lavar las extremidades inferiores y aplicar cuidados cutáneos efectivos.

Son necesarios una serie de factores para la elección del apósito adecuado. Éstos deben minimizar los traumatismos tisulares, absorber el exceso de exudado, tratar el tejido escarificado/necrótico y ser hipoalergénicos. En la medida de lo posible, deben evitarse los apósitos adhesivos, ya que incrementan el riesgo de reacciones alérgicas o dermatitis de contacto <sup>83</sup>. El rendimiento de los apósitos puede verse afectado por la compresión, en especial los diseñados para tratar elevados niveles de exudado, ya que la compresión puede repercutir sobre el flujo lateral de fluido en el interior del apósito <sup>76</sup>. Una revisión sistemática de Cochrane recomienda que, para la mayoría de las úlceras venosas, un apósito absorbente sencillo no adherente ofrece suficiente protección a la úlcera bajo el sistema de compresión <sup>84,85</sup>. Hay que tener muy en cuenta que serán los profesionales clínicos quienes deben elegir un apósito adecuado en función de las características de la herida y la piel perilesional, teniendo en cuenta aspectos como el exudado y el dolor <sup>84</sup>.

En cuanto a la hidratación y la protección de la piel con productos a base de parafina o pasta de zinc, hay que reseñar que es un aspecto fundamental del cuidado. No obstante, estos productos deben retirarse con regularidad lavando la zona; de lo contrario pueden formar una capa gruesa que no permite eliminar los queratinocitos muertos y que favorece el desarrollo de eccema varicoso e hiperqueratosis. También puede producirse maceración alrededor de los bordes de la UV, que se manifiesta en forma de tejido blanco y mojado <sup>86</sup>.

Si el borde epidérmico no consigue migrar a través del lecho de la herida, puede deberse a varios motivos: hipoxia, infección, desecación, traumatismo causado por el apósito, crecimiento excesivo de hiperqueratosis y callos en el borde de la herida, entre otros <sup>66</sup>.

#### **2.1.4.6. Prevención Primaria**

La identificación precoz de la IV (CEAP niveles C1-C3) permitirá un tratamiento rápido dirigido hacia la reducción de los síntomas y prevención de la progresión a la ulceración. Los pacientes con factores de riesgo conocidos o con inicio de sintomatología de IV (edema por ejemplo) deben ser instruidos para usar medias de compresión u otros sistemas durante las horas de vigilia con el fin de prevenir el edema venoso y la ulceración. Además de la compresión, hay tres categorías adicionales de estrategias preventivas, incluyendo el control de peso en los pacientes obesos, el ejercicio/actividad física para mejorar la eficiencia de la bomba muscular de la pantorrilla, y el tratamiento de las varices<sup>21,87</sup>.

#### **2.1.4.7. Prevención Secundaria. Prevención de la recurrencia**

Los pacientes deben entender que la terapia de compresión será un compromiso de por vida. Después de una UV curada, un sistema de compresión que proporcione la fuerza apropiada debe ser usado a diario. En la recomendación de la compresión mediante media elástica debe tenerse en cuenta tanto la longitud (rodilla, pantorrilla, muslo o cintura) como la cantidad de tensión. Hasta la rodilla es el sistema en longitud más usado, porque promueve el aumento de la adhesión, y proporciona un alivio de los síntomas adecuado. Sobre la base de la gravedad clínica, la cantidad de compresión para los pacientes varía de acuerdo con las clasificaciones CEAP. Para los pacientes con clase CEAP C2-C3 deben estar en 20-30 mmHg, aquellos con CEAP clases C4 y C5 deben utilizar 30-40 mmHg, y los pacientes con úlceras recurrentes deben utilizar 40-50 mmHg, úlceras activas CEAP clase 6 requiere alta compresión (50-60 mmHg)<sup>21</sup>.

## **2.2.EL PROCESO DE REPARACIÓN TISULAR**

Uno de los aspectos más importantes a la hora de comprender los diversos procesos que rodean a la cicatrización es diferenciar entre herida aguda y herida crónica, basados en los conceptos de orden y temporalidad <sup>88,89</sup>. Se entiende por herida aguda toda lesión que sigue su proceso de cicatrización de manera ordenada, en un tiempo adecuado y reponiendo de manera correcta cada parte dañada, de manera que se pueda recuperar la integridad anatómica y funcional de la parte de la piel dañada, por el contrario cuando nos referimos a herida crónica, nos referimos a la solución de continuidad (rotura) de la piel con pérdida de sustancia de cualquier superficie epitelial del organismo, que se caracteriza por su nula o escasa tendencia a la curación espontánea <sup>90</sup>. En cuanto al concepto de cicatrización, se podría decir que las heridas crónicas se diferencian de las heridas agudas porque estas últimas cicatrizan por primera intención, mediante la superposición de planos, en un periodo comprendido entre los 7 y los 14 días, mientras que una herida crónica requiere para su cicatrización de periodos muy prolongados, ya que cicatriza por segunda intención, en un complejo proceso que elimina y reemplaza el tejido dañado <sup>1,89</sup>.

### **2.2.1. CICATRIZACIÓN POR PRIMERA INTENCIÓN.**

Es la que se da en las lesiones tisulares secundarias a heridas o traumatismos no contaminados y en ausencia de patología local o sistémica grave. A las 24 horas se observa la migración de neutrófilos hacia los bordes de la incisión, que son reemplazados por macrófagos a las 72 horas. Entre el tercer y quinto día se desarrollan las fibras de colágeno en los márgenes de la herida, que se orientan de forma paralela a éstos. Simultáneamente se desarrolla la neovascularización de la herida, y

paulatinamente las fibras de colágeno rotan noventa grados y unen ambos bordes de la herida. A partir de la segunda semana sigue produciéndose el depósito de colágeno y la proliferación de los fibroblastos. El último eslabón es la formación de la epidermis que se completa totalmente a los treinta días. En este tipo de reparación tisular es fundamental la vascularización del nuevo tejido que se realiza a partir de las estructuras vasculares previamente existentes mediante un proceso de angiogénesis <sup>34,91,92</sup>.

### 2.2.2. CICATRIZACIÓN POR SEGUNDA INTENCIÓN.

En situación fisiológica sólo difiere del anterior en que precisa un mayor intervalo temporal para conseguir la cicatrización de la lesión, pero el proceso biológico es el mismo. Desde una vertiente biológica se observan seis fases diferenciadas en el proceso de cicatrización por segunda intención:

1. Resolución de la necrosis tisular
2. Regeneración celular.
3. Proliferación y migración celular.
4. Síntesis de la matriz extracelular.
5. Epitelización.
6. Remodelación.

Fases que habitualmente se sistematizan en cuatro estadios sucesivos desde el punto de vista cronológico (tabla 2), si bien existe una evidente superposición entre ellos:

- Estadio I o de hemostasia.
- Estadio II o de inflamación.

- Estadio III o de reparación de la matriz extracelular, proliferación y migración celular.
- Estadio IV o de epitelización y remodelación.

Es importante aclarar que aunque el proceso de cicatrización es un proceso continuo y por fases, en ocasiones puede ocurrir un solapamiento entre fases, es decir, en una misma herida podemos encontrar zonas con diferentes estadios de cicatrización

**Tabla 2. Fases y sub-fases del proceso de cicatrización**<sup>93</sup>

Fases	Sub-fases
<b><i>I. Hemostasis</i></b>	1. Agregación de plaquetas y liberación de citoquinas.
<b><i>II. Fase Inflamatoria</i></b>	a. Inflamación temprana (neutrófilos). b. Inflamación tardía (monocitos, macrófagos y linfocitos).
<b><i>III. Fase Proliferativa</i></b>	c. Formación de tejido de granulación (proliferación de fibroblastos y de células endoteliales). d. Formación de la matriz extracelular (síntesis de los fibroblastos). e. Reepitelización (migración y proliferación de los queratinocitos).
<b><i>IV. Fase de Remodelado</i></b>	f. Remodelado (degradación de la matriz extracelular y reordenamiento del tejido conectivo).

### **Estadio I**

El primer objetivo de los procesos reparativos es el de detener la hemorragia. Al producirse una lesión desde las células dañadas se liberan sustancias vasoactivas que provocan una constricción de los vasos (vasoconstricción), evitando una mayor pérdida de sangre, hasta que la aglomeración de trombocitos consiga una primera obliteración vascular. Los trombocitos que circulan en el plasma sanguíneo se adhieren a los vasos lesionados en el lugar de la lesión, formando un tapón que oblitera los vasos de forma provisional. El sistema de coagulación se activa a través del complejo proceso de

aglomeración de trombocitos, para de ese modo cerrar de manera permanente el lugar de la lesión. En la coagulación, que transcurre en diversas etapas, mediante la intervención de 30 factores diferentes, se forma una red de fibrina compuesta por fibrinógeno. Así se origina un coágulo que detiene la hemorragia, cierra la herida y la protege de posibles contaminaciones bacterianas y de la pérdida de humores <sup>94,95</sup>.

La fase de hemostasia comienza inmediatamente cuando aparece la herida. Mediante la formación de una interfase sólida o costra sobre la herida se liberan determinados mediadores bioquímicos solubles (citocinas) a partir de las plaquetas y de los leucocitos segregados al foco de lesión. Estos mediadores son factores de crecimiento celular que tienen capacidad mitógena. En el exudado de la úlcera en esta fase se han identificado los siguientes factores de crecimiento celular:

- Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF).
- Factor de crecimiento ligado a la insulina (IGF-1)
- Factor de crecimiento epidérmico (EGF).
- Factor de crecimiento fibroblástico (FGF).
- Factor alfa transformador del crecimiento (TGF- $\alpha$ ).
- Factor beta transformador del crecimiento (TGF- $\beta$ ).

Su mecanismo de acción es plurifactorial, ya que intervienen en los procesos de neoangiogénesis, de activación fibroblástica, de proliferación de los queratinocitos y en la síntesis del colágeno, y su presencia en la úlcera se evidencia en más de una fase de la cicatrización.

Esta fase termina con una serie de acciones de fibrinólisis mediadas por la plasmina y el plasminógeno cuyo objetivo es dejar los vasos sanguíneos afectados por la hemorragia en condiciones de ser reconstruidos <sup>34,96,97</sup>.

## **Estadio II**

La inflamación representa la compleja reacción de defensa del organismo ante la acción de diferentes agentes nocivos de procedencia mecánica, física, química o bacteriana. El objetivo de ésta es la eliminación de gientes nocivos, o en su defecto su inactivación, limpiar el tejido y establecer las condiciones óptimas para los sucesivos procedimientos proliferativos <sup>94</sup>

La fase inflamatoria se inicia entre el cuarto y séptimo día posterior a la lesión, una vez concluida la formación del coágulo y mediante el proceso de degranulación plaquetario. No obstante, ya se advierten concentraciones de granulocitos y monocitos en el foco de lesión a las seis horas de haberse producido ésta.

Se observa en esta fase una importante vasodilatación local y un incremento de la permeabilidad del endotelio de los capilares contiguos a la lesión. Ambos fenómenos comportan la migración hacia ésta de los neutrófilos y los macrófagos y un incremento en la concentración de los factores de crecimiento celular.

Los macrófagos liberan en el medio proteasas, elastasa y colagenasa (denominados también metaloproteinasa 1) entre otras enzimas proteolíticas que actúan sobre la matriz extracelular, degradándola, y que por ello se describen con el nombre de “metaloproteinasas de la matriz extracelular” (MMP).

En las heridas de tipo agudo y sobre piel normal, las plaquetas entran en contacto con el colágeno y la matriz extracelular, liberando fundamentalmente PDFG y TGF- $\beta$ . Simultáneamente los monocitos inician el proceso de fagocitosis.

Ambos fenómenos, inflamación y liberación de los factores de crecimiento celular y la propia acción de éstos, son regulados por moléculas de interacción celular y mediadores de la inflamación denominados citocinas y quimocinas. Las citocinas, también



denominadas interleucinas, son glucoproteínas que tiene una función de mediadores de la comunicación entre las diversas células mediante su unión bioquímica a receptores específicos de la membrana celular.

Las citocinas tienen capacidad tanto para inhibir como para estimular de forma alternativa las acciones de las células inflamatorias, y son identificadas de acuerdo con su nivel de influencia mediadora en procesos de quimiotaxis, proliferación y diferenciación de éstas <sup>98,99</sup>. Se hallan presentes en los diversos estadios de la cicatrización: en el inflamatorio mediante la acción de los agentes quimiotácticos para las células endoteliales; en el proceso de migración de los queratinocitos; en el depósito en la dermis de las fibras de colágeno, de laminina y de fibronectina, que son con los proteoglicanos los principales integrantes de la matriz extracelular, y por último en el proceso de maduración del colágeno. Las acciones específicas de cada una de ellas se muestran en la siguiente tabla.

**Tabla 3. Tipo de citoquinas y su mecanismo de acción en el proceso de cicatrización <sup>34</sup>.**

TIPO DE CITOQUINAS	ACCION
IL-1	Precursor de IL-2 e IL-2R en los linfocitos T
IL-2	Proliferación de linfocitos T y B
IL-3	Proliferación de prelinfocitos
IL-4	Proliferación de linfocitos
IL-5	Activación de linfocitos B. Incremento de eosinófilos
IL-6	Activación de reactantes en fase aguda
IL-7	Proliferación de linfocitos T inmaduros
IL-8	Quimiotactismo para polinucleares

IL-9	Incremento de linfocitos T
IL-10	Incremento de mastocitos y timocitos
IL-11	Incremento de prelinfocitos
IL-12	Células NK
IL-13	Activación/inhibición de TNF- $\alpha$
IL-14	Proliferación de linfocitos B
IL-15	Proliferación de linfocitos T
IL-16	Bloqueo de CD4R
IL-17	Proinflamatoria. Incremento de óxido nítrico
GM-CSF	Activación de granulocitos y macrófagos
TNF- $\alpha$	Activación de leucocitos
TNF- $\beta$	Incremento de linfotoxicidad
TGF- $\alpha$	Proliferación de queratinocitos
TGF- $\beta$	Incremento de quimiotaxis
IFN- $\gamma$	Activación de macrófagos

En todos estos procesos los radicales mediadores en los procesos inflamatorios derivados del ácido araquidónico (tromboxano A<sub>2</sub>, leucocitrenos) y otros como la histamina y la serotonina tienen una acción fundamental reguladora en las siguientes fases del proceso de cicatrización y de forma concreta en los procesos de vasodilatación, incremento de la permeabilidad endotelial capilar y la quimiotaxis<sup>34</sup>.

### **Estadio III**

Se inicia a partir del instante en que se produce una disminución de las células inflamatorias en el medio. Es decir, cuando los neutrófilos y los macrófagos reducen su presencia en la úlcera, y se caracteriza por la proliferación de fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos que su vez sintetizan en el medio los factores de crecimiento celular <sup>100</sup>. En esta fase se produce la proliferación celular con el fin de alcanzar la reconstitución vascular y volver a rellenar la zona defectuosa mediante el tejido neoformado. Los FC liberados por los macrófagos estimulan la migración de fibroblastos, células epiteliales y células del endotelio vascular ilesas de los márgenes de la lesión, a su vez, estas células proliferan e inician la fase proliferativa, que a menudo dura varias semanas. La migración de fibroblastos y su posterior proliferación es desencadenada por diversos FC y citocinas fibrogénicas <sup>94</sup>. Posteriormente, los fibroblastos que derivan del tejido circundante van incrementando su número dentro de la herida. Los fibroblastos migran, se dividen y se diferencian comenzando a depositar el colágeno <sup>101</sup>.

La reparación de un tejido no puede progresar sin nuevos vasos, ya que éstos deben garantizar un aporte adecuado de sangre, oxígeno y nutrientes. El crecimiento de nuevos vasos sanguíneos es esencial para la función normal de fibroblastos y leucocitos. El oxígeno y los nutrientes permiten a los fibroblastos dividirse y sintetizar colágeno y otras proteínas de la matriz <sup>94,101</sup>. Gracias a los FC, los vasos intactos del borde de la herida generan brotes vasculares que migran a la zona lesionada y al coágulo sanguíneo colindante; la degradación proteolítica de la membrana basal del vaso progenitor, la migración de las células endoteliales hacia el estímulo angiogénico, la proliferación de las células endoteliales justo detrás de las células que migran, la maduración de las

células endoteliales y el reclutamiento de las células periendoteliales, son pasos sucesivos regulados por los FC <sup>94,102</sup>.

Una lesión bien irrigada se encuentra extremadamente vascularizada, incluso la permeabilidad de los nuevos capilares que se han formado es mucho más alta que la de los capilares normales, lo cual se debe al aumento del metabolismo en la región de la herida. Sin embargo, los nuevos capilares tienen una menor capacidad de resistencia ante las sobrecargas producidas de forma mecánica. Con la posterior maduración del tejido neoforado que se transforma en tejido cicatricial, también se vuelve a reducir nuevamente la densidad vascular <sup>103</sup>.

La matriz extracelular está formada en parte por carbohidratos glucosaminoglicanos. Muchos de estos se combinan con moléculas de naturaleza proteica para formar proteoglicanos. Los fibroblastos producen por una parte colágeno, que madura fuera de las células hasta transformarse en una fibra y que le otorga resistencia al tejido, y por otra parte proteoglicanos. Muchos FC también se unen a las proteínas de la matriz. Así las interacciones entre los FC de la matriz y las células son importantes para determinar el comportamiento celular y la acción de diversas citoquinas <sup>94,101</sup>.

Alrededor de una semana después de producirse la herida, el coágulo localizado en el tejido lesionado ha sido completamente invadido y reemplazado por fibroblastos activados que son estimulados por diversos FC para sintetizar y remodelar una nueva matriz rica en colágeno <sup>94,95</sup>.

Los fibroblastos migran hacia el espacio lesional cuando se hallan disponibles los aminoácidos de los coágulos parcialmente disueltos y se halla despejado el tejido necrótico de la herida. Si por el contrario existiesen todavía hematomas, tejido necrótico, cuerpos extraños y bacterias se retrasarán tanto la reconstitución vascular

como también la migración de fibroblastos. El alcance de la neoformación tisular se corresponde de forma directa con la envergadura de la coagulación sanguínea y la dimensión del incidente inflamatorio, incluido el desbridamiento endógeno llevado a cabo con la ayuda de la fagocitosis <sup>94,95</sup>.

#### **Estadio IV**

En esta fase comienza la maduración de las fibras de colágeno. La extensión de la lesión se reduce, disminuye cada vez más la presencia vascular y el contenido de agua en el tejido neoformado, que gana consistencia, y se transforma finalmente en un tejido reparado <sup>94,95</sup>. Para que el tejido neoformado sea sustituido por una cicatriz son necesarios cambios en la matriz extracelular: el PDGF, el FGF, y diversas citoquinas inducen la secreción de metaloproteinasas (MMP) por parte de los fibroblastos, macrófagos, neutrófilos y algunas células epiteliales, que degradan el colágeno y otras proteínas de la matriz extracelular. El metabolismo del colágeno dentro de la zona lesionada es un equilibrio entre síntesis y degradación <sup>94,101</sup>.

Una vez formadas, las MMP son inhibidas rápidamente por sus inhibidores tisulares (TIMP). Los TIMP son importantes en la regulación de la actividad de la colagenasa. Las MMP y los TIMP son esenciales en la remodelación del tejido conjuntivo. El TGF- $\beta$  inhibe la MMP, es un potente estimulador de la producción de procolágeno y TIMP-1 y bloquea la inducción de colagenasa por otras citoquinas. Así el TGF- $\beta$  tiene un papel fundamental en la inhibición de la colagenolisis, dirigiendo la deposición de colágeno y de otras proteínas de la matriz <sup>94,95</sup>. En una etapa posterior, los fibroblastos se transforman en miofibroblastos, cuya función es la producción de actina, proteína que sintetizan por el estímulo de dos factores de

crecimiento celular: los factores estimulantes de colonias celulares (CSF) y el TGF- $\beta$ . Estos miofibroblastos tienen, en función de su propiedad contráctil, la acción de reducción de la superficie de la herida, mediante la aproximación de sus bordes.

La remodelación de la matriz extracelular es un proceso que se inicia con posterioridad a la fase de proliferación celular y es el resultado del equilibrio que se establece en la úlcera entre la síntesis de sus componentes y su degradación por las proteasas.

Por último, el proceso de epitelización se logra por la acción de dos mecanismos de crecimiento celular que se producen simultáneamente:

- El crecimiento de las células epidérmicas a partir de los bordes de la úlcera.
- El crecimiento a partir de la migración y mitosis celular desde el estrato basal en la interfase entre la dermis y la epidermis.
- En el momento en que esta fase de epitelización se encuentra en su punto de máxima evolución, se inicia el proceso de remodelación, que para que sea efectivo precisa que se produzcan los siguientes hechos:
  - Modificación de la matriz extracelular ya formada, aspecto que comporta la sustitución de los proteoglicanos inicialmente depositados.
  - Involución de la neovascularización formada, de modo que la densa red de capilares neoformados sean sustituidos en gran parte por arteriolas y vénulas. Ello se produce por el efecto de inhibición sobre el crecimiento de las células endoteliales por el TGF- $\beta$ .
  - Depósito de colágeno.

- Reducción de la densidad celular. El TGF- $\beta$  tiene una acción de inhibición sobre la proliferación endotelial y los fibroblastos. Esta última, por efecto competitivo sobre el PDGF.
- Contracción de los bordes de la úlcera, mediante la secreción de actina por parte de los miofibroblastos<sup>34</sup>.

### 2.2.3. EL PROCESO DE CICATRIZACIÓN EN LAS HERIDAS CRÓNICAS.

La UV y en general, todas las de la extremidad inferior presenta dos factores diferenciales fundamentales y determinantes de su cronicidad:

- La mayor magnitud de la fase inflamatoria.
- La inhibición, por un proceso de feedback, de los factores de crecimiento celular que determina la formación de una matriz extracelular deficiente y la alteración de los procesos de síntesis de las fibras de colágeno y de la migración de los queratinocitos.

Resulta evidente que la cronicidad de las úlceras es una variable directamente relacionada con su etiología y potenciada por diversos factores coadyuvantes (infección, déficit nutricional, farmacológicos), sin embargo, el factor determinante de ésta es la alteración o disfunción en los procesos biológicos de reparación que se han expuesto con anterioridad.

Los elementos diferenciales más sustanciales entre el proceso de cicatrización normal y el retrasado o patológico se han evidenciado en los siguientes hechos biológicos:

- Los fibroblastos obtenidos mediante biopsia de úlceras crónicas y expuestos in vitro al estímulo de factores de crecimiento celulares como el PDGF y el TGF- $\beta$  presentan una menor respuesta que los fibroblastos obtenidos de piel normal en la misma extremidad.
- En el exudado de las úlceras se ha observado la persistencia de niveles elevados de las citocinas TNF- $\alpha$  e IL-1 en relación con lesiones que cicatrizan normalmente y en las que estos niveles decrecen a los pocos días.
- En la fase de epitelización de la úlcera se ha observado la inhibición de apoptosis entre los fibroblastos y los queratinocitos.
- La relativamente elevada concentración de MMP y disminución de sus inhibidores (TIMP) constituirá la causa fundamental de la formación deficiente de la matriz extracelular, cuya consecuencia directa es la inhibición o retraso de la totalidad del proceso de crecimiento celular inducido por los factores de crecimiento celular. Un exceso de MMP y/o una disminución de TIMP desplaza el equilibrio hacia una mayor degradación de las proteínas de la matriz extracelular y por tanto comporta su debilitamiento <sup>34</sup>.

Estos factores comportan que la cronología de las fases de la reparación tisular en la reparación por primera intención sea de entre tres y cuatro semanas, y en la úlcera crónica se prolongue por espacio de meses e incluso años.

### **2.2.3.1. Factores que determinan la cronicidad de las heridas**

#### *2.2.3.1.1. Sistémicos*

- Estado nutricional



Alteraciones analíticas se correlacionan con la cronicidad de las úlceras, con independencia de su etiología: anemia, hiperglucemia, hipoalbuminemia y déficit de zinc, de vitamina B<sub>12</sub>, A, C y ácido fólico y alteraciones de los factores de la coagulación<sup>34,104</sup>. La hiperglucemia mantenida constatada analíticamente por niveles de hemoglobina glucosilada superiores a 6,5-7,0 altera la capacidad de fagocitosis y quimiotaxis de los neutrófilos. La deficiencia proteica se ha relacionado con la inhibición en la formación de colágeno, por la carencia de aminoácidos como la cisteína y la metionina. El déficit de vitamina C afecta a la síntesis de colágeno. De forma similar actúa el déficit de vitamina, A, que además comporta un retraso en la maduración de los queratinocitos. Las alteraciones en los factores de la hemostasia, y de forma especial en el factor XIII, se han asociado a la cronicidad de la úlcera a partir de la evidencia clínica de su déficit o disfunción en enfermedades sistémicas que cursan con úlceras crónicas como la artritis reumatoidea o la enfermedad de Chron<sup>34</sup>.

▪ Enfermedades concomitantes graves

Las insuficiencias renales, cardíacas y respiratorias evolucionadas son factores sistémicos de gran importancia y actualmente además de gran prevalencia en la cronicidad de las úlceras.

La neoplasia evolucionada constituye obviamente un factor coadyuvante de primer orden, ya que en ella se hallan alterados múltiples sistemas homeostáticos.

Un índice de masa corporal superior a 30 se ha relacionado con mayores tasas de cronicidad, y de hecho en la UV la obesidad agrava de forma demostrada el reflujo venoso y por tanto puede correlacionarse de forma correcta con esta cronicidad<sup>34</sup>.

### 2.3.1.2. *Farmacológicos*

Diversos principios activos interfieren en el proceso biológico de cicatrización de las úlceras, destacando por su frecuencia y trascendencia clínica los enfermos tratados de forma crónica con corticoesteroides y anticoagulantes orales, así como los antiinflamatorios no esteroideos.

Los corticoesteroides inhiben los mecanismos de inflamación y de respuesta inmunitaria como los neutrófilos y los macrófagos. Se ha observado que los esteroides reducen la resistencia a la tracción de las heridas cicatrizadas y retrasan o inhiben totalmente las fases de epitelización y remodelación de éstas. Por un lado los esteroides disminuyen la actividad de la prolihidroxilasa y la lisiloxidasa, y por otro, potencian la vida de la colagenasa. Ambos efectos inciden en la formación de un colágeno deficiente. También hay que destacar el aumento de la permeabilidad que los corticoesteroides o sus derivados producen en el endotelio de los capilares<sup>105,106</sup>. Así, y a partir de tratamientos de una evolución superior a las seis semanas, y con independencia de su dosis, los enfermos tratados con corticoesteroides presentan atrofia y edema cutáneo.

Los anticoagulantes orales tiene unas consecuencias similares<sup>105</sup> en cuanto a la fisiopatología de las úlceras por el factor de hemorragia subcutánea y la complejidad adicional del tratamiento en enfermos anticoagulados, si bien desde la perspectiva biológica no existen evidencias de que incidan en la cronicidad de la úlcera en enfermos con INR mantenidos en ratios de 2 o superiores.

Los tratamientos con citostáticos inhiben la acción de diversos factores de crecimiento celular, y la colchicina reduce la síntesis de colágeno<sup>34</sup>.

### 2.3.1.3. *Edad*

La prevalencia de las úlceras, con independencia de su etiología, es de tres a cinco veces superior a partir de los 70 años <sup>34</sup>. Probablemente, y a pesar de que es conocido el efecto que la edad tiene sobre la involución de los procesos biológicos de proliferación celular y neovascularización entre otros, este hecho radique en que las probabilidades de que a partir de determinada edad se produzca la asociación de dos o más de las causas sistémicas analizadas son estadísticamente elevadas <sup>34</sup>.

### 2.3.1.4. *De la extremidad*

- Isquemia

La isquemia comporta alteraciones determinantes en el metabolismo de la úlcera, no tanto en función del déficit en el aporte de sustancias o principios activos sino fundamentalmente por la reducción de la presión parcial de oxígeno en el tejido <sup>34</sup>.

- Hipertensión venosa

Debido a la elevada prevalencia de la insuficiencia venosa en la extremidad inferior, ésta puede considerarse como un factor de índole local coadyuvante en la cronicidad de las úlceras de otras etiologías, siendo el edema el factor principal.

- Infección

Es uno de los factores más prevalentes en la cronicidad de la úlcera de la extremidad inferior, con independencia de su etiología. Todas las úlceras de la extremidad inferior se encuentran colonizadas por gérmenes el crecimiento y desarrollo

de microorganismos por encima de valores de 100.000 colonias por gramo de tejido tiene una incidencia directa en la inhibición de las diversas fases de cicatrización.

- Traumatismo repetido

El mantenimiento del estrés mecánico causante de la úlcera es un factor de cronicidad independiente de la etiología de ésta.

## **2.3.FUNDAMENTOS BIOLÓGICOS Y APLICACIONES DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP)**

### **2.3.1.LAS PLAQUETAS**

Las plaquetas son elementos sanguíneos anucleados derivados de la fragmentación de sus células precursoras: los megacariocitos. Tienen forma de disco biconvexo de 2-3  $\mu\text{m}$  de diámetro, su concentración normal en sangre periférica es de 150 a  $400 \times 10^9/\text{L}$  y su vida media es de entre 7 y 10 días <sup>107,108</sup>. De los tres elementos formes de la sangre, las plaquetas fueron las últimas en ser descubiertas; su identificación se atribuye al médico francés Alfred Donne, en 1842 <sup>109</sup>.

Se ha planteado que las plaquetas proporcionan, en cuestión de segundos, la primera respuesta celular del organismo después de que se produce la ruptura de la integridad vascular, lesión de algún tejido o de ambos elementos. De esta forma, ellas pueden recubrir y sellar cualquier tipo de estas lesiones e iniciar por un mecanismo extra hemostático el proceso de curación de los sitios dañados <sup>108</sup>. Por lo tanto, además de intervenir en los procesos de hemostasia mediante la formación del coágulo, inician el proceso de reparación de las heridas ya que son un reservorio fisiológico de algunos factores de crecimiento de poseer un papel activo en la regeneración de los tejidos <sup>110</sup>. Existen trabajos in vitro cuyos resultados indican un aumento en la proliferación y diferenciación de osteoblastos humanos y un incremento en la síntesis de matriz extracelular cuando se cultivan dichos osteoblastos en presencia de factores de crecimiento plaquetarios <sup>111</sup>.

Cuando se produce una herida, las plaquetas se unirán al colágeno expuesto de la pared vascular (adhesión) y a la vez, entre si (agregación) a través de puentes de fibrinógeno. La degranulación (activación) de las plaquetas se puede realizar por varios

mecanismos, mecánicos o químicos. Uno de los más fuertes es la adhesión de las plaquetas al colágeno y otros componentes del endotelio, otro sería la presencia de trombina, al activarse, las plaquetas obtienen una forma esferoidal y espinosa con movimientos de pseudópodos y expulsión de gránulos que liberarán a su vez factores de crecimiento. Una plaqueta en circulación posee alrededor de 35 gránulos alfa y 5 cuerpos densos <sup>112</sup>. También se liberan nuevos factores agregantes que, junto con la fase plasmática de la coagulación, originarán trombina y posteriormente sustituirán al fibrinógeno soluble por fibrina. Este proceso no se realizará si existe ruptura o fragmentación plaquetaria por lo que las variaciones en la obtención de los preparados plasmáticos ricos en plaquetas modificarán el contenido de factores de crecimiento final <sup>113</sup>. In vitro se ha visto que la membrana de las plaquetas también estimula la actividad mitogénica de las células óseas humanas contribuyendo a la regeneración de tejidos mineralizados <sup>110</sup>. Tras la liberación inicial de factores de crecimiento del PRP, las plaquetas sintetizarán y liberarán más factores de crecimiento durante los 7 días siguientes de su vida. Una vez mueren, los macrófagos que habrán llegado estimulados por las plaquetas, liberarán a continuación más factores de crecimiento <sup>114</sup>.

Además de las funciones clásicamente descritas para las plaquetas, recientemente se ha referido que a pesar de la ausencia de núcleo y de ADN, las plaquetas cuentan con un sistema para realizar síntesis de proteína, poseen copias de ARNm para casi un tercio de las proteínas conocidas en el genoma humano, procesan el ARNm y traducen eficazmente distintas proteínas <sup>115</sup>. Estos descubrimientos han cambiado la forma de ver a las plaquetas, reconociendo que tienen la capacidad de sintetizar proteínas como respuesta a cambios en su ambiente <sup>116</sup>.

La gran cantidad de factores de crecimiento contenidos en los gránulos plaquetarios, la capacidad de síntesis de novo de proteínas, así como su actividad

microbiciada y moduladora de la inflamación, favorecen la proliferación celular y la síntesis de matriz extracelular, promoviendo la cicatrización, la reparación de heridas y otras lesiones tisulares. Son precisamente estas estas funciones las que han llevado a proponer el uso de plasma rico en plaquetas autólogo para la reparación y regeneración de distintos tejidos <sup>25</sup>.

### 2.3.2. LOS FACTORES DE CRECIMIENTO

Los factores de crecimiento son una familia de señales peptídicas moleculares capaces de modificar las respuestas biológicas celulares, estando sobretodo involucradas en el control del crecimiento y diferenciación celular. Son mediadores biológicos que regulan la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular. Los FC se pueden clasificar según sea su especialidad: amplia o reducida. Los de especialidad amplia como el PDGF y el EGF actúan sobre muchas clases de células, entre ellas tenemos fibroblastos, fibras musculares lisas, células neurogliales y el último, además sobre células epiteliales y no epiteliales <sup>117</sup>. FC de especificidad reducida como por ejemplo la eritropoyetina sólo induce la proliferación de los precursores de los hematíes <sup>117</sup>.

En general, los FC son sintetizados en forma de precursores, siendo necesario para la liberación del factor en forma “activa” un proceso específico de proteólisis. Su mecanismo de acción siempre comienza al unirse a receptores específico de membrana. Para cada clase de FC existe un receptor o conjunto de receptores específicos las células responden a un FC sólo si disponen de la proteína receptora apropiada. Los factores son el estímulo necesario para iniciar una cadena de eventos celulares que tienen como resultado las funciones anteriormente mencionadas. El proceso está mediado por un

sistema de segundos mensajeros en el que interviene una proteína tirosinquinasa. Debido a este mecanismo, la acción de los factores en el lugar de la lesión continúa aunque hayan desaparecido los mismos del medio, ya que han activado el sistema de segundos mensajeros <sup>118,119</sup>.

Entre los tipos celulares productores de los FC están los fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales y leucocitos, especialmente monocitos y macrófagos. Además existen lugares de almacenamiento, como son las plaquetas y el hueso (adheridos a la matriz ósea) <sup>118,119</sup>.

- *Mecanismos por los que los FC mejoran la reparación de las heridas:*
  - Tienen actividad quimiotáctica y atraen células inflamatorias y fibroblastos a la herida.
  - Son mitógenos y estimulan la proliferación celular.
  - Estimulan la angiogénesis.
  - Producen y degradan la matriz extracelular.
  - Influyen en la síntesis de citocinas y FC de crecimiento en células vecinas

Los nombres de los distintos FC reflejan su actividad o su fuente de aislamiento original <sup>119</sup>. Algunos son sintetizados por prácticamente todas las células, como el TFG $\beta_1$ , y esto significa que afectan en cierto modo a casi todos los procesos fisiológicos. Sin embargo, cada FC tiene una o varias actividades concretas fundamentales y sus acciones específicas en una célula concreta dependerán del entorno celular <sup>110</sup>. El PDGF y el FGF son los primeros FC que producen las plaquetas en cantidad relevante para mejorar el reclutamiento y la activación de células (macrófagos, neutrófilos, células endoteliales, etc.) que están implicados en la reparación tisular <sup>120-</sup>  
<sup>122</sup>. Además, la transformación del factor de crecimiento  $\beta$  (TFG- $\beta$ ) aparece crítico en el



inicio del proceso de cicatrización de la herida <sup>123,124</sup>, la estimulación de la quimiotaxis y la mitogénesis sobre los neutrófilos, monocitos, y macrófagos <sup>125</sup>. Durante el proceso de curación, una contribución esencial es proporcionado por el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) lo que aumenta la permeabilidad de los vasos y neoangiogénesis <sup>126</sup>. Por otra parte, Kubota y cols. demostraron que el factor de crecimiento de tejido conjuntivo activa la actividad angiogénica, la regeneración del cartílago, y fibrosis <sup>127</sup>. La epitelización, contracción de la herida, y la remodelación ocurren a través de la secreción del factor de crecimiento epidérmico (EGF) <sup>128</sup>.

### 2.3.2.1. Clasificación de los factores de crecimiento

#### a. Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)

- **Origen:** se llamó así porque se encontró por primera vez en las plaquetas dentro de los gránulos alfa. Fue Antoniades en 1981 quien lo aisló mediante electroforesis de poliacrilamida, técnica en separa las proteínas en función de su tamaño <sup>129,130</sup>.
- **Células productoras:** plaquetas principalmente, macrófagos, osteoblastos (isoforma BB), condrocitos, fibroblastos y células endoteliales <sup>130</sup>.
- **Función:** facilita la angiogénesis por vía indirecta a través de los macrófagos que actúan sobre las células endoteliales, efecto quimiotáctico y activador sobre las células de inflamación (macrófagos); favorecen la quimiotaxis y proliferación de células mesenquimales (mitógeno), facilita la formación de colágeno tipo I <sup>131</sup>; 50% del efecto mitogénico proveniente de las plaquetas <sup>130</sup>.

#### b. Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)

- **Origen:** originalmente se aisló a partir de cultivos celulares de la hipófisis.

- **Células productoras:** plaquetas, macrófagos, osteoblastos y células musculares lisas, sobretodo en estados de hipoxia <sup>113</sup>.
- **Función:** actúan sobre la quimiotaxis y la proliferación de las células endoteliales, realiza una hiperpermeabilidad de los vasos. Su acción parece estar regulada por la acción de TFG $\beta$  y PDFG <sup>132</sup>.

**c. Factor de crecimiento insulínico (IGF-I y IGF-II)**

- **Células productoras:** plaquetas, macrófagos, osteoblastos, células madre mesenquimales y matriz ósea. Ambas formas están en el hueso en gran cantidad y en menor proporción están en el sistema vascular transportado por complejos con proteínas específicas de unión. Existen muchos factores que pueden modular la cantidad de IGF-I en sangre como la edad, sexo, embarazo o los estrógenos <sup>119</sup>.
- **Función:** estimula la proliferación (mitogénesis), la diferenciación y la biosíntesis de colágeno tipo I, así como la formación por parte de los osteoblastos de osteocalcina y fosfatasa alcalina <sup>132</sup>.

**d. Factor de crecimiento de transformación  $\beta$  (TGF- $\beta$ )**

- **Origen:** se llama así porque se aisló por primera vez en los tejidos transformados (sarcomas). Inicialmente sólo se podían extraer de tejidos transformados, pero más tarde se descubrió la existencia de dos tipos y ambos se extrajeron de tejidos normales mediante purificaciones bioquímicas <sup>119</sup>. Se identificó como un factor que promovía la transformación de los fibroblastos en cultivo celular.
- **Células productoras:** el TGF- $\beta$ 1 se encuentra sobre todo en plaquetas, linfocitos y neutrófilos, mientras que el TGF- $\beta$ 2 se encuentra principalmente en hueso,

linfocitos, plaquetas y neutrófilos. El TGF- $\alpha$  es sintetizado por macrófagos, eosinófilos, hepatocitos o células gastrointestinales <sup>113,129</sup>.

- **Función:** el TGF- $\beta$  parece ser el factor de crecimiento más importante en la regeneración. Bennet y Schultz comprobaron que inyectado promovía la formación de hueso y cartílago in vivo. El uso de TGF- $\beta$  solo, en reconstrucciones óseas se ha asociado a resultados inciertos. Tiene dos efectos sobre células indiferenciadas. A altas dosis suprime la proliferación y diferenciación osteoblástica, cosa que no sucede a bajas concentraciones. Podemos decir que modula la proliferación celular, en unos casos la estimula y en otros casos la inhibe. Los efectos mitogénicos observados a bajas concentraciones son ejercidos de forma indirecta por la inducción de la síntesis de PDGF y ulterior acción autocrina estimuladora de la proliferación celular por este último. Generalmente actúa como supresor, mejora la deposición de matriz extracelular aumentando la síntesis e inhibiendo la degradación. Produce quimiotaxis y mitogénesis de precursores de los osteoblastos y además inhibe la acción de los osteoclastos. El TGF- $\beta$ 1 en concreto es un potente estimulador de la deposición de colágeno, además inhibe su reabsorción y degradación destruyendo las proteasas <sup>133</sup>.

e. **Factor de crecimiento epidérmico (EGF)**

- **Células productoras:** la mayor fuente son las glándulas salivales aunque también las producen plaquetas, fibroblastos y células endoteliales. Se ha demostrado la presencia de receptores específicos en la mucosa oral y se acepta que este factor tiene un papel importante en el mantenimiento de la integridad de los tejidos orales <sup>119</sup>.
- **Función:** tiene acciones mitogénicas, de migración y de diferenciación, no sólo sobre las células epiteliales, sino también sobre fibroblastos, células renales y

células gliales a partir de células mesenquimales <sup>113</sup>. Además, induce la formación rápida del diente, estimula la formación de tejido de granulación e inhibe la liberación de ácido por la mucosa gástrica <sup>119</sup>.

f. **Factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico (aFGF y bFGF)**

- **Células productoras:** fibroblastos (principalmente), macrófagos, osteoblastos, plaquetas, células endoteliales y matriz ósea <sup>110</sup>.
- **Función:** aumentan la proliferación y diferenciación de osteoblastos y la inhibición de osteoclastos. Actúan sobre los fibroblastos aumentando su proliferación y la producción de fibronectina. Favorece la angiogénesis por su acción mitogénica y quimiotáctica sobre células endoteliales <sup>113</sup>.

### 2.3.3. PLASMA RICO EN PLAQUETAS

#### 2.3.3.1. Historia

El desarrollo del PRP comenzó en los años 80 con el adhesivo de fibrina, el cual aparece en el ámbito de la investigación en respuesta a la necesidad de mejorar los agentes hemostáticos y los adhesivos quirúrgicos, sobre todo en aquellos órganos en los que resulta muy difícil controlar su sangrado como hígado, riñones, cerebro, en tejidos infectados, quemados o soporte de injertos y en procedimientos odontológicos <sup>130</sup>.

El éxito del gel de fibrina llevó a desarrollar una técnica con la misma filosofía, con menores volúmenes de sangre, que pudiera ser utilizado en forma rutinaria incluso en la consulta ambulatoria. La estrategia se basa en la utilización de las plaquetas por las siguientes razones: por un lado funcionan como vehículo portador de factores de crecimiento y de otras proteínas que desempeñan un papel importante en la biología ósea, como son la fibronectina y otras proteínas adhesivas y por el otro, se controla la

liberación de estas proteínas contenidas en los gránulos alfa de las plaquetas, sustancias que serán controladas y depositadas en el lugar de la lesión, exponiendo y orientando un concentrado fisiológico de proteínas que va a intervenir acelerando y favoreciendo el proceso de reparación y regeneración <sup>134</sup>.

Hasta 1995, todos los protocolos de obtención de concentrados plaquetarios partían de cantidades muy elevadas de sangre y se realizaban en ambientes hospitalarios con equipos sofisticados de autotransfusión, además, existía una gran controversia, en Europa sobre todo, con el uso de trombina bovina, ya que se había detectado anticuerpos antitrombina en pacientes tratados con los métodos descritos <sup>130</sup>.

Se pensó, por lo anteriormente expuesto, en la obtención de un coágulo rico en factores de crecimiento, mediante un método sencillo y de fácil utilización incluso en la consulta ambulatoria. Iniciándose entonces la optimización de un protocolo que permitiría utilizar esta fuente fisiológica de factores de crecimiento que, además del beneficio de la liberación de éstos, constituyera un elemento mecánico que permitiera consolidar los materiales de injerto y facilitara el cierre de las heridas favoreciendo el postoperatorio <sup>133</sup>.

Se eligió como anticoagulante idóneo para la muestra de sangre el citrato sódico. Esta sal capta los iones de calcio que se encuentran en la sangre y los neutraliza formando un compuesto químico llamado quelato, impidiendo de esta forma la coagulación de la sangre. Además, el citrato sódico no altera los receptores de membrana de las plaquetas y permite la reversibilidad del proceso al añadir calcio en forma de cloruro de calcio <sup>134</sup>.

### **2.3.3.2. Definición**

No hay consenso sobre la definición de PRP. Algunos investigadores han sugerido que por PRP se debería entender la fracción con concentraciones en plaquetas de 3 a 5 veces superior al nivel normal. Sin embargo, la definición más defendida en el momento actual es la que lo caracteriza como un volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/ $\mu$ l)<sup>26,135</sup>.

En función del sistema utilizado variarán las concentraciones de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento del preparado. Consecuentemente, 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 pobre en plaquetas (PPP), plasma rico en plaquetas y rico en leucocitos (LR-PRP), rico en plaqueta en plaquetas y pobre en leucocitos (LP-PRP)<sup>26</sup>.

La biología del PRP ha conducido al uso de este preparado autólogo en múltiples ramas de la biología, la medicina, la odontología, la cirugía, y ciencias afines. Los factores de crecimiento actúan a nivel de los receptores citoplásmicos de muchos tipos celulares, sobre todo en las células de origen mesenquimal, aunque no de manera exclusiva sobre estas, ya que también se le ha atribuido efectos proliferativos sobre otras series celulares como son las células gliales y renales. Así, los estudios científicos de caracterización celular presentan a las células mesenquimales como las células con mayor número de receptores para los factores de crecimiento secretados por los gránulos alfa de las plaquetas y por ciertas células<sup>136</sup>.

### **2.3.3.3. Procedimiento de obtención de PRP**

Para la obtención del PRP se siguen los siguientes pasos, que varían en función de la técnica empleada. El método puede ser abierto o cerrado gracias al empleo de kits desechables. En primer lugar, mediante venopunción, se extrae la sangre del paciente en tubos estériles con citrato sódico como anticoagulante. Posteriormente, se procede al centrifugado de los tubos en una centrifugadora. El tiempo, la velocidad y el número de veces que se centrifuga dependen del método empleado. Para evitar la fragmentación de las plaquetas y la consiguiente liberación precoz de las proteínas secretadas, con compromiso de su bioactividad, se recomiendan velocidades de centrifugación bajas <sup>26</sup>.

Cuando se centrifuga la sangre anticoagulada se forman 3 capas determinadas por el gradiente de densidad: la capa inferior, compuesta por glóbulos rojos; la capa media, compuesta por glóbulos blancos y plaquetas; y la capa superior, compuesta por plasma. La fase plasmática, a su vez, puede subdividirse en 3 fracciones en función de la cantidad de plaquetas presentes, que de superior a inferior son: una fracción pobre en plaquetas, la fracción intermedia con una concentración media de plaquetas y la fracción rica en plaquetas. Esta división de la fase plasmática no es detectable a simple vista, por lo que se establece como 1/3 superior, inferior y medio del volumen obtenido. Mediante pipeteado se procede a la separación de cada fracción en diferentes tubos estériles. La calidad del producto obtenido dependerá de la práctica y experiencia del personal que realice el pipeteado. Para conseguir la degranulación plaquetaria y la consiguiente liberación de los factores de crecimiento y de otras moléculas bioactivas ha de procederse a la activación de la fracción inferior de la fase plasmática. La fase rica en plaquetas se puede activar con diferentes métodos, siendo los más empleados el cloruro cálcico y la trombina <sup>135,137</sup>. Después de su preparación, el PRP es estable en condiciones de anticoagulación durante 8 horas o más. El coágulo que se forma después

de la activación sirve de vehículo para contener las proteínas secretoras y mantenerlas en el lugar de la herida.

Algunos autores proponen que la mezcla del PRP y la solución activadora se produzcan in situ sobre la herida. Para ellos utilizan un dispositivo que aúna 2 jeringas con diferente tamaño de émbolo 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.

En función del modo de aplicación deseado, inyectado o en gel, la mezcla activada se inyectará en los siguientes 10 minutos o se esperará hasta la consecución de la gelificación, para lo que se precisa normalmente el calentamiento o la adición de polímeros bioactivos.

Se han realizado diferentes ensayos in vitro para establecer el contenido celular y molecular de los diferentes sistemas comerciales. Entre los resultados obtenidos destaca la importante variabilidad interindividual y la ausencia de proporcionalidad entre la concentración de plaquetas y la cantidad de factores de crecimiento obtenido con los diferentes métodos<sup>138</sup>. La repercusión clínica de las diferencias encontradas todavía no se ha determinado<sup>26</sup>.

#### **2.3.3.4. Plasma Rico en Plaquetas y Plasma Rico en Factores de Crecimiento.**

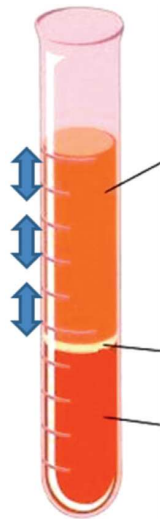
El PRP y el plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) son dos conceptos diferentes, si bien se utilizan indistintamente. El PRP contiene la fracción rica en plaquetas del plasma en donde las plaquetas no están activadas ni agregadas, por lo que el contenido de los gránulos alfa no se ha liberado. Después de la activación se



producirá la degranulación y tendremos una concentración elevada de FC, a partir de ese momento es cuando tenemos plasma rico en FC (PRGF). Por tanto, partimos de plasma rico en plaquetas (PRP) que por activación plaquetaria con cloruro cálcico convertiremos en plasma rico en FC (PRGF) <sup>139</sup>.

A la hora de preparar el PRP se necesita la extracción de sangre periférica del paciente utilizando como anticoagulante el citrato sódico. Posteriormente se centrifuga para preparar la fracción rica en plaquetas; tras este procedimiento obtendremos tres fracciones separadas por su densidad (imagen 3) <sup>130</sup>:

- La primera fracción, la superior, es la que contiene plasma pobre en plaquetas (PPP).
- La porción intermedia contiene un número de plaquetas similar al basal (plasma plaquetario) (PP).
- Y la última, la inferior, situada justo encima de la serie blanca, es la fracción que contiene el PRP.



**Imagen 3: diferentes fracciones obtenidas tras la centrifugación <sup>136</sup>.**

### 2.3.3.5. Características de los diferentes preparados. Resultados según los autores.

Se pueden obtener diferentes preparados plasmáticos, donde se observará un enriquecimiento plaquetario que dependerá del método utilizado, de la velocidad, del tiempo y del número de centrifugados realizados. En la tabla 4 se presentan los diferentes protocolos de obtención de PRP según distintos autores y sistemas.

Tabla 4: protocolos para la obtención de PRP según los diferentes sistemas y autores <sup>136</sup>.

	Centrifugado 1	Centrifugado 2
<b>Curasan kit</b>	10 min/2.400 rpm	15 min/3.600 rpm
<b>Smart PreP</b>	6 min/5.600 rpm	6 min/2.400 rpm
<b>Friadent- Schütze</b>	10 min/2.400 rpm	15 min/3.600 rpm
<b>PCCS System</b>	3,45 min/3.000 rpm	13 min/3.000 rpm
<b>PRGF</b>	7 min/1.400 rpm	

Lo calcularemos dividiendo el recuento plaquetario final por el recuento inicial. Según Marx <sup>114</sup>, un buen PRP es aquel cuyo concentrado de plaquetas sea 4 veces mayor que el recuento inicial, unas  $10^6$  plaquetas/ $\mu$ L. Si no se obtiene esta cantidad se debe a que se encuentra diluido en el plasma. Concentraciones menores no van a mejorar la regeneración y las mayores no se ha demostrado que funcionen.

Se ha comprobado que el número final de plaquetas depende del sistema usado para recogerlas y del volumen de plasma final sobre el que están suspendidas. Se debe relacionar el número absoluto de plaquetas en el volumen sanguíneo, con el número absoluto de plaquetas en el preparado. Según la cantidad de plasma del preparado las plaquetas estarán más o menos diluidas <sup>140,141</sup>.

Junto al aumento del número de plaquetas también encontraremos un mayor concentrado de FC. Lo que no sabemos es si estarán disponibles en los momentos críticos o si se habrán perdido durante la manipulación del preparado (135). Según el método utilizado el contenido de FC puede variar considerablemente. Lo importante será ver si estas diferencias tienen repercusiones clínicas. Weibrich y cols <sup>143</sup> estudiaron distintos métodos de obtención de PRP, obtuvieron las siguientes diferencias en cuanto a la concentración de FC: la cantidad de TGF en el PRP varía de 73,3 ng/ml (Anitua PRGF), y 95,02 ng/ml (Curasan) a 289,5 (PCCS). También encuentra variaciones muy diversas en cuanto al PDGF-AB del PRP, 47,0 ng/ml (Anitua), 156,7 (PCCS) y 233,7 (Curasan).

En la tabla 5 que se expone a continuación se observa la concentración de plaquetas y factores de crecimiento según diferentes métodos de obtención.

La eficacia de los factores de crecimiento dependerá de la dosis, de la distribución espacial y de la secuencia temporal de los FC disponibles.

**Tabla 5. Concentración de plaquetas, contenido en leucocitos y factores de crecimiento con diferentes sistemas de obtención <sup>144</sup>.**

	Plaquetas (P/ $\mu$ L)	Leucocitos (L/ $\mu$ L)	PDGF-AB (ng/mL)	TGF $\beta$ -1 (ng/mL)	IGF-1 (ng/mL)
<b><i>Blood Bank</i></b>	1.434.300	160	133.9	268.65	85,37
<b><i>Curasan Kit</i></b>	908.500	30.30	233.70	95.02	101
<b><i>Smart PreP</i></b>	1.227.890	19.261	208.85	77.2	91.4
<b><i>Friadent-Schülte</i></b>	1.440.500	21.699	251.6	198.8	72.8
<b><i>PCCS System</i></b>	2.232.500	15.300	251.8	467.1	91
<b><i>PRGF</i></b>	513.630	65	47	63	

### **2.3.3.6. Papel del PRP en la regeneración de tejidos**

Debido al papel crítico de la angiogénesis en la modulación de la cicatrización de heridas y teniendo en cuenta que los FC contenidos en las plaquetas son esenciales para la activación vascular, es bastante alentador especular si cualquiera de las formulaciones derivadas de las plaquetas que actualmente se utilizan en medicina regenerativa estimula la angiogénesis. Los estudios preclínicos utilizando ensayos *in vitro* y en modelos animales han sugerido una influencia positiva de las fracciones derivadas de las plaquetas en la angiogénesis <sup>145</sup>. Después de iniciarse la fase inflamatoria en la reparación tisular se requiere de la angiogénesis como un proceso que modula la activación, proliferación y migración de las células endoteliales para establecer nuevos vasos sanguíneos a partir de la vasculatura preexistente <sup>145,146</sup>. Los gránulos alfa de las plaquetas son un reservorio de factores biológicos con respuestas angiogénicas, por lo tanto la liberación de estos factores angiogénicos de las plaquetas es crucial en la regeneración de tejidos y la cicatrización de heridas <sup>145</sup>.

Se ha comprobado en estudios *in vitro*, que el PRP aumentó la actividad de los fibroblastos humanos, macrófagos y células endoteliales, lo que puede explicar en parte, como el PRP induce la regeneración dérmica y cicatrización de heridas <sup>147</sup>.

La cicatrización de heridas implica el reclutamiento de células en el sitio de la herida que ayuden a eliminar detritus, tales como macrófagos, células madre mesenquimales, fibroblastos; al mismo tiempo, las plaquetas secretan factores que promueven el proceso de curación de la herida <sup>147</sup>.

TGF- $\beta$  es un potente regulador de la síntesis de matriz extracelular ya que aumenta la expresión del gen de la fibronectina y el colágeno, inhibe la degradación del colágeno e inhibe diversos inhibidores de las metaloproteinasas. Esto conduce a un

refuerzo de la matriz extracelular, la proliferación de fibroblastos y la síntesis y acumulación de colágeno, procesos esenciales para la cicatrización de heridas <sup>147,148</sup>. En este sentido, He y cols. <sup>149</sup> investigaron los cambios dinámicos de la matriz extracelular en cuanto a niveles de metaloproteinasas 1 y 9 (MMP-1 y MMP-9) y de inhibidor tisular de la metaloproteinasa-1 (TIMP-1). Teniendo en cuenta que la relación de MMP-9 / TIMP-1 es un predictor de mala cicatrización en úlceras dérmicas refractarias en pacientes diabéticos, los autores concluyen que la aplicación tópica de PRP podría corregir el desequilibrio proteolítico de estas úlceras por la disminución de la concentración de MMPs y el aumento de las TIMPs en el tejido de granulación <sup>149</sup>.

#### **2.3.3.7. Efectos del PRP en la reducción del dolor**

Diversos estudios han demostrado que el complejo coctel de factores contenidos en las plaquetas están implicados en muchos de los pasos necesarios para la promoción de tejido/ reparación de heridas, reducir el dolor y promover la regeneración axonal <sup>147</sup>.

El daño tisular, inflamación, o lesiones en el sistema nervioso pueden provocar un dolor crónico neuropático caracterizado por aumento de la sensibilidad a los estímulos dolorosos (hiperalgesia), la percepción de estímulos inocuos como dolorosos (alodinia) y dolor espontáneo <sup>147,150</sup>. El dolor neuropático es el dolor generado por la hiperactividad de las neuronas nociceptivas que puede ser provocada por un trauma y que persiste mucho después de iniciado el proceso de curación de la herida. El dolor neuropático se desarrolla como consecuencia de una compleja cascada de eventos que involucran muchos tipos diferentes de células, incluidas las plaquetas, mastocitos, neutrófilos, macrófagos y linfocitos T, así como células inflamatorias <sup>147,151</sup>.

La primera respuesta a un trauma es la inflamación, iniciando un dolor neuropático después de una serie de eventos que causan hiperexcitabilidad de las neuronas nociceptivas. Una vez eliminada la inflamación y se repara el tejido dañado el dolor neuropático se elimina. Sin embargo, incluso si se inicia la etapa de regeneración de tejidos en la reparación de las heridas el dolor neuropático puede persistir si los axones lesionados de las neuronas nociceptivas permanecen crónicamente inflamados provocando en las neuronas nociceptivas la despolarización, hiperexcitabilidad y generando una actividad ectópica espontánea. La base del dolor neuropático es debida a que la lesión nerviosa induce la hiperexcitabilidad de las neuronas nociceptivas como resultado de los cambios en su potencial de membrana, convirtiéndose en despolarizada, lo que disminuye su umbral de activación y aumentando su excitabilidad <sup>147</sup>.

La inflamación inducida por la liberación de factores proinflamatorias por diferentes tipos de células es un primer paso importante en la vía que conduce a la hiperexcitabilidad de las neuronas nociceptivas. Por lo tanto, mediante el bloqueo de cada desencadenante de la inflamación y la hiperexcitabilidad, es posible prevenir el desarrollo y mantenimiento de la inflamación, hiperexcitabilidad, y el dolor neuropático <sup>147</sup>.

El único método que permite eliminar definitivamente el dolor neuropático es la regeneración de los nervios que causan el dolor para que reinerven de manera eficaz sus tejidos originales <sup>147,152,153</sup>, por lo tanto, la técnica óptima para eliminación permanente del dolor neuropático es una técnica que favorezca la regeneración axonal e induzca la reinervación <sup>147</sup>.

El PRP contiene células madre mesenquimales (MSCs) multipotentes, estas pueden ser responsables de los beneficios ejercidos por la aplicación de PRP. En una

serie de experimentos, las MSCs aisladas aplicadas al extremo de los nervios periféricos seccionados hicieron promover la regeneración axonal <sup>154</sup>. La promoción de la regeneración axonal puede ser consecuencia de la secreción de MSCs, factor de crecimiento nervioso (NGF), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF) y la promoción de la angiogénesis <sup>147,155,156</sup>. Por lo tanto, mediante la promoción de la regeneración axonal y la restauración de las propiedades biofísicas normales del axón, las MSCs contenidas en el PRP puede ser una parte importante del mecanismo por el cual el PRP conduce a la reducción del dolor neuropático <sup>147,157</sup>.

Se ha comprobado que el PRP promueve la regeneración axonal en modelos animales <sup>147,158-163</sup>. En cultivo de tejidos, el PRP se muestra con capacidad para promover el crecimiento del axón en tejido de la médula espinal y se asocia con los factores liberados IGF-1 y VEGF <sup>158,164</sup>.

Las plaquetas y los neutrófilos juegan un papel importante en la eliminación del dolor neuropático, al liberarse por parte de las plaquetas IL-17 se aumenta significativamente el número de neutrófilos que infiltran el sitio de la herida mejorando la respuesta inflamatoria hasta la resolución completa y finalizar el proceso de cicatrización, lo que conduce al restablecimiento de las propiedades biofísicas a nivel nociceptivo de los axones y la eliminación de su hiperexcitabilidad y, por tanto, el dolor neuropático <sup>147,165</sup>.

#### **2.3.3.8. Actividad biocida del PRP**

Se han realizado múltiples estudios para analizar la utilidad biocida del PRP, tanto in vivo como in vitro. Bielecki y cols <sup>166</sup> realizaron un estudio in vitro para determinar el efecto antibacteriano de este producto, se determinó que el PRP inhibió el

crecimiento de *Staphylococcus Aureus* y *Scherichia coli*. No hubo actividad contra *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, y *Pseudomona aeruginosa*. Por otra parte, el PRP parecía inducir el crecimiento in vitro de *Pseudomona aeruginosa*, lo que sugiere que puede causar una exacerbación de las infecciones con estos organismos. Los autores concluyen que la combinación de las propiedades inductivas y antimicrobianas del PRP puede mejorar el tratamiento de la cicatrización en heridas infectadas.

Mariani y Cols.<sup>167</sup> presentaron los resultados de su estudio donde investigan la actividad microbicida del PRP frente a cinco de las cepas más importantes que intervienen en las infecciones nosocomiales (*Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Streptococcus faecalis*). También se determinaron las proteínas microbicidas liberadas de las plaquetas en el PRP activado. Según los autores, el PRP podría suministrar una protección temprana contra contaminaciones bacterianas durante intervenciones quirúrgicas debido a que la actividad inhibidora es ya evidente a partir de la primera hora de tratamiento, lo que sugiere que las moléculas fisiológicas suministradas por el PRP pueden ser importantes para la activación de la respuesta inmune innata.

En el estudio de Li y Cols.<sup>168</sup> plantearon la posibilidad de que el PRP podría ser una alternativa avanzada a los tratamientos antibióticos convencionales en la prevención de infecciones asociadas a implantes, de manera que el uso del PRP puede ser ventajoso en comparación con los tratamientos antibióticos convencionales, ya que éste es menos probable para inducir resistencias que los antibióticos y las propiedades antimicrobianas y de curación pueden tener un efecto sinérgico sobre la prevención de infecciones. Es bien conocido que los agentes patógenos y células humanas están compitiendo por la superficie de los implantes, y las propiedades del PRP de promover la curación podría mejorar la unión celular humana reduciendo así las probabilidades de infección. En este



estudio se seleccionaron varias cepas clínicas de bacterias que se encuentran comúnmente en las infecciones ortopédicas, examinando si el PRP tiene propiedades antimicrobianas in vitro contra estas bacterias. Se encontraron resultados antimicrobianos consistentes, logrando fuerte propiedades antimicrobianas in vitro contra bacterias como *Staphylococcus Aureus* meticilina sensible y resistente a la meticilina, *Streptococcus* del grupo A y *Neisseria gonorrhoeae*. Por lo tanto, el uso de PRP puede tener cierto potencial para prevenir la infección y para reducir la necesidad de tratamiento post-operatorio costoso de las infecciones asociadas a implantes.

Drago y cols <sup>169</sup> evaluaron el efecto antimicrobiano del PRP contra los microorganismos de la cavidad oral tales como *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus agalactiae*, *Cándida albicans*, *Streptococcus oralis* y *Pseudomonas aeruginosa*. El PRP inhibió el crecimiento de *Enterococcus faecalis*, *Cándida albicans*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus oralis*, pero no de *Pseudomona aeruginosa*. Concluyeron en su estudio con que el PRP es una sustancia potencialmente útil en la lucha contra las infecciones postoperatorias, pudiendo representar una valiosa propiedad en complemento a la mejora de la regeneración de tejidos.

#### **2.3.3.9. Riesgos con el uso de PRP**

Dada su naturaleza autóloga el PRP es un producto seguro, que carece por definición del riesgo potencial de transmisión de enfermedades implícito en el uso de material sanguíneo de donantes <sup>26</sup>.

En la activación del PRP se puede utilizar trombina bovina, la cual ha sido relacionada con el desarrollo de anticuerpos contra el factor V y XI dando lugar a la aparición de coagulopatías mortales. Los sistemas que emplean trombina bovina como

activador están desapareciendo para evitar el desarrollo de coagulopatías o hipersensibilidad secundarias.

Con respecto al potencial oncogénico del PRP, no hay evidencia disponible que lo apoye. Los factores de crecimiento, tras su unión a receptores de membrana, activan cascadas de señalización intracelular que promueven una expresión génica normal, regulada por diferentes mecanismos de control. Además, hasta el momento actual no se ha demostrado un efecto sistémico de los factores de crecimiento liberados tras la aplicación local del PRP <sup>26</sup>.

Es cierto que algunos autores afirman que existen empíricamente ciertos riesgos como la carcinogénesis, la capacidad de metástasis y la transmisión de patógenos, pero no existe ningún caso descrito y los concentrados terapéuticos de factores de crecimiento como el PRP podrían actuar como promotores, no como iniciadores en la carcinogénesis, necesitando este fenómeno de dosis mayores y más continuada en el tiempo que las que se aplican en la terapéutica convencional <sup>170</sup>.

Un punto a tener en cuenta en la reparación de tejidos es cuando la cantidad de factores de crecimiento genera un efecto catabólico en vez de un efecto anabólico como correspondería. Esta complicación no se puede evitar en las técnicas actuales porque el efecto terapéutico no se puede controlar. Así el uso de factores angiogénicos, al promover la neovascularización y el crecimiento de nuevos vasos produce un exceso de actividad anabólica dando como resultado una artrofibrosis. Del mismo modo la aparición de osificación heterotópica es debida a una diferenciación aberrante de condrocitos y fibroblastos <sup>171</sup>.

Recientemente ha podido demostrarse que ciertos factores de crecimiento favorecen la proliferación o activación (in situ y periférica) de progenitores

osteogénicos circulantes o “COP cells”<sup>172</sup>. Estas células indiferenciadas, de reciente descripción, son conocidos progenitores osteocondrales que están definitivamente implicados en la neoformación ósea extraesquelética, como la que ocurre en las osificaciones heterotópicas posartroplastia o en las calcificaciones valvulares<sup>173</sup>. Podría pensarse, pues, que en presencia de un microambiente adecuado en la herida tisular, las concentraciones exageradas de factores de crecimiento contenidas en el PRP puedan favorecer un reclutamiento y activación supranormal de COP cells en el área de la infiltración con capacidad para desarrollar una calcificación u osificación heterotópica en partes blandas o a nivel intraarticular. Hasta la fecha, estas reflexiones no dejan de ser meras especulaciones ya que tampoco se han comunicado de este tipo en la literatura<sup>174</sup>.

En cuanto a las condiciones de obtención, La Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios emitió un informe en mayo de 2013 donde se han 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 citado documento se reconoce el PRP como medicamento de uso humano<sup>175</sup>.

#### **2.3.3.10. Antecedentes y Estado actual del problema. Estudios clínicos que valoran la regeneración de tejidos con la aplicación de PRP.**

La primera aplicación clínica de la que se tiene constancia en la literatura data de los años 80 en úlceras cutáneas crónicas de las piernas<sup>176</sup>. Después de obtener un gel adhesivo a partir de fibrina autógena que, al aplicarse sobre las heridas, estimulaba la formación de tejido conectivo y aumentaba la vascularización. A partir de este hecho se

descubrió que este preparado se caracterizaba por altas concentraciones de factores de crecimiento, y se asoció a estas proteínas el potencial regenerativo del gel. A partir de los años 90 se ha experimentado con diferentes preparados plaquetarios, de aplicación tópica en solución, gel o mediante inyección.

La mayoría de los trabajos publicados son casos puntuales o series, pero también podemos encontrar estudios piloto y ensayos clínicos. La evaluación del potencial beneficio del PRP en úlceras a partir de la evidencia disponible en la actualidad es complicada. Entre estos trabajos existe una gran variabilidad del tamaño y etiología de las lesiones, al igual que de la metodología de obtención y aplicación del PRP. Los ensayos clínicos realizados, en mayor o menor medida adolecen de los mismos inconvenientes anteriormente descritos, lo que imposibilita extraer conclusiones firmes de los metaanálisis realizados. Destaca el pequeño número de pacientes y heterogeneidad de etiologías incluidas <sup>6</sup>.

Para mostrar de la forma más sencilla el estado actual clínico del PRP en úlceras, se agruparan los estudios en función del tipo de úlcera, diferenciando estudios de úlceras de pie diabético, de las úlceras vasculares de miembros inferiores, de las úlceras por presión y las producidas por otra etiología o los que incluyen el análisis del PRP en úlceras de varias etiologías.

#### *2.3.3.10.1. Estudios de PRP en pacientes con úlceras de etiología vascular en el miembro inferior.*

- **Reutter y Cols. (1999).** Realizaron un estudio doble ciego y controlado con placebo para probar si la aplicación de plasma autólogo rico en factores de crecimiento mejoraba la curación de úlceras venosa así como la microangiopatía circundante del

área de la úlcera. Trataron 15 pacientes con una media de edad de 71 años y duración media de la úlcera de 1089 días en el grupo tratado con PRP, y 66 años y 732 días en el grupo control. La duración de la terapia fue de 91 días en el grupo PRP y de 154 días en el grupo control. El tratamiento con PRP no reveló ninguna ventaja clínica significativa, sin embargo si que sugirió cambios neoangiogénicos tras documentarse un aumento no significativo de la densidad capilar en el límite de la úlcera en el grupo tratado con PRP, así como un aumento en la presión transcutánea de oxígeno, en contraste con pocos cambios en ambos parámetros en el grupo control <sup>177</sup>.

- **Senet y Cols. (2003).** Analizan la utilidad del PRP mediante un ensayo clínico aleatorizado en 15 pacientes con úlcera de etiología venosa que distribuyeron aleatoriamente y al que le aplican PRP o placebo durante 12 semanas. El porcentaje de cicatrización en el grupo PRP fue de 26,2 frente a 15,2 en el grupo placebo, sin embargo dichas diferencias no fueron significativas. Tampoco se encontraron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la aparición de efectos adversos <sup>178</sup>.

- **Rivellini y Cols. (2004).** Estudiaron 30 pacientes con lesiones tróficas de origen diferente, tanto arterial como venoso, ninguna de las úlceras de los pacientes habían respondido a otros tratamiento locales. Los pacientes fueron tratados una vez por semana con PRP, dejándolo en el lugar de la herida durante 3 días. Después de unos meses de tratamiento se observó una clara mejoría en el 90% de los casos. La herida sanó completamente en 20% de estos casos y en el 70% restante hubo una reducción marcada en la extensión y la profundidad <sup>179</sup>.

- **Montón Echeverría y Cols. (2007).** Realizaron un análisis retrospectivo de la práctica clínica durante 30 meses tratando a 151 pacientes con heridas crónicas de más de 6 meses de evolución, de las que 60 eran vasculares, 32 pies diabéticos, 18 radiopatías, 24 pérdidas de sustancia postraumáticas y 17 casos complejos y

reconstrucción mamaria. Se produjo una reducción importante en magnitud, aunque no significativa, del tiempo transcurrido hasta la curación en los pacientes tratados mediante PRP frente al tiempo previo. Esta mejoría se logró en el 72% de los pacientes mediante una única aplicación de PRP <sup>8</sup>.

- **Anitua y Cols. (2008).** Incluyen 14 úlceras en su estudio. La distribución de la etiología de las lesiones es: úlcera venosa (64%), úlceras por presión (29%) y otras (7%). La asignación del tratamiento, tópico con PRP o tratamiento convencional (limpieza, desbridamiento y gasas bañadas e suero salino). La variable resultado fue la superficie cicatrizada que, a las 8 semanas, fue significativamente superior en los pacientes tratados con PRP ( $72,94 \pm 22,25\%$ ) a la del grupo control ( $21,48 \pm 33,56\%$ ), ( $p < 0,05$ ) <sup>180</sup>.

- **Martínez Zapata y Cols. (2009).** Realizan una revisión sistemática para evaluar la eficacia y seguridad del PRP mediante una búsqueda en bases de datos electrónicas, incluyendo ensayos clínicos controlados aleatorios (ECA) en pacientes adultos y evaluando la calidad metodológica. Los resultados principales fueron regeneración y seguridad. Seis ECA evaluaron la epitelización de la piel completa en las úlceras, el riesgo relativo fue de 1,40 (95% CI, 0,85 a 2,31). Según los autores, en el proceso de curación de las úlceras crónicas de la piel, los resultados no son concluyentes. Existen pocos datos sobre la seguridad del PRP. Hay varias limitaciones metodológicas y, en consecuencia, la investigación futura debe centrarse en ECA fuerte y bien diseñado <sup>181</sup>.

- **Frykberg y Cols. (2010).** En su estudio prospectivo de 49 pacientes con 65 úlceras de distinta etiología, 21 úlceras por presión, 16 úlceras venosas y 14 úlceras de pie diabético, obtuvieron buena respuesta en 63 de las 65 úlceras estudiadas tras la aplicación de PRP. Tras una media de 2,8 semanas y 3,2 sesiones de tratamiento con

PRP, se observó reducciones en el volumen y área del  $56,1 \pm 35,2$  y del  $43,1 \pm 32,4\%$ , respectivamente <sup>182</sup>.

- **de León y Cols. (2011).** Estudian 285 úlceras en 200 pacientes, la etiología incluye diabetes, presión, úlcera venosa, dehiscencia, quirúrgica, y otras. Se encontró respuesta positiva en el 96,5% de las úlceras dentro de 2,2 semanas, con una media de tratamientos de 2,8. En 86,3% de las úlceras se obtuvo un 47,5% de reducción del área y 90,5% de ellas se observó una reducción del volumen del 63,6%. La magnitud de la respuesta fue constantemente alta, con resultados estadísticamente significativos para todos los subgrupos <sup>183</sup>.

- **Carter y Cols. (2011).** Realizan un estudio analítico y prospectivo sobre el registro de la atención de 200 pacientes con 285 heridas de distinta etiología, entre las que se incluyen heridas vasculares y agudas de etiología quirúrgica, donde cada herida se establece como su propio control en comparación al tratamiento posterior con PRP. Establecen como variable de resultado principal la mejoría clínica considerada como una reducción superior al 50% en el área de la herida, encontrando que el 11% de los pacientes logran esta mejoría antes del tratamiento con PRP, frente al 39% que lo consiguen tras el tratamiento con PRP, con un porcentaje medio de reducción del área del 33% y un 44% en profundidad <sup>184</sup>.

- **Carter y Col (2011).** Revisan la literatura publicada entre Marzo de 2001 y Marzo de 2011 de los ensayos de intervención humana sobre tratamiento con PRP, realizando una revisión y metaanálisis. Analizan los ensayos clínicos aleatorios (ECA) y los estudios comparativos de pacientes con úlcera o herida cutánea aguda que han sido tratados con PRP autólogo activado. Se revisaron un total de 24 trabajos, fueron excluidos estudios que incluían heridas por quemadura, tratamiento dental o mandibular, fracturas óseas, tratamiento ortopédico o cirugía plástica. También se

excluyeron los estudios que utilizan procedimientos alogénicos/homólogos de PRP, lisados o técnicas de liofilización para producir PRP. De 4 ECA, 2 fueron estadísticamente significativos para el resultado de curación completa de la herida en el grupo de PRP en comparación con solución salina. Un estudio comparativo (no ECA) también encontró resultados significativos en la curación completa de la herida en el grupo PRP frente al grupo donde no se realizó ningún tratamiento tópico. Dos estudios ECA evaluaron el tiempo hasta la cicatrización completa y ambos mostraron mejoras significativas en los sujetos tratados con PRP frente al grupo en que se utilizaba solución salina para el tratamiento de la herida. Dos estudios ECA mostraron diferencias estadísticamente significativas en la reducción de la superficie de la herida en comparación con gasa salina o sin control. Un estudio comparativo (no ECA) mostró reducciones significativas en la reducción del área y el volumen de las heridas tratadas con PRP frente al grupo control. Un estudio ECA evaluó las puntuaciones según escala analógica visual (EAV) a las 3 semanas y encontró que heridas tratadas con PRP tuvieron significativamente menos dolor que los pacientes del grupo control tratados con gasa con vaselina. Además los eventos adversos fueron consistentemente más bajos para los grupos de PRP que para los controles donde se utilizó para el tratamiento local de la herida gasa humedecida en suero salino o ningún tratamiento. Después de analizar 1 ECA y 4 estudios comparativos, concluyen que la a tasa de infección fue significativamente mayor en todos los grupos control excepto en un estudio ECA<sup>185</sup>.

- **Martínez Zapata y Cols (2012).** Para determinar si el PRP autólogo promueve la cicatrización de las úlceras realizan una búsqueda en Cochrane, Ovid Medline, Ovid Embase, Ebsco Cinalh y Plataforma internacional de ensayos clínicos (ICTRP). Se incluyeron ensayos controlados aleatorios (ECA) que compararon el PRP autólogo con tratamientos placebo u otra alternativa. Dos revisores de forma independiente evaluaron



cada estudio según los criterios de inclusión, extrajeron todos los datos y evaluaron el riesgo de sesgo para todos los ensayos incluidos. Se calculó el riesgo relativo (RR), o la diferencia de medias (DM). Se incluyeron 9 ECA, con un total de 325 participantes de los cuales 44% eran mujeres. La mediana del número de participantes por ECA fue 26. Cuatro ECA estudiaron personas con úlceras de etiología mixta (pacientes con úlceras de más de una etiología y otros que tenían úlceras de varias etiologías), tres ECA estudiaron pacientes con úlceras venosas y dos ECA se realizó en pacientes con úlceras de pie diabético. La duración media del tratamiento fue de 12 semanas (rango de 8 a 40 semanas).

Los autores concluyen con que actualmente no hay evidencias para sugerir que el PRP autólogo de valor para el tratamiento de las úlceras. Sin embargo, la evidencia actual se basa en un pequeño número de ECA, la mayoría de los cuales está en riesgo de sesgo alto o confuso <sup>186</sup>.

- **Sarvajnamurthy y Cols (2013)**. realizaron un estudio en un total de 12 pacientes con 17 úlceras de etiología venosa, estas fueron tratadas con PRP durante seis semanas. La duración media de las úlceras era de 5,35 meses. Poseían un área media inicial de 10,08 cm<sup>2</sup> y un volumen medio inicial de 6,45 cm<sup>3</sup>. La mejoría media porcentual en el área y el volumen fue de 94,7% y 95,6%, respectivamente. No hubo efectos secundarios y hubo una disminución en el dolor asociado a las úlceras <sup>187</sup>.

- **Bogdan y Tolstov (2014)**. Consideraron que el método de tratar a pacientes con úlceras venosas tróficas mediante PRP mejora la eficacia del tratamiento estándar y logra un efecto social significativo en el periodo postoperatorio. Se estudiaron 58 pacientes con úlceras venosas tróficas pequeñas, evaluando la efectividad clínica del tratamiento por medio de los cambios en la dinámica del área ulcerada, tasa de epitelización, tiempo de epitelización completa de la úlcera y duración de la

hospitalización después de la corrección quirúrgica de la causa de la úlcera. La tasa de epitelización en el grupo tratado con PRP fue mayor que el grupo control, con una media de 0,09 (0,04; 0,2) cm<sup>2</sup> por día; significativa reducción del área de la úlcera a favor del grupo en que se aplica PRP ( $p < 0,05$ ) y tiempo de epitelización completa ( $p < 0,05$ ), así como un aumento de la calidad de vida según cuestionario EIVIQ de 12,5 puntos ( $p < 0,05$ )<sup>188</sup>.

- **Salazar Álvarez y Cols. (2014).** Seleccionaron 11 pacientes con úlceras en miembros inferiores de más de 6 semanas de evolución, de etiología no isquémica. Se administró inyección subcutánea perilesional y aplicación tópica en 4 sesiones separadas por una semana. Se suministraron cuestionarios de calidad de vida (SF-12), se registró el dolor (escala visual analógica) y el perímetro de la úlcera antes y después de su aplicación. La mediana de edad fue de 79 años y el tiempo medio de evolución de la úlcera de 17 meses (6-108 meses). Se evidenció una disminución estadísticamente significativa del dolor ( $p < 0,05$ ) y mejoría mental y física de la calidad de vida ( $p < 0,05$ ). Se evidenció una reducción media en el área de las úlceras del 60%, con 5 cicatrizaciones completas. No se registraron efectos adversos<sup>189</sup>.

- **Yilmaz y Cols. (2014).** Presentaron los resultados de una serie de casos de 19 pacientes que recibieron aplicación de plasma rico en plaquetas en el tratamiento de pacientes con úlceras venosas en la pierna. Trataron a 16 hombres y tres mujeres con una media de edad de  $38,55 \pm 16,46$  años, con un seguimiento semanal. Los pacientes recibieron 5 mL de plasma rico en plaquetas para cada 5 cm<sup>2</sup> de la superficie de la úlcera, además de inyectarlo a 1-2 mm de profundidad. Se obtuvo curación completa en 18 de 19 pacientes (94,7%) en una media de  $4,82 \pm 2,16$  semanas. Hubo además reducciones significativas en el área y el volumen de la herida<sup>190</sup>.

- **De Pascale y Cols. (2014)** Tras realizar una búsqueda bibliográfica informatizada, seleccionaron los ensayos clínicos y estudios publicados en los últimos cinco años (2010-2014), considerando solamente los ensayos registrados que estaban en fase 3 y 4 de estudio con más de 100 pacientes. Se reportaron beneficios positivos del tratamiento con PRP en úlceras diabéticas neuropáticas y en las úlceras por presión. En este contexto, el PRP también produjo mejoría en el tratamiento de heridas crónicas de pacientes diabéticos usándolo en combinación con injertos de piel. Sin embargo un metaanálisis de 6 estudios controlados y aleatorizados de 227 pacientes con úlceras crónicas no mostró diferencias significativas entre los grupos experimental y control para la variable de resultado “epitelización completa”. Además, 2 estudios con un total de 38 pacientes con heridas quirúrgicas no encontraron diferencias entre los grupos de tratamiento. Concluyeron que existe una falta de evidencia fuerte a favor de la utilización de PRP en el tratamiento de las úlceras graves y grandes, necesitándose más estudios para determinar si algún subgrupo de pacientes podría beneficiarse <sup>191</sup>.

- **Waniczek y Cols. (2015)** presentaron un estudio en el que analizan un método original de aplicación de plasma rico en plaquetas autólogo a través de la creación de una "cámara biológica" que contiene un concentrado de factores de crecimiento. Esta terapia se aplicó en 10 pacientes con ulcera en miembro inferior de origen venoso que habían sido tratados de forma ineficaz durante más de un año en el ámbito ambulatorio. Después de la aplicación de plasma rico en plaquetas, el tratamiento adicional se continuó con el uso de la terapia húmeda y la terapia de compresión. Se logró la curación completa dentro de 4-10 semanas desde el comienzo de la administración del producto en todos los pacientes <sup>192</sup>.

2.3.3.10.2. *Estudios de PRP en el tratamiento de pacientes con úlceras de etiología diabética, por presión u otra etiología.*

- **Driver y Cols. (2006).** Realizaron un estudio sobre 129 pacientes para evaluar la seguridad y eficacia del PRP en el tratamiento de las úlceras del pie diabético. 129 pacientes fueron evaluados asignándolos al azar en dos grupos, uno con atención estándar y otro con tratamiento de PRP evaluándolos quincenalmente durante 12 semanas o hasta la curación.. 13 de 19 pacientes (68,4%) del grupo en que se aplica PRP y 9 de 21 (42,9%) del grupo control curaron completamente. El tiempo de curación también fue significativamente diferente entre los grupos a favor del grupo en que se aplica PRP ( $p \leq 0,0177$ ). No se aportaron eventos adversos graves relacionados con el tratamiento de PRP <sup>193</sup>.

- **Knox y Cols. (2006).** Realizaron un estudio a un paciente con una úlcera por presión en el sacro que durante 27 semanas recibe múltiples terapias con resultado negativo. Tras aplicarse PRP en la semana 14 se observó una reducción del 26% de profundidad <sup>194</sup>.

- **Yuan y Cols. (2007).** En un estudio piloto para evaluar la seguridad y eficacia del PRP autólogo trataron a 13 pacientes diabéticos con lesiones refractarias. El 69,2% de las úlceras fueron curadas, observándose un área de reducción muy significativa en las primeras 3 semanas. No se observaron reacciones adversas <sup>195</sup>.

- **Yuan y Cols. (2009)** estudiaron el mecanismo del PRP en el tratamiento de úlceras dérmicas refractarias en diabéticos. Se detectaron los niveles de proteína PDGF, VEGF, IGF-1 y TGF $\beta_1$  en el tejido de granulación a los 0, 3, 6, 9 y 15 días, así como las dimensiones del área de la úlcera. Las áreas de las úlceras se redujeron entre el tercer y quince día después del tratamiento con PRP, las concentraciones de estos factores de

crecimiento en el tejido de granulación aumentaron después de tres días de tratamiento. La concentración de VEGF aumentó 2,1 veces, IGF-1 aumentó 1,95 veces, EGF aumentó 1,75 veces, PDGF aumentó 1,89 veces y TGFβ<sub>1</sub> aumentó 1,67 veces. Por lo que la expresión de múltiples factores de crecimiento incrementados en el tejido de granulación de estas úlceras después del tratamiento de PRP puede ser uno de los mecanismos que explicaría el uso de esta técnica en la cura de la ulcera dérmica refractaria diabética <sup>196</sup>.

- **Villela y Santos (2010).** En un metaanálisis según la Recomendación Cochrane, realizaron una revisión sistemática de los estudios publicados hasta Julio de 2008 con el objetivo de recoger evidencias sobre el uso del PRP en úlceras de etiología diabética. Los resultados del metaanálisis mostraron que el PRP favorece el proceso de curación (IC del 95%) <sup>197</sup>.

- **He y Cols. (2010).** Para determinar la efectividad y seguridad del gel autólogo rico en plaquetas en las úlceras del pie diabético realizaron búsquedas en Cochrane, Medline, Embase, Ovid, CNKI, VIP chino y WANFANG. La revisión sistemática se realizó por la Colaboración Cochrane. Se incluyeron cuatro ensayos con 216 pacientes. El resultado del metaanálisis mostró que la tasa de curación mediante gel de plaquetas en la úlcera del pie diabético fue superior a la atención estándar ( $p = 0,0003$ ). El periodo de cicatrización de la úlcera de pie diabético con PRP fue superior a la atención estándar ( $p < 0,001$ ). Ningún paciente tuvo complicaciones en estos ensayos <sup>198</sup>.

- **Saad y Cols. (2011).** Compararon el efecto del PRP, con el del Plasma Pobre en Plaquetas (PPP). Los resultados mostraron que la curación en el grupo PRP fue significativamente más rápida ( $p < 0.005$ ), por lo que el PRP mejora la cicatrización de las úlceras de pie diabético. <sup>199</sup>.

- **Sell y Cols. (2011).** Presentaron un estudio en tres pacientes con lesión en médula espinal que presentan úlceras por presión grado IV. Tras aplicación de PRP las úlceras presentaron mejoría en cuanto a presencia de tejido de granulación y vascularidad, reduciéndose el área y el volumen de las úlceras <sup>200</sup>.
- **Kim y Cols. (2011).** Analizaron 12 pacientes con 1 o 2 tratamientos de PRP en úlceras superficiales después de infección de herpes Zóster. Las heridas que fueron tratadas con PRP curaron rápidamente en comparación con las heridas no tratadas <sup>201</sup>.
- **Rappi, L.M. (2011).** Estudiaron 20 casos de pacientes lesionados de médula espinal con úlceras que no cicatrizan. Después de una media de 4 tratamientos durante 3-4 semanas, las heridas se cerraron en un promedio de 47,9% en área y 56% de volumen <sup>202</sup>.
- **Enríquez y Cols. (2012).** Realizaron un estudio prospectivo con 24 pacientes diabéticos (13 hombres y 11 mujeres) con úlceras isquémicas no susceptibles de revascularización. Se estableció una diferencia entre el área pretratamiento en mm<sup>2</sup> y el área final de la úlcera postratamiento de 8 semanas. Las úlceras mostraron mejoría en el 79,2% (n = 19) (p = 0,000) con una curación media del 70% del diámetro de las úlceras, en el 20,8% (n = 5) restante no hubo reducción en el tamaño de la úlcera <sup>203</sup>.
- **Tzeng y Cols. (2013).** Trataron a ocho pacientes diabéticos con edades comprendidas entre 25 y 82 años con nueve úlceras en extremidades inferiores con un área media de 50 cm<sup>2</sup> (rango 15-150 cm<sup>2</sup>). En un periodo de seguimiento de 2 a 19 meses no se evidenció ninguna recurrencia de las úlceras. En este estudio, la combinación de PRP autólogo y el injerto de piel ha probado ser beneficioso en las úlceras recalcitrantes de gran tamaño <sup>204</sup>.
- **Serra y Cols. (2013).** Durante 6 años trataron 26 pacientes sometidos a amputación transmetatarsal seguidos por aplicaciones de PRP autólogo una vez por semana y 32

pacientes habían experimentado amputación transmetatarsal como procedimiento único. La tasa de curación fue de 96,15% para el grupo de PRP y de 59,37% para el grupo control<sup>176</sup>.

- **Li y Cols. (2013).** Realizaron un estudio aleatorizado y controlado con 115 pacientes con úlceras cutáneas diabéticas que no habían respondido a tratamiento convencional. El grupo tratado con PRP obtuvo un 84,75% (50/59) de curación completa y 98,31% de mejora, mayor que el 68,97% (40/58) y 75,86%, respectivamente en grupo tratado con atención estándar ( $p = 0,026$ ). La duración media de la herida en los pacientes tratados con PRP fue de 36 días, frente a los 45 días de los pacientes tratados con cura estándar ( $p = 0,012$ )<sup>205</sup>.

- **Ramos y Cols. (2013).** Trataron a una paciente de 86 años con úlcera de grado III en el talón derecho con signos de no curación a pesar de terapia tópica durante un periodo de cuatro meses. Se realiza terapia tópica con PRP cada tres días durante ocho semanas. La úlcera cerró a los 54 días<sup>206</sup>.

- **Tashnizi y Cols. (2013)** Estudiaron seis pacientes con úlceras a nivel esternal tras cirugía del injerto de derivación de arterias coronarias. Tras desbridamiento y medición se aplica tópicamente PRP cada dos días. Las úlceras de cinco pacientes cerraron completamente y en la otra hubo una significativa reducción del tamaño<sup>207</sup>.

- **Kim y Cols. (2013).** Trataron a una mujer de 73 años con úlcera cutánea refractaria asociado al síndrome de Nicolau. Esta úlcera tras tratamiento convencional durante un mes no manifestó signos de curación. Después de 3 semanas de tratamiento con PRP la herida evolucionó favorablemente, con alivio considerable del dolor severo<sup>208</sup>.

- **Rallis y Cols. (2014).** En su estudio realizaron tratamiento a una mujer de 68 años de edad con úlceras cutáneas diagnosticada de dermatomiositis a nivel del codo de seis meses de duración y que está en tratamiento inmunosupresor. Se realizaron tres sesiones

de aplicación local (los días 3, 9 y 15) con PRP autólogo. Después de 21 días se observó la reepitelización de las úlceras, de manera que a los 30 días había curación completa

209 .

### 3. OBJETIVOS

---



## OBJETIVOS.

Aunque los resultados clínicos obtenidos con el empleo de Plasma Rico en Plaquetas parecen resultar alentadores, no existen sin embargo los suficientes estudios ni resultados concluyentes que nos permitan conocer las técnicas de elaboración y aplicación más apropiadas.

El presente trabajo tiene como propósito determinar si la aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en la úlcera venosa reduce el tiempo de cicatrización y mejora el dolor local asociado a esta patología, observando a la vez la posible aparición de reacciones adversas asociadas a esta técnica.

**El objetivo general** de la presente investigación ha sido *estudiar la eficacia y seguridad del plasma rico en plaquetas en el tratamiento local de la úlcera venosa.*

Este objetivo general ha sido desglosado en una serie de **objetivos específicos** que nos permiten sistematizar y responder a los distintos aspectos que plantea la investigación:

- I. *Conocer el efecto del Plasma Rico en Plaquetas en la cicatrización de úlceras venosas.*
  
- II. *Valorar el efecto del Plasma Rico en Plaquetas en cuanto a la reducción del dolor neuropático de las úlceras venosas.*

*III. Observar la aparición de efectos adversos tras la aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en úlceras venosas.*

**Un objetivo secundario** de nuestra investigación ha sido “*determinar si la cobertura mediante apósito de silicona proporciona un medio adecuado en la disponibilidad del Plasma Rico en Plaquetas en la úlcera*”.

## 4. HIPÓTESIS

---

## HIPOTESIS

Nuestra hipótesis se basa en que la presencia de PRP en la úlcera venosa acelera la regeneración de los tejidos locales mediante un mecanismo que reproduce las etapas fisiológicas de la reparación tisular. Suponemos además que la aplicación local de PRP en la úlcera venosa puede mejorar el dolor local de ésta y que además al ser un producto autólogo, manipulado en condiciones de máxima asepsia y con ciertas propiedades bactericidas, no aparecerán efectos adversos tras la aplicación.

Definimos nuestra hipótesis conceptual <sup>210</sup> de la siguiente manera:

- 1. La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en las úlceras de etiología venosa mejora la cicatrización y el dolor.***
- 2. La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en las úlceras de etiología venosa es una técnica segura, exenta de efectos secundarios.***

Se expondrán a continuación las hipótesis de investigación y estadísticas:

✓ ***Hipótesis de investigación (H<sub>1</sub>):***

En este apartado nos referimos al enunciado de las relaciones que esperamos obtener entre las variables <sup>211</sup>: cuando manipulamos la variable independiente con la aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en el lecho de la úlcera venosa se van a producir una serie de modificaciones sobre las variables dependientes (cicatrización, dolor y efectos secundarios). De manera que nuestras hipótesis de investigación serán:

- La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en úlceras de etiología venosa resulta más eficaz para reducir la superficie de la úlcera que la atención estándar de tratamiento local.
- La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en úlceras de etiología venosa resulta eficaz en la reducción del dolor neuropático.
- La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en úlceras de etiología venosa resulta ser una técnica segura, exenta de efectos secundarios.

✓ ***Hipótesis Nula ( $H_0$ ).***

Establecen que no hay relación entre las variables dependientes y las independientes<sup>211</sup>:

- La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en úlceras de etiología venosa no mejora la cicatrización con respecto a la atención estándar de tratamiento local.
- La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en úlceras de etiología venosa no resulta eficaz en la reducción del dolor neuropático.
- La aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en úlceras de etiología venosa produce más efectos secundarios que la atención estándar de tratamiento local.

Para ello vamos a calcular estadísticamente el valor de **p** (probabilidad de equivocarnos al rechazar la hipótesis nula). Para controlar la probabilidad de cometer un error tipo I (riesgo de rechazar la  $H_0$  siendo cierta) establecemos un nivel de significación estadística  $\alpha = 0,01$ , por tanto para poder rechazar la hipótesis nula el valor de **p** tiene que ser menor o igual que 0,01.

## 5.MATERIAL Y METODOLOGÍA

---

## MATERIAL Y METODOLOGÍA

### 5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio experimental ya que la principal ventaja de este tipo de experimentos radica en la confianza con que permiten inferir relaciones causales entre fenómenos. Los experimentos verdaderos constituyen el método más poderoso disponible para probar las hipótesis de las relaciones de causa y efecto entre las variables <sup>211</sup>. Se diseñó un trabajo de experimentación tipo ensayo clínico controlado (que compara un nuevo tratamiento con la terapia estándar que viene administrándose de forma habitual en la práctica clínica) destinado a establecer si la aplicación de PRP presenta ventajas frente a la terapia estándar de cuidado de úlceras venosas.

#### 5.1.1. TIPO DE DISEÑO

El tipo de diseño de la investigación en cuanto a la temporalidad fue **longitudinal**, ya que los datos se colectan en más de una ocasión, éstos resultan adecuados para estudiar la dinámica de una variable o de un fenómeno a través del tiempo <sup>211</sup>. Se trata de un estudio **prospectivo** ya que su inicio es anterior a los hechos estudiados, de forma que los datos se recogen a medida que van sucediendo <sup>212</sup>.

Se considera investigación **experimental** con grupo control ya que el investigador es un agente activo y no un observador pasivo. La fortaleza de un experimento verdadero y su ventaja sobre otros métodos residen en que el experimentador puede tener más confianza en la autenticidad e interpretación de las relaciones porque las ha observado en condiciones rigurosamente controladas <sup>211</sup>. En



nuestro estudio se dieron los siguientes atributos requeridos para el requerimiento de estudio experimental:

- o *Manipulación:* Se introdujo una intervención experimental (aplicación de plasma rico en plaquetas en el lecho de la úlcera de los pacientes del grupo experimental), constituyendo la variable independiente <sup>211</sup>.

- o *Control:* El término grupo control se refiere a un conjunto de sujetos cuyo comportamiento respecto de una variable dependiente se utiliza como base para evaluar el comportamiento, respecto de la misma variable del grupo experimental. En nuestro estudio se estableció un grupo control, ya que para obtener indicios de una relación entre variables, debe realizarse cuando menos una comparación <sup>211</sup>.

En la presente investigación hemos empleado un tratamiento activo como referencia, se trata de la atención estándar en el tratamiento local de la úlcera venosa, este tratamiento está suficientemente validado según los conocimientos actuales para la situación clínica de estudio.

- o *Aleatorización:* Consiste en distribuir al azar los sujetos en los distintos grupos del experimento; significa en esencia, que cada sujeto tiene la misma oportunidad de ser asignado a un grupo u a otro <sup>211</sup>, de esa manera se evitó el sesgo o error sistemático respecto de algún atributo, o algunos que pudiera afectar el comportamiento de la variable dependiente investigada. La asignación aleatoria tiende a asegurar la comparabilidad de los grupos, de manera que la comparación entre la aplicación de plasma rico en plaquetas y la atención estándar en el tratamiento local de la úlcera venosa es lo más imparcial posible, obteniendo grupos de estudio similares.

La selección de la muestra en el presente estudio por razones de accesibilidad y operatividad ha sido “por conveniencia”, ya que una vez estudiadas todas las opciones

posibles, estimamos como única opción viable para realizar el estudio, de manera que se realizó un ofrecimiento a través de Enfermero de Atención Primaria, Médico de Atención Primaria o Cirujano de Consulta Especializada a todos los pacientes con úlcera venosa activa de más de 6 semanas de evolución que voluntariamente quisieran participar en la investigación. Para la asignación de cada elemento de la muestra al grupo Experimental o Control se utilizó un diseño de muestreo probabilístico tipo “sistemático”, para lo cual distribuimos a cada sujeto de la muestra a diferentes condiciones experimentales en función de última cifra del año de nacimiento, de manera que si es “0 o cifra par” se asigna al grupo experimental de PRP, y si su última cifra del año de nacimiento es “impar” se asigna al grupo control de cura estándar.

Si bien es cierto que el muestreo probabilístico es el único método viable para obtener una muestra representativa ya que todos los elementos de la población tienen la misma posibilidad de ser seleccionados, es rara la muestra que representa de manera perfecta a la población y que, en consecuencia no contiene errores muestrales respecto de alguno de los atributos que se investigan <sup>211</sup>. Consideramos una opción válida la selección muestral por conveniencia en el presente estudio dada la homogeneidad de la población con úlcera de etiología venosa, y sobre todo debido a que se ha seleccionado minuciosamente la muestra en base a rigurosos criterios de inclusión y exclusión de manera que la muestra contiene la suficiente representatividad para hacer extrapolables los resultados al resto de la población.

Se trata pues de un **ensayo clínico controlado y aleatorizado (ECA)**.

Los ensayos clínicos siempre implican poner a prueba un tratamiento clínico; resulta también muy importante la asignación aleatoria de los sujetos a las condiciones

experimentales y a una o más condiciones de control; la colecta de información sobre los resultados del tratamiento en los sujetos de todos los grupos, y el uso habitual de una muestra grande y heterogénea de sujetos <sup>211</sup>. El ECA es considerado el mejor diseño disponible para evaluar la eficacia de una intervención sanitaria, ya que es el que proporciona la evidencia de mayor calidad acerca de la existencia de una relación causa-efecto entre dicha intervención y la respuesta observada <sup>212</sup>.

Para la elaboración del presente estudio se siguieron las recomendaciones de la guía CONSORT <sup>213,214</sup>.

#### 5.1.2. AMBITO DE INTERVENCIÓN

El presente estudio se realizó en la Unidad de Investigación del Hospital de la Merced de Osuna (Sevilla), teniendo en cuenta criterios de accesibilidad a la Unidad, la derivación de pacientes se estableció en el área de influencia, por lo que los pacientes que intervinieron en el estudio procedieron del Área Sanitaria de Osuna (Sevilla), a la que pertenecen las Zonas Básicas de Salud de Ecija, Marchena, Osuna, La Puebla de Cazalla, Estepa, El Saucejo y La Luisiana. El ámbito de intervención es de 173,355 habitantes, de los cuales 86,339 son hombres y 87,016 son mujeres, tal como viene reflejada en la tabla 6. (Fuente: Patrón municipal de habitantes 2014, Instituto de Estadística de Andalucía. Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo).

**Tabla 6. Distribución por sexos de la población perteneciente al Área Sanitaria de Osuna.**

Población	Sexo		
	Hombres	Mujeres	Ambos sexos
<b>Aguadulce</b>	1.065	1.084	2.149
<b>Algámitas</b>	685	631	1.316
<b>Badolatosa</b>	1.624	1.526	3.150
<b>Cañada del Rosal</b>	1.631	1.657	3.288
<b>Casariche</b>	2.855	2.741	5.596
<b>Corrales (Los)</b>	2.063	1.966	4.029
<b>Ecija</b>	20.025	20.609	40.634
<b>Estepa</b>	6.280	6.387	12.667
<b>Fuentes de Andalucía</b>	3.584	3.604	7.188
<b>Gilena</b>	1.951	1.916	3.867
<b>Herrera</b>	3.238	3.287	6.525
<b>Lantejuela (La)</b>	2.002	1.897	3.899
<b>Lora de Estepa</b>	447	429	876
<b>La Luisiana</b>	2.346	2.326	4.672
<b>Marchena</b>	9.964	9.976	19.940
<b>Marinaleda</b>	1.396	1.352	2.748
<b>Martín de la Jara</b>	1.429	1.367	2.796
<b>Osuna</b>	8.791	9.027	17.818
<b>Pedrera</b>	2.652	2.712	5.364
<b>Puebla de Cazalla (La)</b>	5.656	5.696	11.352
<b>Roda de Andalucía (La)</b>	2.126	2.171	4.297
<b>Rubio (El)</b>	1.740	1.780	3.520
<b>Saucejo (El)</b>	2.186	2.221	4.407
<b>Villanueva de San Juan</b>	603	654	1.257

---

Total Área	<b>86.339</b>	<b>87.016</b>	<b>173.355</b>
------------	---------------	---------------	----------------

---

### 5.1.3. POBLACIÓN DIANA.

Es la población a la que deseamos generalizar los resultados <sup>212</sup>.

En nuestro estudio la población diana son los sujetos con úlcera de etiología venosa que no responden adecuadamente a terapia estándar de tratamiento local.

### 5.1.4. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Definida como el subconjunto de la población diana a la que se tiene intención de estudiar <sup>212</sup>. La población de estudio en la presente investigación ha sido los pacientes del Área Sanitaria de Osuna (Sevilla) con presencia activa de úlcera de etiología venosa en miembro inferior.

#### Criterios de selección:

Para la inclusión del número suficiente de sujetos en el tiempo previsto establecimos los siguientes criterios de selección:

- Úlcera de etiología venosa con diagnóstico de insuficiencia venosa por Médico de Familia o Facultativo Especialista de Área.
- Lugar de residencia en localidad perteneciente al Área Sanitaria de Osuna (Sevilla) siendo atendido en centro sanitario público de la red sanitaria del Área.

Con la finalidad de obtener una muestra homogénea, sin que difiera sustancialmente de la población diana para que los resultados sean fácilmente

extrapolables o generalizables se establecieron los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

✓ *Criterios de inclusión:*

**1. Paciente con úlcera de etiología venosa de más de 6 semanas de evolución.**

Hemos estimado este tiempo de fracaso terapéutico suficiente como para que el paciente crea oportuno formar parte de una investigación al ofrecerle una alternativa terapéutica.

**2. Edad, mayor de 18 años.** Se considera mayoría de edad legal para la toma de decisiones, no necesitando representante legal.

**3. Deambulación sin asistencia por otras personas o necesidad de órtesis para realizar actividades de la vida diaria.** Debido a que las limitaciones en la movilidad afectan a la cicatrización.

**4. Índice tobillo-brazo (I T/B) mayor de 0,8 y menor de 1,2 en el miembro con presencia de úlcera.** Con este criterio aseguramos que nuestro paciente no tiene afectación isquémica arterial en el miembro inferior y que no hay un componente isquémico en la etiología de la úlcera. Se realiza medición mediante tensiómetro para determinación automática de ITB, modelo WatchBP®office en la primera visita del paciente.

**5. Tolerancia a terapia compresiva monocapa.** Parte de nuestro protocolo de tratamiento es la terapia compresiva, de manera que es importante que los pacientes incluidos en el estudio toleren este tratamiento.

✓ *Criterios de exclusión:*

**1. Trombocitopenia crítica**, definida como recuento de plaquetas por debajo de 150.000/ $\mu$ l. Por debajo de esta cifra la recolección de plaquetas en el producto final y por lo tanto la eficiencia del PRP es bastante discutible.

**2. Nivel de hemoglobina por debajo de 10 g/dl.** La repercusión del nivel de hemoglobina sobre la perfusión de los tejidos y por lo tanto del intercambio gaseoso y metabólico eficaz puede provocar un aumento de la permeabilidad vascular, una retención de leucocitos y una síntesis y liberación de radicales libres del oxígeno y enzimas proteolíticas

**3. Haber sido sometido a cirugía para el tratamiento de insuficiencia venosa ni antes ni durante el periodo de estudio.** Ya que el haber sometido a cirugía para el tratamiento de insuficiencia venosa supondría una variable de confusión.

**4. Tratamiento farmacológico:** AINEs (7 días), corticoides sistémicos (15 días), inmunosupresores, quimioterapia citotóxica, antiagregación y anticoagulación. Los AINEs actúan inhibiendo a las prostaglandinas, afectando la producción de colágeno. Los corticoides actúan en la fase inflamatoria inhibiendo a los macrófagos, la síntesis proteica y la proliferación celular, los tratamientos con citostáticos inhiben la acción de diversos factores de crecimiento celular. Los quimioterápicos alteran a los fibroblastos. El tratamiento con anticoagulantes reduce el potencial angiogénico y su capacidad para inducir la síntesis de fibronectina <sup>215</sup>. La función plaquetaria se ve alterada en los

pacientes tras el consumo de AINEs pudiendo afectar en cuanto a disminuir la calidad de los compuestos bioactivos del PRP <sup>216</sup>.

**5. Síndrome de disfunción plaquetaria.** Debido a que alteraría la eficiencia del producto final.

**6. Inestabilidad hemodinámica.** Debido a su repercusión sobre la perfusión de los tejidos y por lo tanto del intercambio gaseoso y metabólico.

**7. Insuficiencia cardíaca descompensada.** En pacientes con insuficiencia cardíaca descompensada no está indicada terapia compresiva <sup>59</sup>.

**8. Enfermedad autoinmune.** Cualquier enfermedad o tratamiento que afecte al sistema inmunitario tienen consecuencias importantes en la cicatrización <sup>217,218</sup>.

**9. Enfermedad oncológica.** Además de estar descrito como factor físico que altera la cicatrización, la exclusión de estos pacientes se hace debido a que aunque no se ha documentado ningún efecto indeseable en los numerosos casos clínicos tratados con plasma rico en plaquetas, la mínima posibilidad de que la aplicación terapéutica de este producto esté relacionado con la transformación carcinomatosa de tejidos normales o displásicos <sup>113</sup>, nos hizo decidir la no aceptación de este tipo de pacientes.

**10. Hepatopatía.** Por su efecto negativo sobre la cicatrización.

**11. Septicemia.** La sepsis afecta a la cicatrización <sup>219</sup>.



**12. Diabetes mal controlada.** Entendida como valores de hemoglobina glucosilada por encima de 9% (HbA<sub>1c</sub> > 9%). En los pacientes diabéticos persiste la etapa inflamatoria apareciendo una disminución de la proliferación de fibroblastos con la consiguiente reducción del colágeno I y II y menor formación de matriz.

**13. Obesidad mórbida.** Reconocido factor físico que afecta a la cicatrización <sup>219</sup>.

**14. Infección de la úlcera.** Es considerado un factor determinante en el retraso de la cicatrización de las úlceras. La presencia de bacterias en el tejido de una herida crónica influye de manera importante en el retraso de la cicatrización <sup>70</sup>. Tanto la infección clínica como la constatación mediante cultivo fue considerado criterio de exclusión en nuestro estudio.

Si bien puede considerarse que todas las úlceras de la extremidad inferior se encuentran colonizadas por gérmenes, el crecimiento y desarrollo de microorganismos por encima de valores de 100.000 colonias por gramo de tejido tiene una incidencia directa en la inhibición de las diversas fases de cicatrización <sup>34</sup>.

#### Estrategia de inclusión de pacientes:

En una primera reunión con profesionales sanitarios de todos los centros de salud del Área Sanitaria y con los Facultativos Especialistas en Cirugía del Hospital de la Merced de Osuna se explicaron objetivos del estudio y protocolo de derivación a la Unidad de Investigación del Hospital de la Merced de Osuna. Se estableció el ofrecimiento de participar en la presente investigación a todos los pacientes que acudieron a los Centros de Salud o Consulta de Cirugía del Área Sanitaria de Osuna (Sevilla) desde Septiembre de 2009 hasta Marzo de 2014 y que padecieran una o más

úlceras de etiología venosa que después de llevar al menos 6 semanas con tratamiento local no presentara ninguna mejoría clínica ni reducción del área de la úlcera. Al aceptar la inclusión en el estudio, se les aportaría cita en Unidad de Investigación del Hospital de la Merced de Osuna donde se les presentaba de forma comprensible el tema y los objetivos del estudio, la importancia de su participación, la garantía de confidencialidad de la información, los beneficios potenciales y los posibles riesgos y molestias que podría suponerles su participación. El flujo de pacientes a lo largo del estudio se puede apreciar en la figura 1.

Para incrementar la posibilidad de que la muestra fuera representativa identificamos las variables extrínsecas importantes, es decir, los factores que influyen en la heterogeneidad de la población respecto de la variable dependiente, tal como se explica en el apartado “descripción de las variables”. Por otro lado, la selección basada en unos rigurosos criterios de exclusión nos permitió minimizar la posible variación resultante del efecto que pudiera provocar posibles variables extrínsecas en la población de estudio, estas han sido: sexo, edad, tipo de insuficiencia venosa, área de la úlcera al inicio del tratamiento, tiempo de evolución de la úlcera al inicio del tratamiento, estadio de la úlcera, dolor local al inicio del tratamiento y dolor local al final del tratamiento.

#### Tamaño muestral:

Tomamos como referencia para el cálculo muestral la variable específica del estudio “porcentaje del área cicatrizada”, ya que es la variable fundamental que determinará la eficacia de la intervención con plasma rico en plaquetas frente a la terapia estándar de tratamiento local.

Como tenemos dos muestras pre-post según el Trabajo Fin de Máster realizado en 2011: “Estudio y pilotaje de la eficacia de los factores de crecimiento en heridas”<sup>220</sup>, se determina la diferencia mínima que se desea detectar una vez aplicado el tratamiento, es decir, es la mínima diferencia que podría tener cierta relevancia en la aplicación clínica. Esta mínima diferencia debe ser de al menos un 25 %, por tanto, consideramos  $d = 25$ .

Por estudios anteriores, concretamente en el “Estudio y pilotaje sobre la eficacia de factores de crecimiento en heridas” que se realizó previamente (Trabajo Fin de Máster 2011) donde se utilizó este valor de varianza; se conoce que la varianza de esta variable se aproxima a los 1.700, por lo que  $s^2 = 1,700$ .

Se decidió fijar el error  $\alpha$  en un 5 %,  $\alpha/2$  valdrá 0,025 y  $z\alpha/2$  valdrá 1,96. Se admite así que existirá una probabilidad del 5 % de decidir erróneamente la desigualdad de las muestras (error tipo I).

$$\alpha/2 = 0,025$$

$$z\alpha/2 = 1,96$$

Se decidió asumir un error  $\beta$  de un 20 %, que corresponde a una  $z\beta$  de 0.84. Por tanto, la potencia del estudio será del 80 % ( $1 - \beta$ ). El error beta siempre es unilateral. Al asumir un error beta del 20 % estamos dispuestos a equivocarnos 1 de cada 5 veces que los dos grupos presentan iguales porcentajes de área cicatrizada, es decir, 1 de cada 5 veces en que haya diferencias mayores de 25 % ( $d > 25$ ) no seremos capaces de detectarlas, se comete un error tipo II.

$$\beta = 0,2$$

$$z\beta = 0,84$$

Se aplicó la ecuación,  $n = \frac{2s^2(z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2}{d^2} = \frac{2 \cdot 1.700 \cdot (1.96 + 0.84)^2}{25^2} = 42.65 \dots \dots \dots$  **43.**

Se requerirían al menos 86 úlceras, es decir, 43 úlceras en cada grupo para poder efectuar una comparación de sus porcentajes de área cicatrizada cumpliendo estos requisitos.

El siguiente grafico representa el flujo de pacientes a lo largo del estudio:

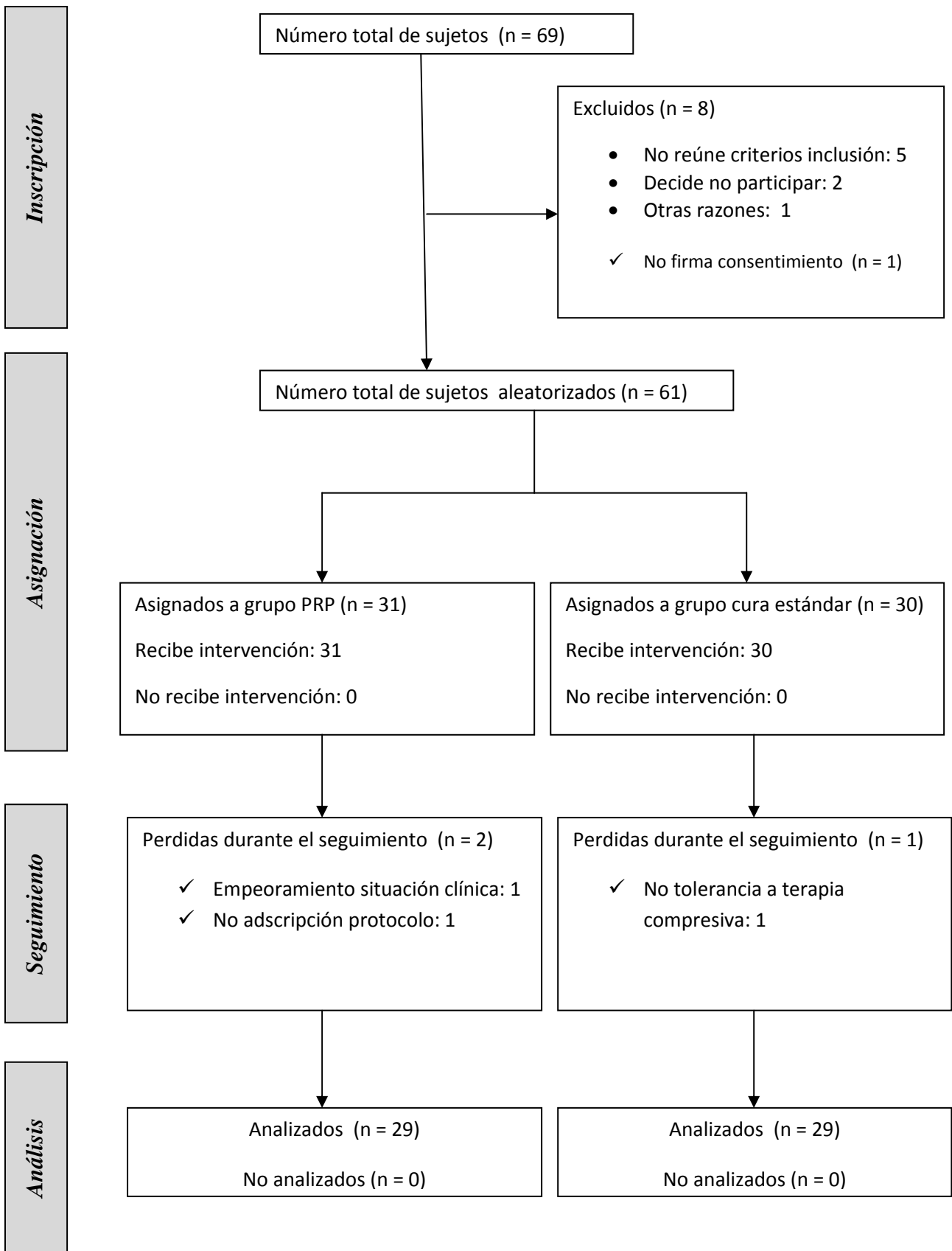


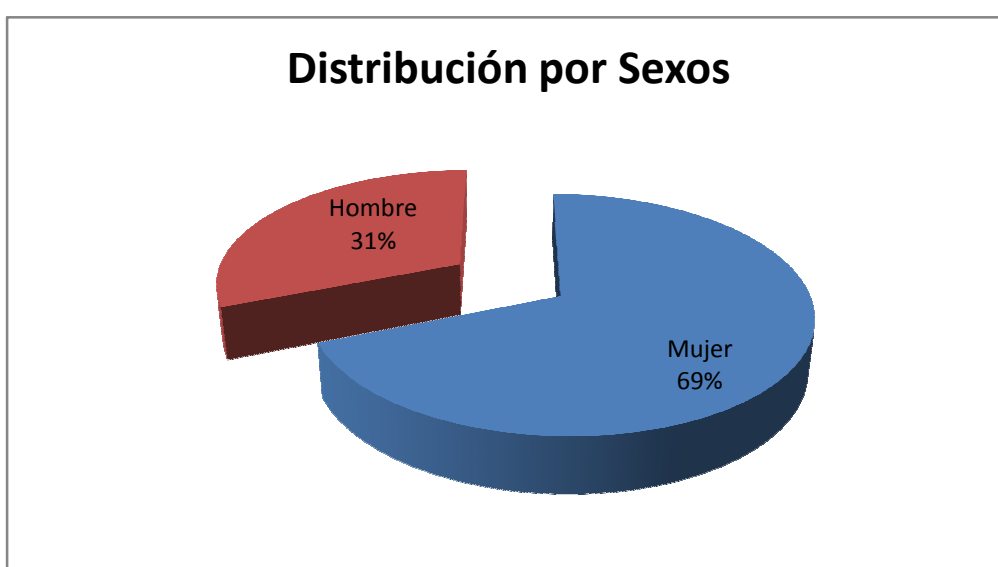
Figura 1. Diagrama de Flujo

### Características generales de la muestra:

Las características generales de la muestra se presentan en la tabla 7. El grafico 1 representa la distribución por sexos en la muestra.

**Tabla 7. Características generales de la muestra**

<i>Total pacientes</i>	58
<i>Total úlceras</i>	102
<i>Edad Media (años)</i>	64,14
<i>Recuento plaquetario medio al inicio de investigación</i>	229,418
<i>Superficie media de la úlcera al inicio de investigación (cm<sup>2</sup>)</i>	15,18
<i>Estadío según profundidad (Grado I)%</i>	0
<i>Estadío según profundidad (Grado II)%</i>	100
<i>Tiempo medio de evolución desde que aparece la úlcera hasta inclusión en estudio</i>	51,16 semanas

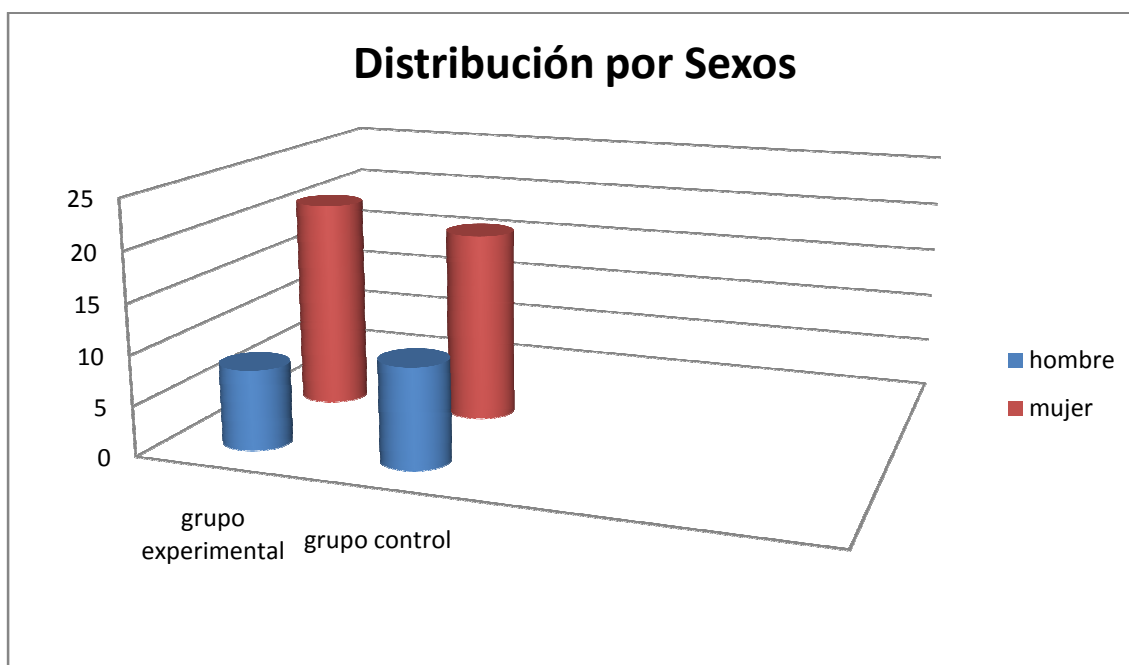


**Gráfico 1: diagrama de sectores: distribución por sexos en la muestra**

Se describe en la tabla 8 las características de la muestra según pertenencia a grupo experimental o control. El grafico 2 muestra a la distribución por sexos en grupo Experimental y Control

**Tabla 8. Características de la muestra en grupo Experimental y Control**

	<b>Grupo Experimental</b>	<b>Grupo Control</b>
<b>Número de úlceras</b>	55	47
<b>Número de pacientes</b>	29	29
<b>Edad Media (años)</b>	64,2	64,09
<b>Cifra media de recuento plaquetario al inicio</b>	224,904/mm <sup>3</sup>	233,933/mm <sup>3</sup>
<b>Promedio de úlceras por paciente</b>	1,89	1,62



**Grafico 2. Diagrama de barras: distribución por sexos en grupo Experimental y grupo Control.**

## 5.2. MATERIAL Y RECOGIDA DE DATOS.

Se recogieron los datos de filiación, demográficos y clínicos de los pacientes, el tiempo de evolución de la úlcera, la patología asociada, los antecedentes clínicos de interés y el tratamiento farmacológico actual. Dichos datos fueron recogidos en “Hoja de Recogida de Datos” (Anexo I) y almacenados en un cuestionario informatizado utilizando el programa Excel versión 15 para Windows (Microsoft Office 2013<sup>®</sup>).

## 5.3. ESTUDIO DE LAS VARIABLES.

- Consideramos las siguientes *variables dependientes*:

1. *Porcentaje de reducción del área de la úlcera.*
2. *Dolor local.*
3. *Efectos adversos.*

- Como *variable independiente* estimamos: *Tipo de Tratamiento*:

- a) Tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas.
- b) Tratamiento mediante terapia estándar.

Para realizar nuestro estudio y realizar el control de la investigación referida a mantener constantes las posibles influencias sobre las variables dependientes investigadas, de manera que pueda comprenderse su verdadera relación con las variables independientes hemos estudiado las variables que podrían afectar a las variables dependientes en estudio y que al mismo tiempo se relacionan con la variable independiente, estas son:

1. *Sexo.*



2. *Edad.*
3. *Tipo de insuficiencia venosa.*
4. *Área de la úlcera al inicio del tratamiento.*
5. *Tiempo de evolución de la úlcera al inicio del tratamiento.*
6. *Estadío de la úlcera.*
7. *Dolor local al inicio del tratamiento.*
8. *Dolor local al final del tratamiento*

Todos los datos se recogieron para encontrar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de cura con PRP y el grupo tratamiento estándar de cura local.

### **Valoración de las variables.**

- Variable “Edad”.

Definida como el número de años desde el nacimiento. Es una variable cuantitativa continua, medida mediante escala de razón.

- Variable “Sexo”.

Se trata de una variable cualitativa nominal, para su medición se utiliza escala nominal. Se aprecian los valores hombre y mujer.

- Variable “Tiempo de evolución de la úlcera”.

Se observa el tiempo en semanas desde que aparece la úlcera. Es una variable cuantitativa continua, se midió mediante escala de intervalo.

- Variable “Tipo de insuficiencia venosa”.

Se trata de una variable cualitativa ordinal, se midió mediante escala ordinal.

Distinguimos en esta variable las siguientes categorías <sup>34</sup>:

Tipo I: insuficiencia venosa que afecta al sistema venoso superficial.

Tipo II: insuficiencia venosa que afecta al sistema venoso profundo y/o perforante.

- Variable “Profundidad de la herida”.

Es una variable cualitativa ordinal, para su medida se ha utilizado escala ordinal. Se distinguieron las siguientes categorías en función de los tejidos afectados <sup>34</sup>:

Grado I: Afecta a la epidermis y/o dermis.

Grado II: Afecta al tejido celular subcutáneo o hipodermis.

Grado III: Afecta a la fascia y/o al músculo.

- Variable “Área de la úlcera al inicio del tratamiento”.

Se trata de una variable cuantitativa discreta, se midió mediante escala de intervalo. Definida como la superficie en cm<sup>2</sup> de la úlcera al inicio del tratamiento. Se calcula el área de la úlcera (S) al aplicar el método de Kundin a través de la medida de los diámetros Largo y Ancho, y aplicando un factor de corrección debido a la irregularidad de la superficie de las úlceras <sup>34</sup>.

Diversos estudios mencionan este método como apropiado para determinar la superficie de una úlcera <sup>183,184,221,222</sup>.

$$S \text{ (Superficie) (cm}^2\text{)} = \text{Largo} \times \text{Ancho} \times 0,785$$

En la imagen 4 se puede apreciar el proceso de medición de una úlcera venosa mediante regla milimetrada.



**Imagen 4. Medida de la úlcera al inicio del tratamiento**

- Variable “Área de la úlcera al final del tratamiento”.

Es una variable cuantitativa discreta, medida mediante escala de intervalo. Se define como la superficie en  $\text{cm}^2$  de la úlcera al final del tratamiento. Se calcula el área de la úlcera (S) al aplicar el método de Kundin a través de la medida de los diámetros Largo y Ancho, y aplicando un factor de corrección debido a la irregularidad de la superficie de las úlceras <sup>34</sup>.

$$S \text{ (Superficie) (cm}^2\text{)} = \text{Largo} \times \text{Ancho} \times 0,785$$

- Variable “Porcentaje de reducción del área de la úlcera”.

Se define como el porcentaje del área de la úlcera que ha cicatrizado tras el tratamiento. Es una variable cuantitativa continua, para su medición hemos utilizado escala de razón. Se calcula el área de la úlcera (S) al inicio y después del tratamiento, aplicando el método de Kundin a través de la medida de los diámetros Largo y Ancho, y

aplicando un factor de corrección debido a la irregularidad de la superficie de las úlceras. Esta variable es utilizada en otros estudios que valoran la eficacia del PRP en úlceras de distinta etiología <sup>180</sup>.

Se determina el porcentaje de área cicatrizada.

$$S \text{ (Superficie) (cm}^2\text{)} = \text{Largo} \times \text{Ancho} \times 0,785$$

- Variable “Dolor al inicio del tratamiento”.

Variable cualitativa ordinal, se midió mediante escala ordinal. Los valores se han obtenido a través de la Escala Visual Analógica del Dolor (Anexo II) al inicio del tratamiento. Valor de 0 a 10.

La Escala Visual Analógica del dolor es un instrumento de medida clásico para conocer la intensidad del dolor, siendo un método de alta fiabilidad y sensibilidad para conseguir este objetivo, resultando además muy fácil de aplicar en el entorno clínico.

La puntuación va desde el valor “0” (nada de dolor) al valor “10” (peor dolor imaginable):

- **Dolor leve: puntuaciones que oscilan de 0-3 puntos.**
- **Dolor moderado: entre 4-7 puntos.**
- **Dolor severo: entre 7-10 puntos.**

Diversos estudios analizan esta variable mediante este instrumento de medida para determinar la eficacia en cuanto a reducción del dolor de la terapia local en úlceras

<sup>189</sup>.

- Variable “Dolor al final del tratamiento”.

Variable cualitativa ordinal, medida mediante escala ordinal. Los valores se han obtenido a través de la Escala Visual Analógica del Dolor (EVA) al final del tratamiento. Valor de 0 a 10.

Diversos estudios analizan esta variable para determinar la eficacia en cuanto a reducción del dolor de la terapia local en úlceras <sup>189</sup>.

- Variable “Efectos Adversos”.

Se trata de una variable cualitativa nominal, para su medición hemos utilizado escala nominal. El análisis de esta variable se realizó por observación directa de la herida por parte del investigador una vez a la semana tras la primera aplicación de PRP o cura estándar durante las 24 semanas de tratamiento. Se consideró efecto adverso la observación de signos clínicos de infección o a la aparición de cualquier signo de dermatitis irritativa. Diversos estudios coinciden con el nuestro en la valoración de esta variable para estudiar la seguridad del PRP en el tratamiento local de úlceras y heridas <sup>178</sup>.

En la inspección de la úlcera tras la aplicación del tratamiento con PRP o cura estándar se consideró efecto adverso la aparición de cualquiera de los siguientes signos:

- **Aumento del exudado en la úlcera.**
- **Aumento significativo del dolor.**
- **Aumento del prurito.**
- **Eritema de carácter irritativo en la región periulceral.**

## 5.4. DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN

1. Los pacientes fueron remitidos por su médico de zona básica de salud o facultativo especialista de área a la Unidad de Investigación del Área Sanitaria de Osuna con indicación de tratamiento con plasma rico en plaquetas.

A cada paciente se le aportó hoja informativa donde se explica en qué consistía el estudio, los objetivos, el tipo de curas que se le va a aplicar, así como la duración del tratamiento. Se les ofreció la posibilidad de que expongan cualquier duda y resolverla.

2. Una vez el paciente ha sido informado si decide participar en el estudio debe firmar hoja de consentimiento informado (Anexo III).

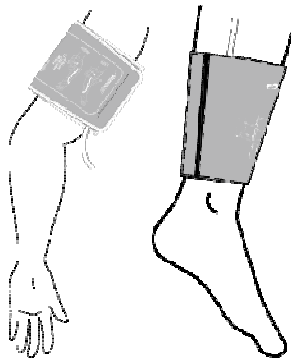
3. Se recogieron los datos de filiación, demográficos y clínicos de los pacientes, el tiempo de evolución de la úlcera, la patología asociada, los antecedentes clínicos de interés y el tratamiento farmacológico actual. Dichos datos fueron almacenados en un cuestionario informatizado (Anexo I).

4. Determinación de índice tobillo-brazo (I T/B) con el objetivo de descartar componente isquémico en la etiología de la úlcera. Se realiza con tensiómetro automático modelo WatchBP® office (Imagen 5). Para determinar el I T/B es necesario medir los valores de presión arterial sistólica del brazo y la pierna del paciente. El I T/B se calcula usando el cociente de la presión arterial medida en la pierna y la presión sistólica medida en el brazo.



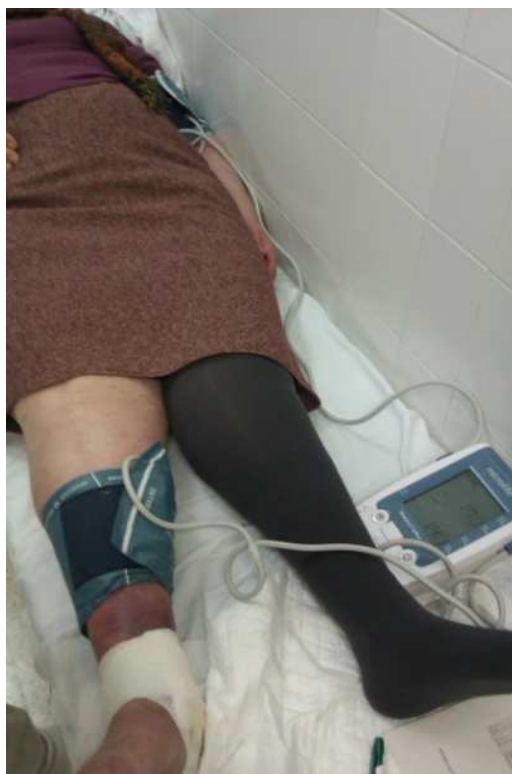
**Imagen 5. Tensiómetro WatchBP® office. Fuente: Manual de Instrucciones microlife®, disponible en [http://www.watchbp.es/fileadmin/pdf/manuals/Office\\_ABI/IB\\_WatchBP\\_Office\\_ABI\\_ES.pdf](http://www.watchbp.es/fileadmin/pdf/manuals/Office_ABI/IB_WatchBP_Office_ABI_ES.pdf)**

Para una adecuada medición es muy importante la correcta fijación del brazalete al brazo y la tobillera a la pierna del lado de medición preferente del cuerpo, tal y como se muestra en las imágenes 6:



**Imagen 6. Colocación adecuada de brazalete y tobillera para medición correcta de I T/B. Fuente: Manual de Instrucciones microlife®, disponible en [http://www.watchbp.es/fileadmin/pdf/manuals/Office\\_ABI/IB\\_WatchBP\\_Office\\_ABI\\_ES.pdf](http://www.watchbp.es/fileadmin/pdf/manuals/Office_ABI/IB_WatchBP_Office_ABI_ES.pdf)**

La imagen 7 muestra la determinación de I T/B en un paciente de nuestro estudio.



**Imagen 7. Determinación de ITB en paciente con úlcera venosa.**

5. Si los pacientes no tenían documentado en su historia clínica episodio de trombosis venosa profunda, se les facilita consulta en Cirugía, para estudio de insuficiencia venosa y confirmación mediante ecografía dúplex de tipo de insuficiencia venosa.

6. Toma de muestra para cultivo microbiológico con el fin de confirmar microbiológicamente infección de la úlcera.

7. Durante dos semanas cada paciente fue tratado en nuestra unidad con el fin de eliminar tejido necrótico, fibrina y esfacelos; consiguiendo así un grupo de estudio homogéneo en función de la situación histológica de la base de la úlcera (referente de primer orden de índole pronóstica), buscando como objetivo conseguir un equilibrio en la proporción entre tejido necrótico, fibrina y tejido de granulación de todas las heridas: tejido necrótico inexistente; fibrina < 50%; tejido de granulación < 50%. Debido a la importancia que sobre la cicatrización tiene la infección de la úlcera, durante estas dos

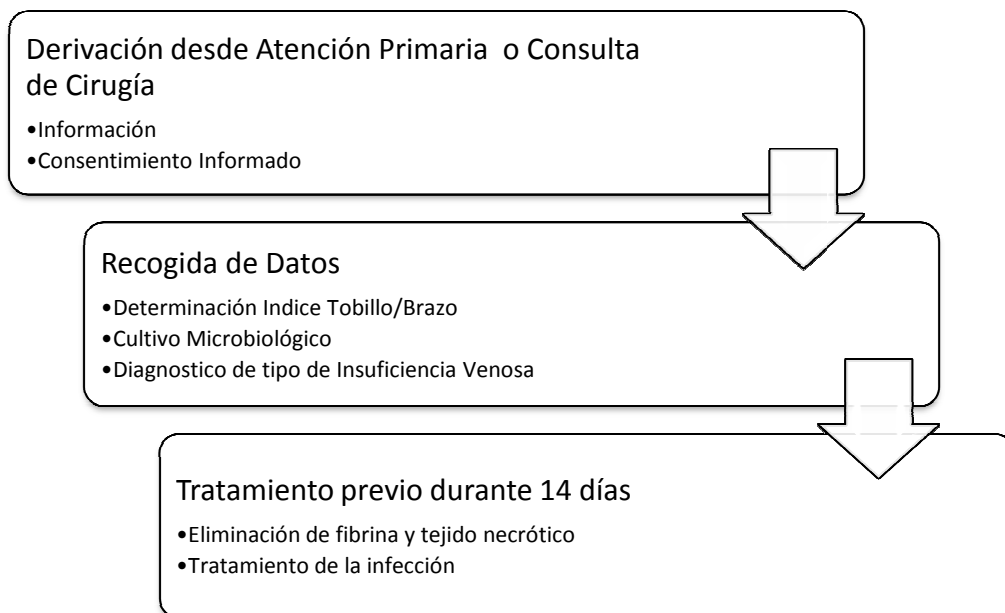


semanas de atención de todos los pacientes del estudio se realiza tratamiento en caso de signos clínicos o constatación microbiológica de infección de la úlcera con antibióticos sistémicos durante diez días o hasta que no existen signos clínicos de infección ni cultivos positivos.

Durante estos catorce días tras la inclusión del paciente en el estudio, se realizan curas cada 48 horas en el laboratorio de la unidad de investigación del Hospital de la Merced de Osuna (Sevilla) según el siguiente protocolo:

- Lavado con esponja jabonosa, desbridamiento mecánico de restos de fibrina o de esfacelos con bisturí o cureta, cobertura con gasa humedecida en suero fisiológico, cobertura secundaria de gasa y vendaje compresivo monocapa.

Esquemáticamente la descripción de la intervención quedaría reflejada en la figura 2.



**Figura 2: Esquema de la intervención en todos los pacientes durante dos semanas.**

Las imágenes 8 y 9 corresponden al proceso de desbridamiento mecánico realizado a todas las úlceras en pacientes de nuestro estudio.



**Imagen 8. Ulcera antes y después de desbridamiento.**



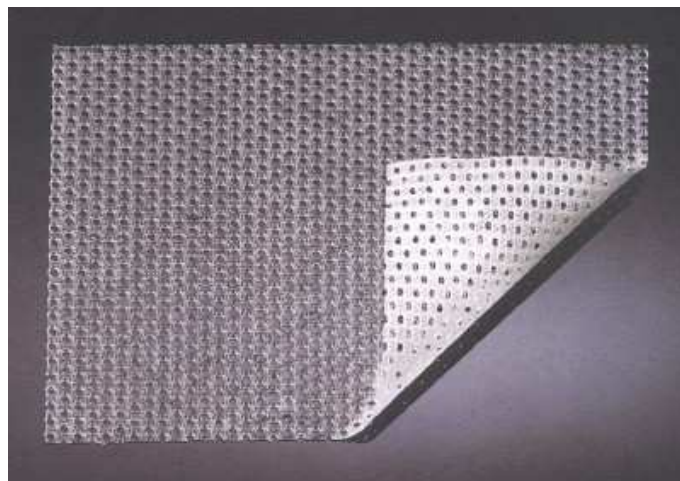
**Imagen 9. Proceso de desbridamiento mecánico.**

8. A partir de la derivación de los pacientes y una vez informados, si aceptaban la inclusión del estudio tuvieron que firmar consentimiento informado; a través de la entrevista y estudio de cada caso se determinaron criterios de inclusión y exclusión y se procedió a la aleatorización de aquellos sujetos que pudieron ser incluidos en el estudio.

En pacientes pertenecientes al ***grupo experimental*** se aplica el siguiente protocolo de tratamiento local:

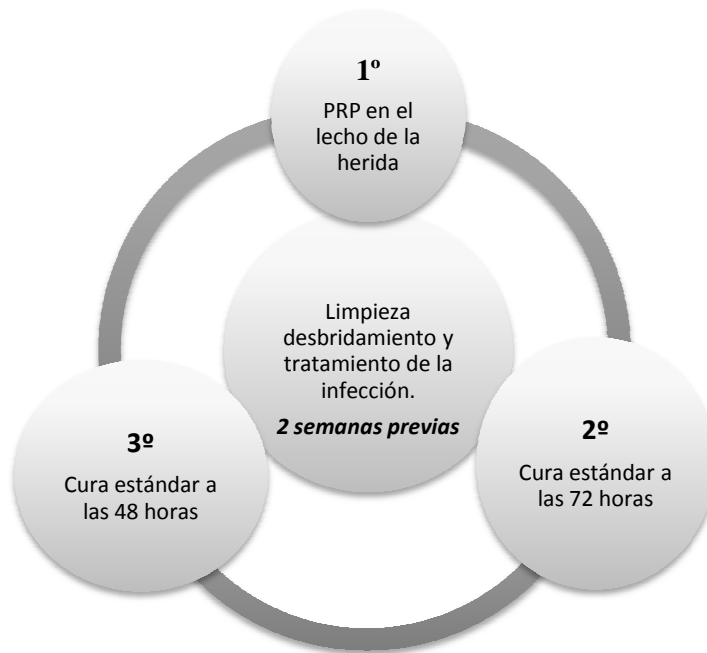
- Limpieza de la herida con clorhexidina jabonosa y suero fisiológico, desbridamiento mecánico de restos de fibrina, esfacelos o tejido necrótico; instilación en el lecho de la herida con PRP, la cantidad de PRP empleada es la suficiente para cubrir totalmente toda la superficie de la herida. El PRP se obtuvo según la técnica PRGF<sup>®</sup> que se describe en el apartado 4.2.3.: “Método de elaboración de PRP”; cobertura con lamina suave de silicona Mepitel<sup>®</sup>, apósito secundario de gasa y vendaje compresivo monocapa. Se realiza cura estándar a las 72 horas del anterior tratamiento, y cada 48 horas hasta nueva instilación con PRP que se realizará a los 7 días. Este protocolo de tratamiento se repite semanalmente durante el tiempo establecido de estudio de 24 semanas.

En la imagen 10 se muestra la lámina de silicona Mepitel<sup>®</sup> utilizada de cobertura al PRP en nuestro estudio, con la intención de proteger y dar estabilidad a los FC en el lecho de la úlcera, de manera que se encuentren en condiciones óptimas de biodisponibilidad.



**Imagen 10: apósito suave de silicona Mepitel<sup>®</sup>**

Se muestra en la figura 3 el protocolo semanal de tratamiento en el grupo experimental de tratamiento con PRP



**Figura 3: Protocolo semanal de tratamiento en grupo experimental.**

En la imagen 8 mostradas a continuación se aprecia la instilación de PRP en el lecho de la úlcera y cobertura con apósito de silicona.



**Imagen 8: Aplicación de PRP y cobertura con lámina de silicona Mepitel®.**

En pacientes pertenecientes al **grupo control** de tratamiento local mediante cura estándar se aplica el siguiente protocolo cada 48 horas durante el tiempo establecido de estudio de 24 semanas:

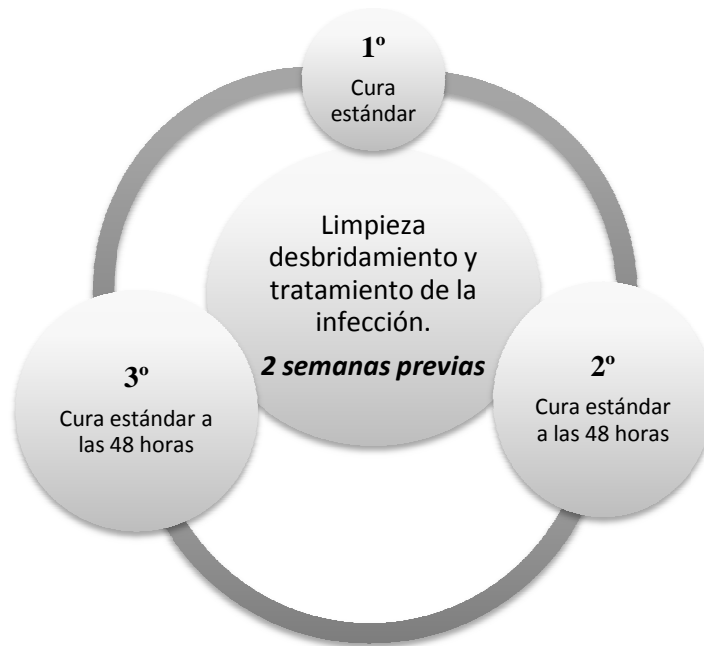
- Limpieza con clorhexidina jabonosa y suero fisiológico, desbridamiento mecánico de restos de fibrina, esfacelos o tejido necrótico; cobertura con gasa humedecida en suero fisiológico, cobertura secundaria de gasa y vendaje compresivo monocapa.

Se describe en la figura 4 la intervención en cada uno de los grupos:

<b>Grupo Experimental. PRP</b>	<b>Grupo Control. Tratamiento estandar</b>
<ul style="list-style-type: none"><li>• Limpieza y desbridamiento</li><li>• Aplicación de PRP en el lecho de la herida</li><li>• Cobertura con lamina de silicona Mepitel®</li><li>• Vendaje compresivo monocapa</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• Limpieza y desbridamiento</li><li>• Cura estándar: instilación de suero fisiológico y apósito con gasa</li><li>• Apósito secundario de gasa</li><li>• Vendaje compresivo monocapa</li></ul>

**Figura 4: intervención en grupo experimental y control.**

En la figura 5 se puede apreciar el protocolo semanal de tratamiento con la atención estándar local en el grupo control.



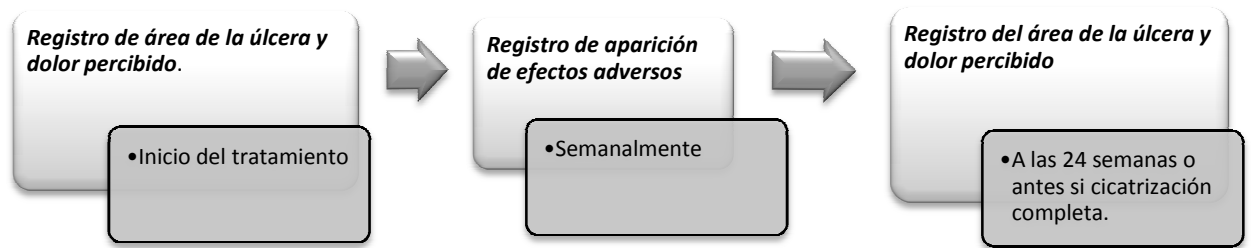
**Figura 5: Protocolo semanal de tratamiento en grupo control.**

9. Se registra en ambos grupos el área de la úlcera al inicio y después de 24 semanas de tratamiento.

10. Se valora el dolor percibido en ambos grupos al inicio y después de 24 semanas de tratamiento.

11. Se registra semanalmente la aparición de cualquier efecto adverso relacionado con la aplicación local de PRP o tratamiento local.

En la figura 6 se describe la secuencia temporal de toma de datos durante el estudio.



**Figura 6: Secuencia de toma de datos durante el estudio.**

#### **5.4.1. Equipamiento utilizado**

- Centrifugadora de sobremesa (Mod. PRGF<sup>®</sup> System II, BTI. Institute España S.L.).(Imagen 9).
- Campana de flujo laminar Telstar, modelo PV-100, numero de serie 23055. (Imagen 10).
- Tensiómetro para determinación automática de ITB, modelo WatchBP<sup>®</sup> office (Imagen 11).
- Pipetas automáticas de volumen fijo de 50  $\mu$ l, 100  $\mu$ l, 500  $\mu$ l. (Imagen 12).
- Pinzas para disección con dientes de 10 cm.
- Pinzas para disección sin dientes de 10 cm.
- Tijera de Mayo recta con palas aguda/roma de 12 cm.
- Bisturí con hoja n° 11.



**Imagen 9. Centrifugadora PRGF System II.**



**Imagen 10. Campana de Flujo Laminar Telstar PV-100.**



**Imagen 11. Tensiómetro para determinación de I / TB**

#### **5.4.2. Material fungible**

- Palomitas para extracción de sangre por vacío: 0,6 × 19 mm × 178 mm (Safety-Lok BD Vacutainer®).
- Tubos citratados de extracción al vacío (9NC. Vacutainer System®). Imagen 12.



- Tubos de activación estériles (Z. Vacutainer System<sup>®</sup>). Imagen 12.
- Activador PRGF<sup>®</sup> (cloruro cálcico 10%). Imagen 12.
- Puntas para pipetas con filtro 5-100:1 y 50-800:1. Imagen 12.
- Brazaletes en tiras (compresor tipo “Esmarch”).
- Gasas estériles.
- Venda elástica cohesiva para fijación de 5 × 10 cm. (Peha-haft<sup>®</sup>).
- Solución estéril de suero fisiológico. Envase de 500 ml.
- Clorhexidina jabonosa, envase de 250 ml. (Hibiscrub<sup>®</sup>)
- Regla milimetrada flexible estéril desechable (Devon industries 1-800-Devon P.O.).
- Apósito de silicona suave, estéril (Mepitel<sup>®</sup>). Imagen 10.
- Guantes estériles.



**Imagen 12. Material necesario para la elaboración de PRP.**

### **5.4.3. Método de elaboración del PRP**

Para la realización del estudio se ha elaborado PRP según BTI Biotechnology Institute, Vitoria-Gasteiz, España. Este sistema permite obtener a diferencia de otros

métodos, mediante una sola etapa de centrifugación y de forma ambulatoria un PRP con escasa presencia de leucocitos. La utilización de protocolo se realiza siguiendo la metodología de un autoinjerto, esto es utilizando exclusivamente la sangre del propio paciente, lo que evita respuestas inmunológicas de rechazo y complicaciones intrínsecas a la utilización de materiales y sustancias heterólogas u homólogas <sup>137</sup>. A la mezcla de proteínas autólogas a partir de un determinado volumen de PRP el autor lo denomina plasma rico en factores de crecimiento: PRGF<sup>®</sup>.

### *Preparación de PRP*

El Plasma Rico en Plaquetas fue preparado mediante el sistema PRGF de BTI System<sup>®</sup> según las pautas del fabricante.

Se recogió cantidad suficiente de sangre mediante punción venosa en función de la superficie de cada úlcera en tubos de recogida PRGF de 9 ml que contienen disolución de citrato trisódico (3,8%). Se procede a la centrifugación inmediata utilizando una centrífuga del sistema PRGF y siguiendo las instrucciones correspondientes, garantizándose una separación suficiente de las fracciones que puedan utilizarse en las aplicaciones.

La extracción de sangre venosa mediante palomita para extracción por vacío se muestra en la imagen 13.



**Imagen 13. Extracción de sangre venosa para elaboración de PRP.**

*Fraccionamiento plasmático:*

Todo el proceso de fraccionamiento plasmático se realiza en campana de flujo laminar para garantizar condiciones de asepsia en el PRP.

1. Se aspira la fracción superior (F1) consistente en un volumen igual a la cantidad total de plasma menos 2 ml (Imagen 14) y se dispensa en un tubo de fraccionamiento de plasma (Imagen 15).

2. Con pipeta de 500  $\mu$ l se extrae, pipeteando dos veces, la segunda fracción (F2) que contiene 1 ml y se dispensa en un segundo tubo de fraccionamiento de plasma (Imagen 16).

3. Se extraen 0,5 ml de plasma utilizando la pipeta de 500  $\mu$ l y luego una de 0,1 ml (100  $\mu$ l), para evitar turbulencias y no aspirando hematíes ni leucocitos. Se repite 5 veces el pipeteo ( $0,1 \text{ ml} \times 5 = 0,5 \text{ ml}$ ) y se dispensa el contenido en un tercer tubo de

fraccionamiento de plasma (Imagen 17). Éste será el plasma más rico en factores de crecimiento (F3). Los 0,4 ml de plasma más próximos a los leucocitos y los hematíes son los que tienen el mayor contenido de plaquetas y por tanto, de factores de crecimiento.



**Imagen 14: Fase 1 del fraccionamiento plasmático  
(Aspiración de F1).**



**Imagen 15: Fase 1 (b) del fraccionamiento plasmático.  
Dispensación de la F1 en tubo de fraccionamiento plasmático.**

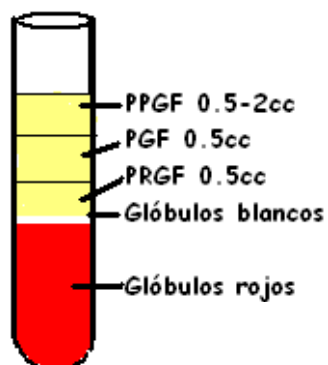


**Imagen 16: Aspiración y dispensación de la F2  
en tubo de fraccionamiento plasmático.**



**Imagen 17: Fase 3 del fraccionamiento plasmático.  
Obtención del PRGF®.**

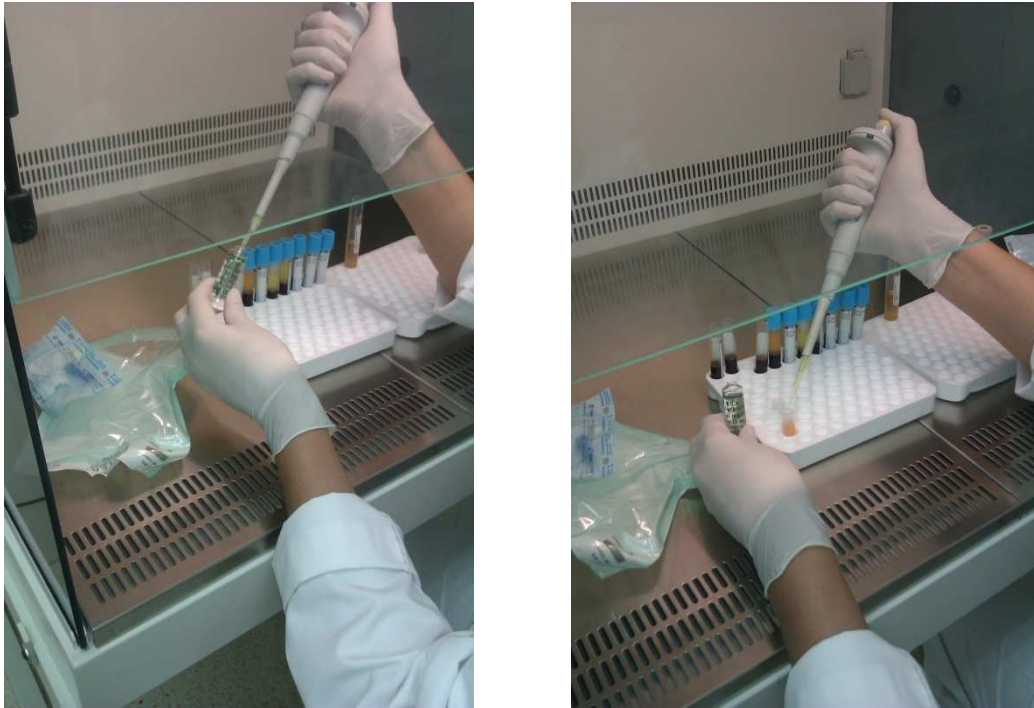
Para cada tubo de recogida de sangre correspondiente al mismo paciente, se repiten las operaciones antes descritas, reuniendo todas las fracciones F3 del mismo paciente en el mismo tubo de fraccionamiento para obtener cantidad suficiente según el área a tratar. En cada tubo, después de la centrifugación, aparecerán las fracciones que se muestran en la imagen 18.



**Imagen 18: Distribución de las diferentes fracciones obtenidas tras el centrifugado: PPGF: plasma pobre en factores de crecimiento, PGF: plasma con factores de crecimiento, PRGF: fracción del plasma rico en factores de crecimiento <sup>110</sup>.**

### Activación del F3:

Se activó la fracción F3 mediante la adición del Activador P.R.F.G.<sup>®</sup> (cloruro cálcico al 10%), añadiendo 50  $\mu$ l de activador P.R.F.G.<sup>®</sup> por cada ml de plasma contenido en el tubo imagen 19, iniciándose la degranulación de las plaquetas y la liberación de factores de crecimiento.



**Imagen 19: Adición de Cloruro Cálcico para activación de PRP.**

Desde la adición hasta la aplicación solo deben pasar entre 3 y 8 minutos, antes de que el coágulo en formación empiece a retraerse para evitar la extrusión de los factores de crecimiento del coágulo durante la retracción de éste.

## 5.5.ASPECTOS ETICOS

El presente trabajo consiste en un estudio intervencionista en el que se evalúa la eficacia terapéutica de un determinado tratamiento por lo que han de tenerse en cuenta una serie de consideraciones éticas.

La revisión actual de la Declaración de Helsinki es la base aceptada por la ética e investigación en seres humanos, debe ser escrupulosamente seguida y respetada por todas las personas implicadas en cualquier investigación <sup>223</sup>.

Cualquier ensayo clínico sobre humanos debe estar validado por un Comité Ético de Investigación Clínica. Este órgano es el encargado de velar por el cumplimiento de la normativa vigente así como de supervisar todos aquellos aspectos éticos que puedan interferir en la investigación. El presente estudio ha sido evaluado y aprobado por el Comité Ético de Experimentación de la Universidad de Sevilla (Anexo IV) y registrado en el Australian New Zealand Clinical Trials Registry con nº ACTRN 12615001112550, disponible en la siguiente dirección web: <http://www.ANZCTR.org.au/ACTRN12615001112550.aspx>

Se diseñó un protocolo que incluye una serie de documentos para velar por los principios éticos básicos de justicia, no maleficencia, beneficencia y autonomía (formulario de consentimiento informado y hoja de información para los participantes según RD 561/93 y normas BCP-CPMP/ICH/135/95) (Anexo III).



Del mismo modo se ha respetado la confidencialidad de los datos recogidos en el modelo de “ficha de recogida de datos” (Anexo IV), quedando dicha información en poder del investigador principal, siendo utilizada sólo en aquellos casos en los que se haya precisado el contacto con el paciente (Ley de Protección de Datos) <sup>224</sup> .

Con respecto a los aspectos legales en la utilización de Plasma Rico en Plaquetas hemos tenido en cuenta el Informe/V1/23052013: Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas, publicado el 23 de Mayo de 2013, según el cual y atendiendo a la composición del plasma rico en plaquetas, el mecanismo de acción postulado así como a sus fines o indicaciones, cabe considerar la aplicación del PRP como un medicamento de uso humano <sup>225</sup>. Sin embargo, siendo un medicamento de uso humano, no cabe considerarlo como un medicamento de producción industrial Tampoco cabe considerarlo como un medicamento de terapia avanzada de acuerdo con la definición dada por el Reglamento (CE) nº 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de Noviembre de 2007, sobre medicamentos de terapia avanzada <sup>226</sup>.

Las consecuencias en cuanto a la consideración del plasma rico en plaquetas como medicamento de uso humano es el establecimiento por parte de la Agencia Española de Medicamentos y productos Sanitarios de unos requisitos mínimos. El principio básico que guía la autorización de cualquier medicamento es que cumpla con las debidas garantías de calidad, seguridad y eficacia, existen por lo tanto, y con independencia de las garantías de calidad, trazabilidad, farmacovigilancia y correcta información para el paciente, algunos aspectos que son de aplicación directa una vez establecida la condición de medicamento de uso humano: debe estar sujeto a

prescripción de médicos, odontólogos o podólogos con cualificación adecuada, con experiencia en el tratamiento, con el equipamiento o instrumentación adecuada y en establecimientos y centros sanitarios que estén debidamente autorizados de acuerdo a la normativa vigente en las respectivas comunidades autónomas. Por último, como cualquier otro medicamento sujeto a prescripción médica, queda prohibida cualquier tipo de publicidad destinada al público en general <sup>225</sup>.

## 5.6. ENTRADA Y GESTIÓN INFORMÁTICA DE LOS DATOS. ANÁLISIS DE DATOS

La entrada de los datos de investigación se realizó mediante la tabla de variables codificadas que enumeraban las variables a analizar. La gestión informática utilizada fue el programa SPSS versión 20 para Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

### 1. Estadística descriptiva:

Para describir el perfil de la población se emplearon técnicas de estadística descriptiva univariante, usando para las variables cualitativas tablas de frecuencia y para las variables cuantitativas resúmenes numéricos: media, desviación típica, mínimo, máximo y percentiles 25, 50 y 75

### 2. Estadística inferencial:

Para el estudio comparativo entre variables se aplicaron las siguientes pruebas:

- Estudio de las asociaciones entre las variables cuantitativas con variables cualitativas:

Para el estudio comparativo de las variables se han realizado pruebas de normalidad por grupos para así conocer las pruebas más adecuadas a utilizar. El nivel de confianza utilizado es del 99 %. Las hipótesis planteadas son:

$H_0$ : Los datos siguen una distribución normal

$H_1$ : Los datos NO siguen una distribución normal

En caso de que las variables sigan una distribución normal se aplicará la prueba T y en caso de que no se produzca normalidad se aplicará la prueba U de Mann-Whitney

- Estudio de las asociaciones entre las variables cuantitativas continuas:

Se estudió la normalidad en la distribución de la muestra mediante las pruebas de normalidad de Kolmorov Smirnov y Shapiro Wilk y al mostrar los datos una distribución no normal se analizaron mediante el test no paramétrico U-de Mann-Whitney.

- Estudio de las asociaciones entre las variables cualitativas:

Para el estudio de las relaciones existentes entre las variables cualitativas se han obtenido tablas de contingencia con el estadístico chi-cuadrado o en el caso de las tablas 2x2 el estadístico exacto de Fisher. El nivel de confianza utilizado es del 99%. Las hipótesis que se plantean son:

$H_0$ : Las variables son independientes entre si

$H_1$ : Las variables NO son independientes entre sí.

- Estudio de correlación entre las variables:

Para analizar la relación entre la evolución de la cicatrización y el dolor con las variables relacionadas con la úlcera se determinó el coeficiente de correlación de Pearson, tomando como relaciones significativas aquellas que poseen una significación menor de 0,01.

## 6.RESULTADOS

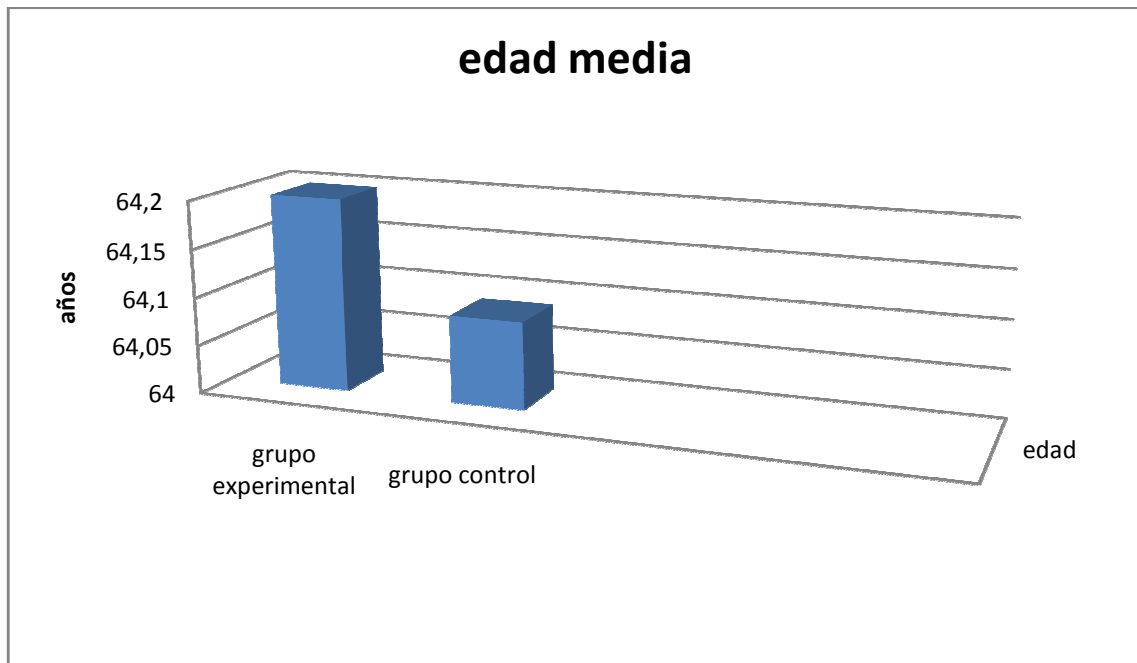
---

## RESULTADOS

### 6.1. ANALISIS DESCRIPTIVO DE LA MUESTRA

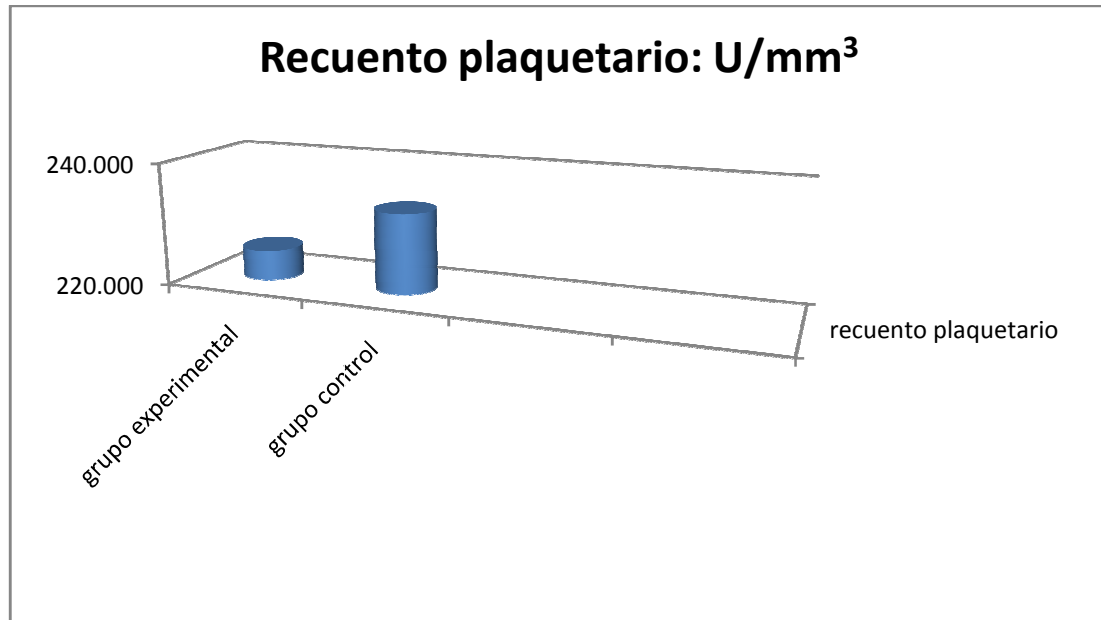
Para la realización de este estudio se atendieron un total de 61 pacientes que reunían los criterios de inclusión. Dos pacientes pertenecientes al grupo control fueron excluidos, uno debido a hospitalización por empeoramiento de situación clínica, y otro debido a no adherencia al protocolo de tratamiento propuesto. En el grupo Experimental se excluyó un paciente por intolerancia a terapia compresiva. De manera que se incluyeron un total de 58 pacientes, 29 en el grupo PRP y 29 en el grupo de cura estándar, de los que 15 eran hombres y 40 mujeres.

La edad media de la población estudiada fue de  $64,2 \pm 16,26$  en el grupo PRP, y de  $64,09 \pm 13,72$  en el grupo cura estándar (grafico 3).



**Grafico 3. Diagrama de barras: edad media en grupo experimental y control.**

En el análisis sanguíneo realizado a los pacientes estudiada presentaba valores medios de plaquetas en el grupo PRP de  $224.904 \pm 71.904$  ( $N^\circ/mm^3$ ) y de  $233.933 \pm 82.933$  ( $N^\circ/mm^3$ ) (gráfico 4).

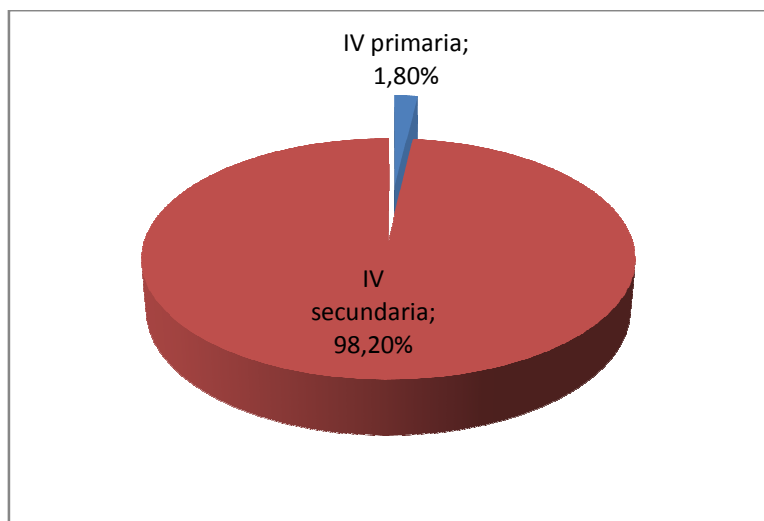


**Gráfico 4. Diagrama de barras: recuento plaquetario en grupo experimental y control.**

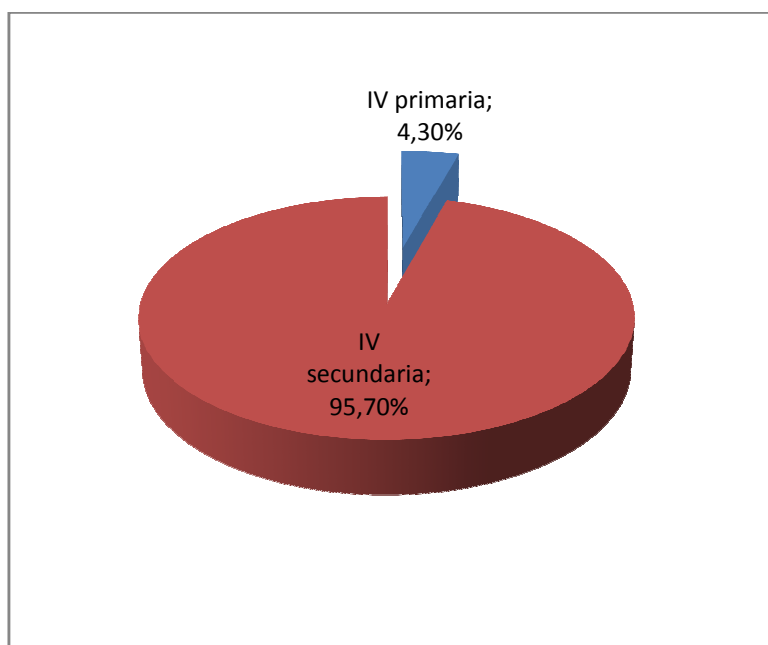
El estadio de la úlcera en función de la profundidad fue en el 100% de los casos de Grado II.

En cuanto a la variable tipo de insuficiencia venosa, un paciente del grupo PRP padecía una insuficiencia venosa primaria (1,8%) y dos pacientes del grupo cura estándar (4,3%) tenían insuficiencia venosa primaria. El resto de los pacientes, 98,2% en grupo PRP y 95,7% en grupo cura estándar padecían insuficiencia venosa secundaria (gráficos 5 y 6).





**Gráfico 5: diagrama de sectores: tipo de insuficiencia venosa en grupo experimental.**



**Gráfico 6: diagrama de sectores: tipo de insuficiencia venosa en grupo control.**

A ningún paciente perteneciente a los dos grupos de tratamiento se le apreciaron efectos secundarios.

Todos los datos relacionados con la descripción de variables tanto cualitativas como cuantitativas pueden consultarse en las Tablas 4,5 y 6.

**Tabla 4.- Variables cualitativas de los pacientes incluidos en el estudio.**

		Grupo Experimental			Grupo Control		
		n	%	Total	n	%	Total
<b>Sexo</b>	Hombre	15	27,3	55	16	34	47
	Mujer	40	72,7		31	66	
<b>Estadío</b>	Grado II	55	100	55	47	100	47
<b>Efectos secundarios tras tratamiento</b>	No efectos secundarios	55	100	55	47	100	47
<b>Tipo de Insuficiencia Venosa</b>	Insuficiencia Venosa Primaria	1	1,8	55	2	4,3	47
	Insuficiencia Venosa Secundaria	54	98,2		45	95,7	

**Tabla 5.- Variables cuantitativas en los pacientes grupo PRP.**

	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Percentiles		
					25	50	75
<b>Edad (años)</b>	64,2	16,26	21	89	52	65	78
<b>Superficie al inicio (cm<sup>2</sup>)</b>	13,69	30	0,18	187	1,3	3,3	15,6
<b>Superficie al final (cm<sup>2</sup>)</b>	9,99	29,96	0	187	0	0	7
<b>Porcentaje cicatrizado (%)</b>	67,33	41,54	0	100	16,6	100	100
<b>Tiempo evolución (seman.)</b>	41,13	67,64	1	324	5	14	45
<b>Dolor inicio (EVA)</b>	5,55	2,32	0	8	5	6	7
<b>Dolor Final (EVA)</b>	3,16	2,54	0	9	1	2	5

**Tabla 6.- Variables cuantitativas en los pacientes grupo Cura estándar.**

	Media	Desviación típica	Mínimo	Máximo	Percentiles		
					25	50	75
<b>Edad (años)</b>	64,09	13,72	40	85	50	69	75
<b>Superficie al inicio (cm<sup>2</sup>)</b>	16,67	23,87	0,9	122	3,2	7,2	19
<b>Superficie al final (cm<sup>2</sup>)</b>	12,14	19,32	0	122	2,6	0	7
<b>Porcentaje cicatrizado (%)</b>	11,17	24,4	0	100	0	0	12,5
<b>Tiempo evolución (semanas)</b>	61,19	78	2	291	8	24	96
<b>Dolor inicio (EVA)</b>	5,47	2,6	0	9	4	6	7
<b>Dolor final (EVA)</b>	4,91	2,46	0	9	3	6	7

## 6.2. ESTUDIO DE LAS VARIABLES

- Estudio de las asociaciones entre las variables cualitativas:

### A. Sexo.

En la tabla 7 se expone la distribución por sexos en el grupo experimental y control.

Tabla 7. Sexo en grupo experimental y control.

	Sexo	
	hombre	mujer
Grupo experimental	27,3%	72,7%
Grupo control	34%	66%

En los gráficos 7 y 8 se muestra diagrama de la distribución por sexos en los dos grupos de tratamiento.



Grafico 7. Diagrama de sectores: distribución por sexo en el grupo tratamiento estándar.



**Grafico 8. Diagrama de sectores: distribución por sexo en el grupo PRP.**

- ❖ Las diferencias entre los grupos experimental y control no son estadísticamente significativas ( $p = 0,299$ ) (estadístico exacto de Fisher al proceder de una tabla  $2 \times 2$ ).

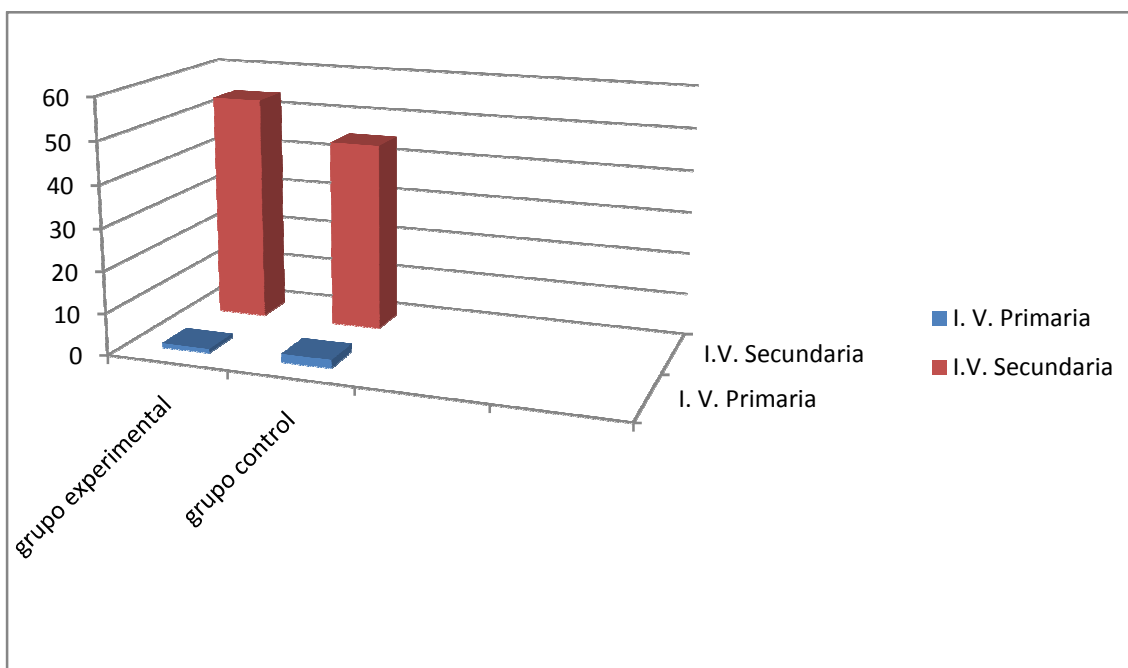
#### **B. Tipo de Insuficiencia venosa.**

En la tabla 8 se muestra el tipo de insuficiencia venosa de los pacientes en ambos grupos de estudio.

**Tabla 8. Tipo de insuficiencia venosa en los grupos experimental y control.**

	Tipo de insuficiencia venosa	
	IV primaria	IV secundaria
Grupo experimental	1,8%	98,2%
Grupo control	4,3%	95,7%

El gráfico 9 muestra diagrama de barras del tipo de insuficiencia venosa en ambos grupos de estudio.



**Gráfico 9. Diagrama de barras: tipo de insuficiencia venosa en grupo experimental y control .**

- ❖ Las diferencias entre grupo experimental y control no son estadísticamente significativas ( $p = 0,441$ ) (estadístico exacto de Fisher al proceder de una tabla  $2 \times 2$ ).

### **C. Estadío en función de la profundidad.**

En la tabla 9 se muestra el estadío de la úlcera en los pacientes de los dos grupos de estudio. Se aprecia como en todos los pacientes estudiados la úlcera ha sido Grado II.

**Tabla 9. Estadío de la úlcera en grupos experimental y control.**

	Estadío			
	Grado I	Grado II	Grado III	Grado IV
Grupo experimental	0%	100%	0%	0%
Grupo control	0%	100%	0%	0%

El estadío de las úlceras (Grado II) es claramente apreciable en la imagen 18.



**Imagen 18. Úlceras en estadío II.**

#### **D. Efectos adversos tras tratamiento.**

No se apreciaron efectos adversos en ninguno de los dos grupos de tratamiento.

▪ Estudio de las asociaciones entre las variables cuantitativas

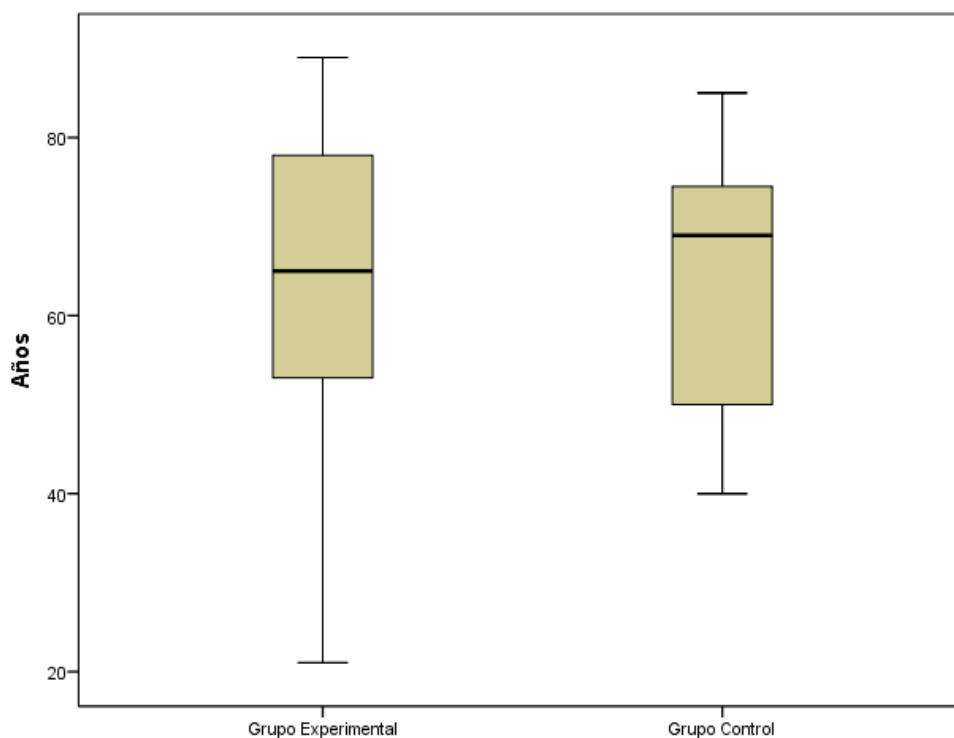
A. Edad.

La tabla 10 expone la media y desviación típica de la variable “edad” en los dos grupos de estudio.

**Tabla 10. Edad en grupos experimental y control.**

	Edad	
	Media	Desviación típica
Grupo experimental	64,2	16,26
Grupo control	64,09	13,72

El gráfico 10 muestra diagrama de cajas de la variable edad (años) en ambos grupos.



**Gráfico 10. Diagrama de caja: distribución según edad en grupo experimental y control.**



- ❖ Dichas diferencias no son estadísticamente significativas ( $p = 0,712$ ) (U de Mann-Whitney).

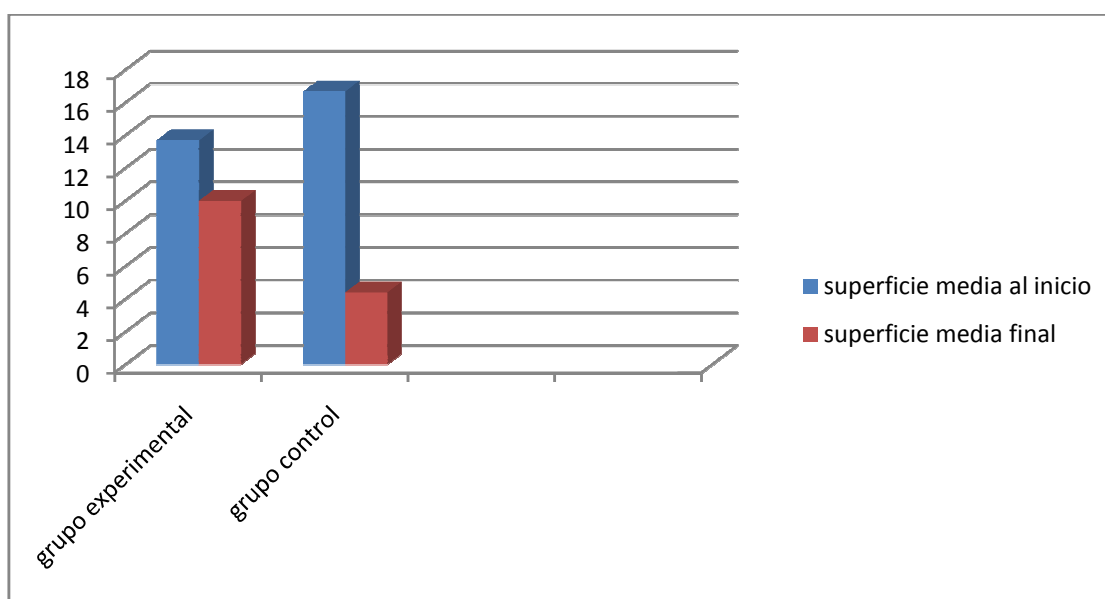
## B. Superficie de la úlcera al inicio del tratamiento.

En la tabla 11 se muestra la “superficie de la úlcera” (media y desviación típica) al inicio en ambos grupos de estudio.

**Tabla 11. Superficie de la úlcera al inicio al inicio del estudio.**

	Superficie de la úlcera al inicio del tratamiento (cm <sup>2</sup> )	
	Media	Desviación típica
<b>Grupo experimental</b>	13,69	30
<b>Grupo control</b>	16,67	23,87

El grafico 11 representa diagrama de barras de “superficie inicio/superficie final” en grupos experimental y control



**Grafico 11. Diagrama de barras: superficie al inicio- superficie al final, en grupo experimental y control**

- ❖ No se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a la variable “superficie al inicio” en los pacientes del grupo experimental y control ( $p = 0,021$ ) (U de Mann-Whitney).

### C. Superficie de la úlcera al final del tratamiento.

Media y Desviación típica de la variable “superficie de la úlcera al final del tratamiento” se muestran en la tabla 12.

**Tabla 12. Superficie de la úlcera al final del tratamiento.**

	Superficie de la úlcera al final del tratamiento (cm <sup>2</sup> )	
	Media	Desviación típica
<b>Grupo experimental</b>	9,99	29,96
<b>Grupo control</b>	12,14	19,32

- ❖ Las diferencias encontradas en la variable “superficie de la úlcera al final del tratamiento” son estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ) (U de Mann-Whitney).

El gráfico 12 muestra diagrama de barras de la superficie media de las úlceras a la finalización del tratamiento.

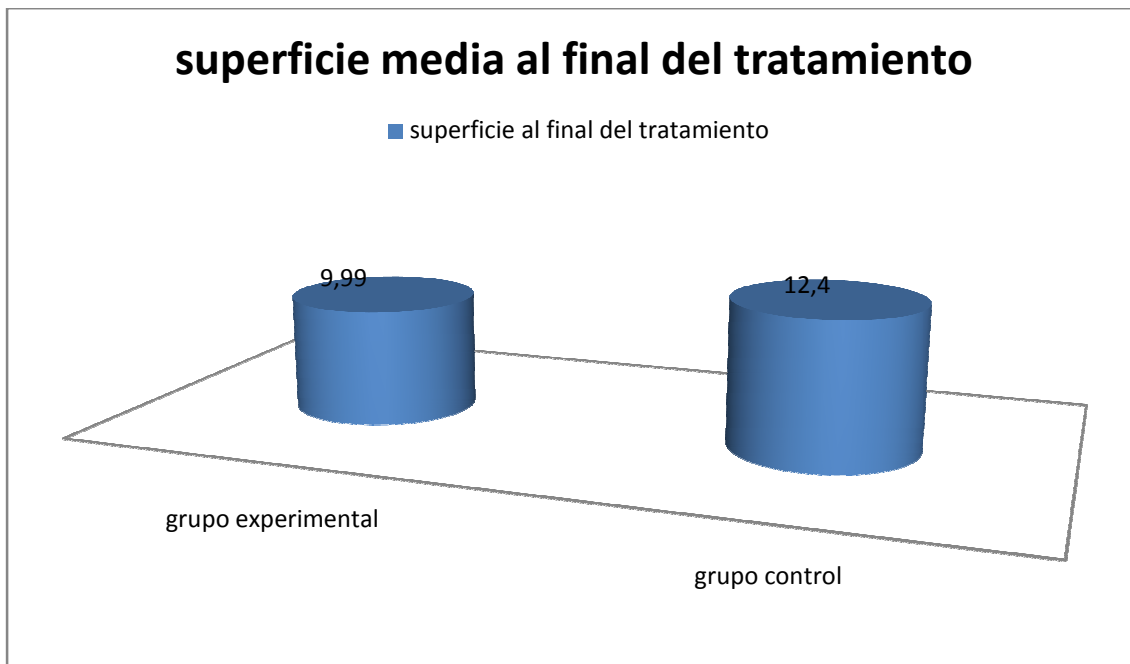


Grafico 12. Diagrama de barras: superficie de la úlcera al final del tratamiento en grupo experimental y control.

#### D. Tiempo de evolución

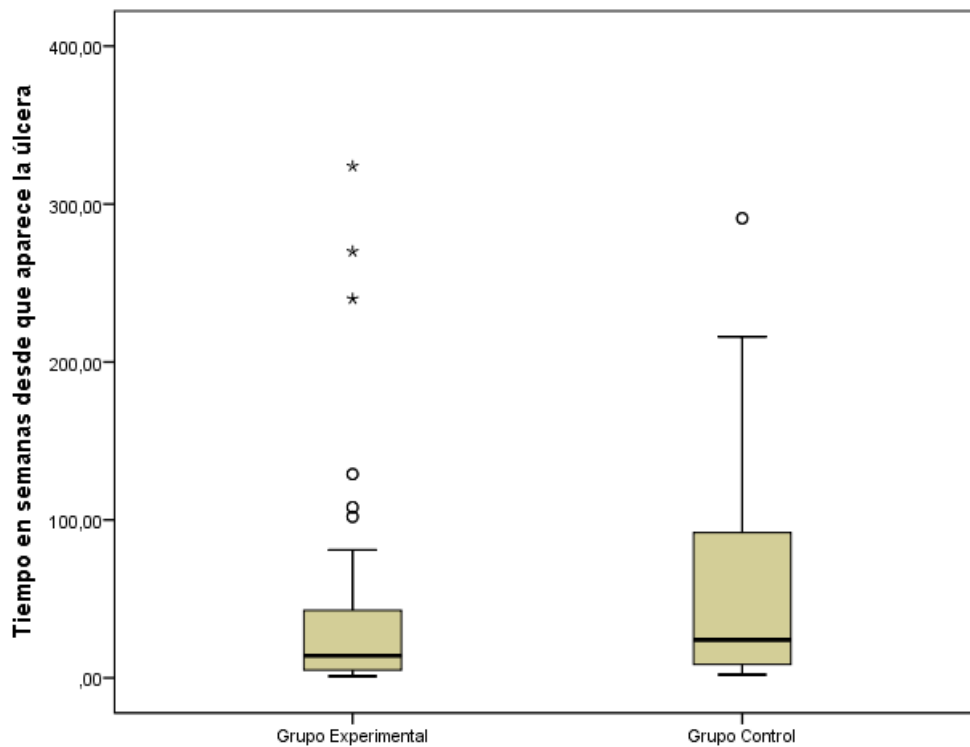
La tabla 13 muestra el análisis de la variable “tiempo de evolución” en ambos grupos de estudio.

Tabla 13. Tiempo de evolución.

	Tiempo de evolución (semanas)	
	Media	Desviación típica
<b>Grupo experimental</b>	41,13	67,64
<b>Grupo control</b>	61,19	78

- ❖ No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p= 0,043$ ) (U de Mann-Whitney) entre los grupos.

En el gráfico 13 se muestra un diagrama de caja de la variable “tiempo de evolución” en los dos grupos que se estudiaron.



**Grafico 13. Diagrama de caja: tiempo desde que aparece la úlcera en grupo experimental y control.**

#### **E. Dolor al inicio del tratamiento.**

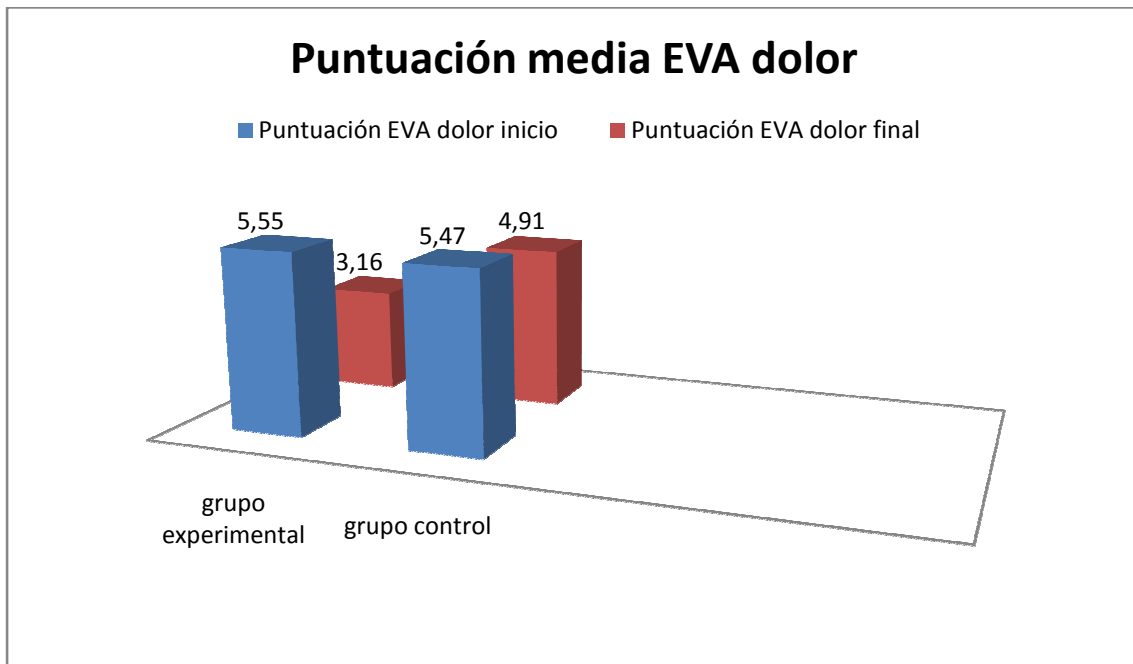
En la tabla 14 se muestra la variable “dolor al inicio del tratamiento” según puntuación escala EVA.

**Tabla 14. Dolor al inicio del tratamiento en grupo experimental y control.**

	<b>Dolor inicio tratamiento (puntuación EVA)</b>	
	Media	Desviación típica
<b>Grupo experimental</b>	5,55	2,32
<b>Grupo control</b>	5,47	2,6

- ❖ No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre grupo experimental y control ( $p = 0,792$ ) (prueba U de Mann-Whitney).

En el gráfico 14 se puede apreciar el dolor percibido según puntuación en escala EVA al inicio y al final del tratamiento en los grupos experimental y control.



**Gráfico 14. Diagrama de barras: puntuación EVA inicio/final del tratamiento en grupo experimental y control.**

### 6.3. EFECTO DEL TRATAMIENTO CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS SOBRE LA CICATRIZACIÓN Y EL DOLOR EN LAS ULCERAS VENOSAS

Para determinar el efecto del tratamiento con PRP frente a la cura estándar sobre la cicatrización en las úlceras venosas nos hemos centrado fundamentalmente en un parámetro: el porcentaje de superficie cicatrizada, el cual se determinó a partir del área que mostró la lesión al comienzo del estudio y el área que presentó la lesión al final del mismo. Nuestro estudio muestra que el tratamiento con PRP fue significativamente efectivo con respecto al tratamiento con cura estándar

Tras 24 semanas de tratamiento la superficie cicatrizada medida como el porcentaje de reducción del área inicial obtuvo una media de 67,33% y una desviación típica de 41,54 en el grupo de tratamiento con PRP. En el grupo de tratamiento con cura estándar el porcentaje de reducción del área inicial de la úlcera obtuvo de media 11,17 % y una desviación típica de 24,4. (Tabla 15).

Tabla 15. Porcentaje superficie cicatrizada en grupo experimental y control.

	Porcentaje superficie cicatrizada (%)	
	Media	Desviación típica
Grupo experimental	67,33	41,54
Grupo control	11,17	24,4

Dichas diferencias son estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ) (U de Mann-Whitney).

En los gráficos 15 y 16 apreciamos la diferencia en el porcentaje de superficie cicatrizada entre el grupo experimental y control al final del tratamiento.

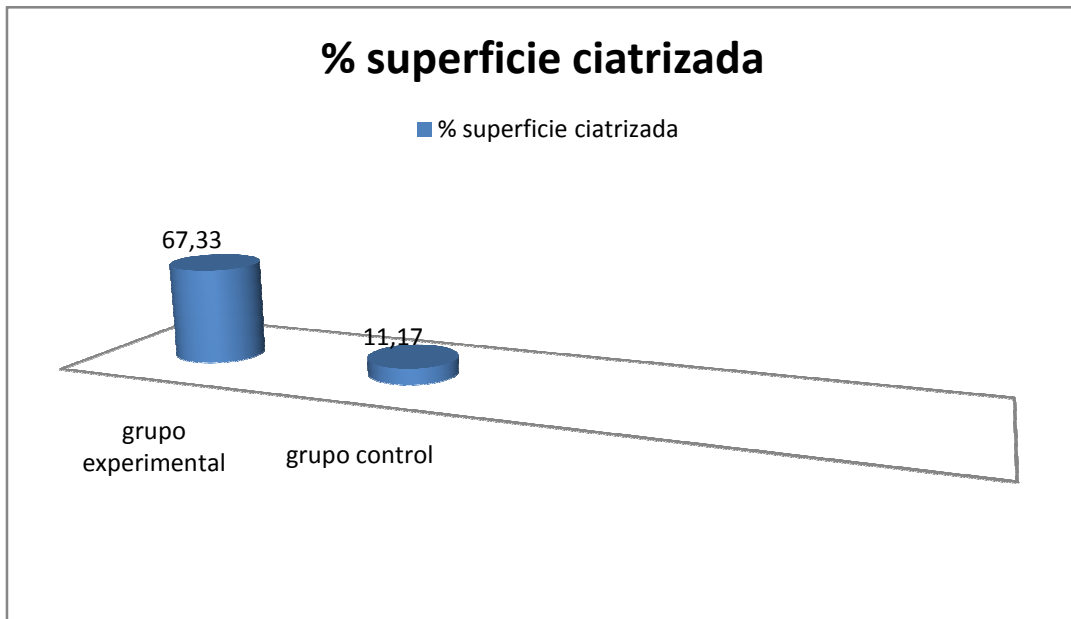


Grafico 15. Diagrama "porcentaje área cicatrizada" al final del tratamiento.

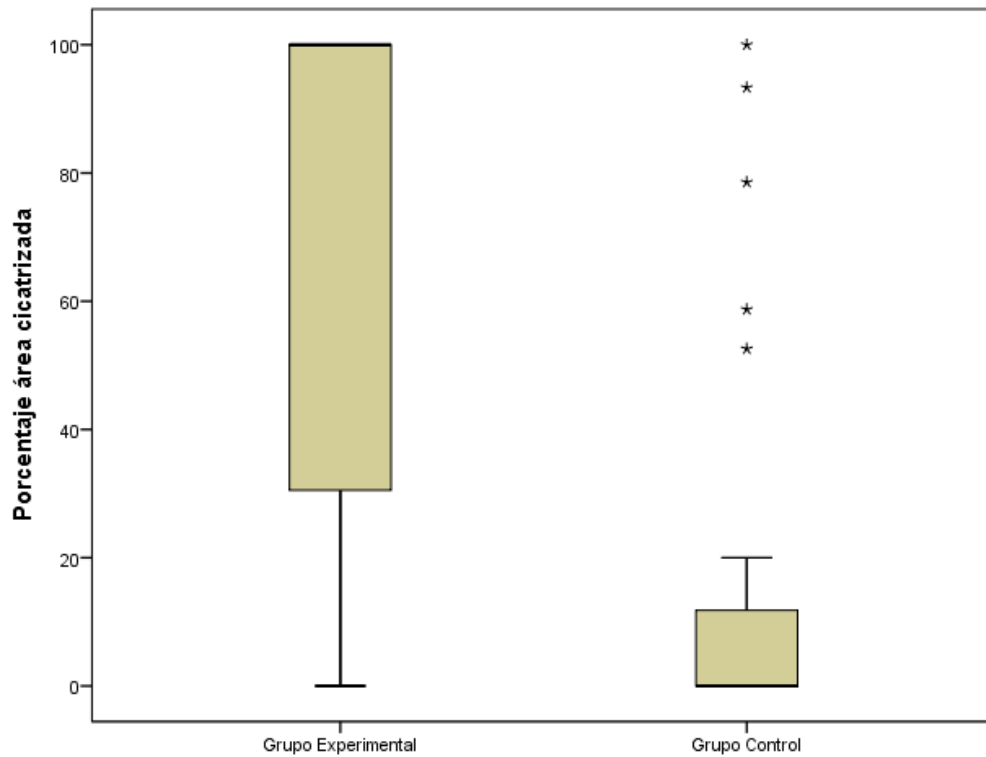


Grafico 16. Diagrama de caja "porcentaje área cicatrizada" al final del tratamiento.

Otra de las variables que consideramos de interés para el análisis de la eficacia del tratamiento con PRP es la reducción del dolor asociado a la úlcera venosa, para lo cual estudiamos la diferencia en la percepción del dolor según puntuación EVA del dolor al inicio del tratamiento y al final de éste. En el grupo tratamiento con PRP la media de puntuación en la EVA de la OMS al inicio del tratamiento fue de 5,55 y desviación típica de 2,32. Tras 24 semanas de tratamiento la media de puntuación es de 3,16 y desviación típica de 2,54 (tabla 16).

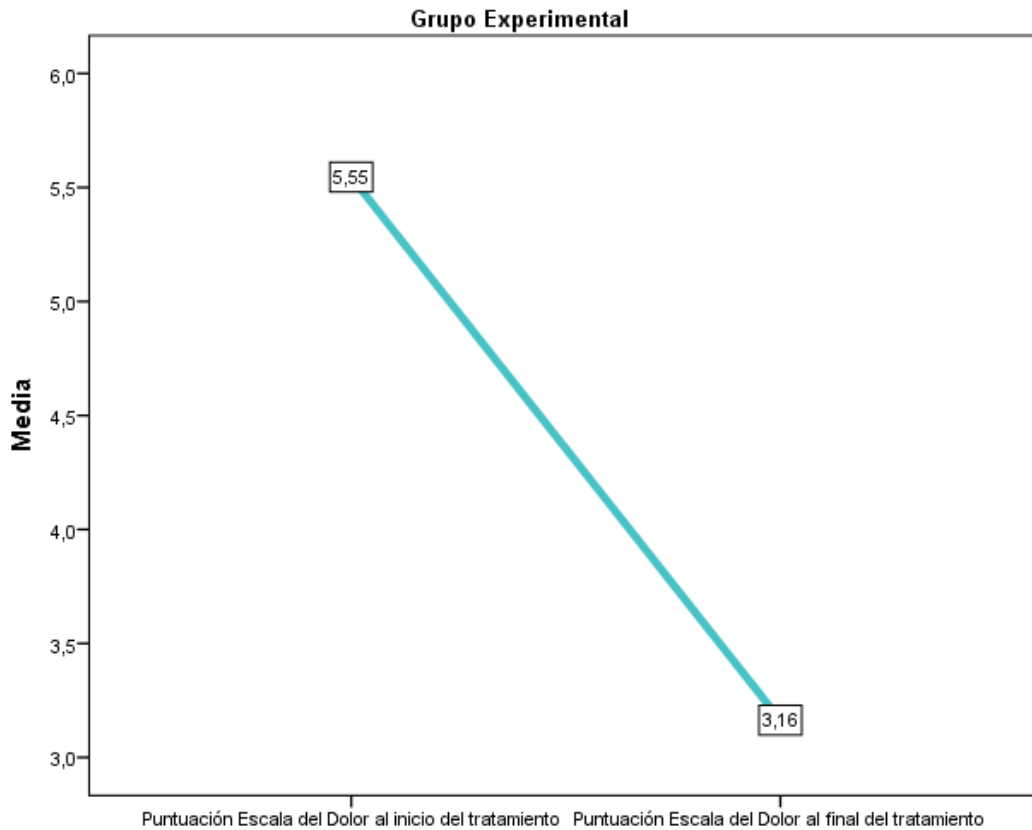
**Tabla 16. Puntuación EVA al inicio y final del estudio en grupo PRP.**

Grupo PRP	Puntuación EVA	
	media	Desviación típica
<b>Dolor al inicio</b>	5,55	2,32
<b>Dolor al final</b>	3,16	2,54

Estas diferencias son estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ) (prueba de Wilcoxon para muestras relacionadas).

En el gráfico 17 se aprecia la diferencia de puntuación en escala EVA al inicio y final del tratamiento con PRP.





**Gráfico 17. Puntuación EVA al inicio del tratamiento/ puntuación EVA al final del tratamiento.**

Se estudió también la diferencia en el dolor percibido según escala EVA al final del tratamiento para los grupos Experimental y Control, la tabla 17 muestra los datos respecto a esta variable.

Tras el análisis de contraste de hipótesis se aprecia que hay diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ), prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes.

**Tabla 17: Dolor al inicio del tratamiento y Dolor al final del tratamiento en grupos experimental y control.**

Grupo Experimental o Grupo Control			Puntuación Escala del Dolor al inicio del tratamiento	Puntuación Escala del Dolor al final del tratamiento
grupo Experimental	N	Válido	55	55
		Perdidos	0	0
	Media		5,55	3,16
	Desviación estándar		2,316	2,537
	Mínimo		0	0
	Máximo		8	9
	Percentiles	25	5,00	1,00
		50	6,00	2,00
	75	7,00	5,00	
Grupo Control	N	Válido	47	47
		Perdidos	0	0
	Media		5,47	4,91
	Desviación estándar		2,595	2,457
	Mínimo		0	0
	Máximo		9	9
	Percentiles	25	4,00	3,00
		50	6,00	6,00
	75	7,00	7,00	

#### **6.4. EFECTO DE OTRAS VARIABLES SOBRE LA CICATRIZACIÓN Y EL DOLOR EN LAS ÚLCERAS VENOSAS**

Hemos considerado de interés además del estudio de la evolución y efectividad del tratamiento con PRP en las úlceras venosas, analizar la relación de otras variables sobre la cicatrización y el dolor en los dos grupos de estudio.

Se determinó la asociación entre la variable “porcentaje de superficie cicatrizada” de las úlceras venosas y las variables “tiempo de evolución” y “superficie de la úlcera al inicio” mediante el análisis del Coeficiente de Correlación de Pearson.

Asimismo se estudió la relación de la variable “dolor al final de tratamiento” con las variables “tiempo de evolución” y “porcentaje de superficie cicatrizada”. Los resultados de este análisis en el grupo PRP se exponen en la en la tabla 18.

Se pone de manifiesto que el tratamiento con PRP resultó más eficaz en úlceras cuyo tiempo de evolución fue menor; asimismo, también tuvieron una mayor reducción de la superficie de la úlcera mientras más pequeña era ésta al comienzo del estudio (ya que aparece una relación inversa entre las variables).

Se aprecia también que existe una relación inversa entre la variable “dolor” y la variable “porcentaje de superficie cicatrizada”, siendo superior esta relación inversa en grupo de pacientes tratados con PRP que en el grupo de pacientes tratados con terapia estándar.

En el grupo de pacientes tratados con terapia estándar el análisis de correlación entre las variables indica ninguna relación lineal entre la variable “tiempo de evolución” de la úlcera y la variable “porcentaje de superficie cicatrizada” de la misma, tal como se aprecia en la tabla 19.

**Tabla 18. Correlación entre las distintas variables en el grupo experimental (Coeficiente de Correlación de Pearson).**

Correlaciones							
GRUPO EXPERIMENTAL		Superficie inicio	Superficie final	Porcentaje cicatrizado	Tiempo evolución	Dolor inicio	Dolor final
<b>Superficie inicio</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	1					
	<i>Significación (bilateral)</i>						
	<i>n</i>	55					
<b>Superficie final</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	0,979	1				
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,000					
	<i>n</i>	55	55				
<b>Porcentaje cicatrizado</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	-0,431	-0,469	1			
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,001	0,000				
	<i>n</i>	55	55	55			
<b>Tiempo evolución</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	0,572	0,604	-0,369	1		
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,000	0,000	0,006			
	<i>n</i>	55	55	55	55		
<b>Dolor inicio</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	-0,140	-0,162	-0,096	-0,471		
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,309	0,237	0,485	0,000		
	<i>n</i>	55	55	55	55		
<b>Dolor final</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	-0,002	-0,020	-0,502	-0,162	0,722	1
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,987	0,885	0,000	0,237	0,000	
	<i>n</i>	55	55	55	55	55	55

**Tabla 19. Correlación entre las distintas variables en el grupo control (Coeficiente de Correlación de Pearson).**

correlaciones							
GRUPO CONTROL		Superficie inicio	Superficie final	Porcentaje cicatrizado	Tiempo evolución	Dolor inicio	Dolor final
<b>Superficie inicio</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	1					
	<i>Significación (bilateral)</i>						
	<i>n</i>	47					
<b>Superficie final</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	0,755	1				
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,000					
	<i>n</i>	47	47				
<b>Porcentaje cicatrizado</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	0,468	-0,138	1			
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,001	0,354				
	<i>n</i>	47	47	47			
<b>Tiempo evolución</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	0,271	0,349	0,000	1		
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,066	0,016	0,998			
	<i>n</i>	47	47	47	47		
<b>Dolor inicio</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	0,052	0,011	0,046	0,076	1	
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,731	0,940	0,759	0,614		
	<i>n</i>	47	47	47	47	47	
<b>Dolor final</b>	<i>Correlación (Pearson)</i>	-0,025	0,045	-0,158	-0,079	0,924	1
	<i>Significación (bilateral)</i>	0,870	0,762	0,288	0,598	0,000	
	<i>n</i>	47	47	47	47	47	47

## **6.5.SEGURIDAD CON EL EMPLEO DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN LA ÚLCERA VENOSA**

No se registraron eventos adversos de ningún tipo relacionados con la aplicación de plasma rico en plaquetas.

## 7.DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

---

## DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Debido a la alta prevalencia y el gran impacto sobre la salud y calidad de vida de las personas, las úlceras venosas representan un importante problema asistencial, además del incremento de los costes que supone su atención. Esta situación ha dado lugar a que numerosos profesionales de la salud en los últimos años hayan estudiado nuevas estrategias en la atención de las úlceras venosas. Es sin duda el profesional de enfermería uno de los que más interés ha mostrado por este importante problema de salud, ya que sobre este personal recae la responsabilidad e interés en la mayoría de ocasiones sobre la búsqueda de alternativas en el cuidado y tratamiento de las úlceras venosas. A este respecto, es necesario desarrollar técnicas que ayuden en el proceso de cicatrización y reparación de los tejidos en las úlceras.

Los factores de crecimiento, citocinas y quimocinas son cruciales para la coordinación de múltiples tipos de células durante el proceso de curación, lo que hace posible la cicatrización de heridas cutáneas. La curación adecuada de la herida es guiada por la regulación estricta de estos agentes, así como un entorno de la herida que favorece su actividad. En la herida aguda, el proceso de curación es controlada por la acción espacio-temporal de estos factores de crecimiento, citocinas y quimocinas que conducen a través de la progresión de la curación y que resulta en el restablecimiento de la función normal de la piel. Esto contrasta con lo que sucede en la herida crónica, donde la cicatrización está detenida por un estado de inflamación crónica. Como consecuencia, la generación de un entorno proteolítico por las células inflamatorias que infiltran el sitio de la herida y ejercen un efecto sobre la regulación de las citoquinas pro-inflamatorias y quimocinas inhibe la progresión normal de la cicatrización en las



heridas. Este entorno somete diversos factores de crecimiento y citoquinas a la degradación y el secuestro en el sitio de la herida inhibiendo su función <sup>191</sup>.

Por todo lo anteriormente expuesto, en la presente tesis doctoral nos planteamos como objetivo el estudiar una nueva estrategia en el tratamiento y cuidado de las úlceras venosas que permita conocer la eficacia del PRP en la cicatrización y reducción del dolor neuropático, así como valorar la seguridad asociada a la aplicación de este producto. Nuestro estudio pretende ayudar en la normalización y estandarización de la técnica que permita mejorar la aplicación clínica del PRP en el tratamiento local de la úlcera venosa.

El PRP ha sido aplicado como alternativa al tratamiento estándar en diferentes tipos de úlceras con la finalidad de favorecer la regeneración tisular. Este preparado se utiliza como fuente de FC de carácter autólogo al objeto de propiciar la regeneración de los tejidos lesionados, y por lo tanto favorecer su cicatrización. Se trata de una herramienta que permite la aplicación de grandes cantidades de FC, que estimulan la producción de colágeno y matriz extracelular a través de cantidades mínimas de plasma, creemos que es una alternativa importante en los casos en los que los tratamientos convencionales no han tenido éxito.

Las plaquetas, un reservorio importante de factores de crecimiento en el organismo, juegan un papel esencial en muchos procesos tales como la coagulación, la respuesta inmune, la angiogénesis y la curación de los tejidos dañados. Numerosas proteínas están contenidas en los gránulos alfa de las plaquetas: factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante (TGF), factor de plaquetas interleucina (IL), el factor de angiogénesis derivado de plaquetas (PDAF), factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), factor de crecimiento epidérmico

(EGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) y fibronectina. La eficacia clínica de los concentrados de plaquetas depende principalmente del número de plaquetas y la concentración de sus factores de crecimiento, que actúan como transmisores en la mayoría de los procesos en los tejidos, particularmente en la curación donde son responsables de la proliferación, diferenciación, la quimiotaxis y la morfogénesis de los tejidos. Operan como parte de mecanismos autocrinos, paracrinos y endocrinos <sup>227</sup>.

Aunque existen estudios donde se postula que la eficacia clínica del PRP no es concluyente, una de las principales razones deriva en la utilización de diferentes preparados de PRP, provocando respuestas diferentes que no se pueden comparar. La cuantificación de plaquetas y la definición del contenido en factores de crecimiento deben definirse a fin de comprender los mecanismos moleculares que están detrás de la fuerza regenerativa del PRP <sup>228</sup>. Existen muchas variables de confusión posibles en los estudios, tanto con respecto a la variación de las características de los pacientes como las características del PRP <sup>229</sup>.

La población utilizada para llevar a cabo el presente estudio ha estado compuesta tanto por hombres como por mujeres con el perfil típico de riesgo de padecer úlceras venosas: Pacientes de edad adulta (64,14 años de media) y con predominio del sexo femenino (69,3%), con insuficiencia venosa secundaria en un porcentaje del 96,95% y un estadio II de profundidad en el 100% de los pacientes. Todos estos datos nos indican que el estudio se ha realizado sobre una muestra que representa en gran medida a la población que padece úlceras venosas. Este aspecto es de gran trascendencia, ya que los resultados aquí obtenidos serán plenamente extrapolables al terreno clínico diario.

La prevalencia y la incidencia de las úlceras venosas en las piernas, la enfermedad coronaria y otras enfermedades crónicas aumentan drásticamente con la edad. Por tanto, este sector de la población es un consumidor regular de diferentes tipos de fármacos que pueden afectar a la agregación plaquetaria y la cascada de la coagulación, pudiendo resultar un factor de confusión en los resultados de nuestro estudio. Anitua y Cols.<sup>215</sup> evaluaron si el consumo de ácido acetilsalicílico, acenocumarol, sulfato de glucosamina y sulfato de condrotina, y su presencia en la sangre, podría interferir con la preparación y los resultados biológicos de plasma rico en plaquetas, concretamente PRGF<sup>®</sup>. Evaluaron el tiempo de coagulación, la retracción del coágulo y la activación de las plaquetas del PRP. Se cuantificó contenido en factores de crecimiento y la liberación de diferentes biomoléculas por los fibroblastos, así como la proliferación celular y la migración celular. Concluyeron que la preparación y el potencial biológico del PRP (PRGF<sup>®</sup>) no se ve afectada por la ingesta de los fármacos evaluados, y únicamente su potencial angiogénico y su capacidad para inducir la síntesis de fibronectina se reduce en pacientes que toman anticoagulantes. Creemos que el efecto que podría tener el consumo de determinados fármacos de manera habitual en la población estudiada sobre los resultados en el presente estudio se encuentra controlado ya que uno de los criterios de exclusión para formar parte del estudio es el consumo de anticoagulantes<sup>215</sup>.

La valoración de los datos obtenidos en el presente estudio nos indica que la utilización de PRP en el tratamiento y cuidado de la úlcera venosa se muestra como una metodología útil que favorece la cicatrización de ésta, eficaz en la reducción del dolor local y se encuentra exenta de efectos adversos. Este hecho va unido a que es una técnica sencilla, fácil de aplicar y de bajo coste económico.

Para el análisis de la variable de resultado principal de nuestra investigación (“porcentaje de superficie cicatrizada”) hemos obtenido la determinación del área de la úlcera mediante el método de Kundin (o de la elipse):  $\text{Área} = \text{Longitud} \times \text{Anchura} \times 0,7854$ , siendo la longitud y anchura la medida de los diámetros máximos perpendiculares en la úlcera. El método de la elipse es el más acertado cuando la forma de la úlcera no es cuadrada o rectangular como es el caso de las úlceras venosas <sup>184</sup>. El método de la elipse se ha utilizado como método de medida de las úlceras en bases de datos que contienen más de 120.000 úlceras así como en ensayos clínicos aleatorizados <sup>222,230</sup>.

En la cobertura de úlcera tras la aplicación del PRP diversos estudios lo resuelven sin describir el método utilizado e indicando que aplican apósito no absorbente, otros lo resuelven mediante gasa humedecida en suero salino <sup>180</sup>. En nuestro estudio optamos por la aplicación de apósito estéril de silicona, colocado una vez que el PRP está en fase semisólida sobre la herida, aportando un material inerte que no altera el producto final y proporcionando aislamiento estéril a la herida. En la actualidad existe cierto interés por el sostenimiento de los factores de crecimiento en el lecho de la úlcera, se intenta encontrar el método que proporcione las mejores condiciones para el mantenimiento de los factores de crecimiento, de tal manera se han propuesto estudios comparativos de cobertura del PRP con lamina de hidrogel de gelatina y con apósitos hidrocoloides, sin que por el momento se hayan obtenido resultados <sup>231</sup>. En el estudio de Waniczek y Cols. <sup>192</sup> se describe el uso de una “cámara biológica” como método original de aplicación de PRP en el tratamiento de la úlcera venosa, de manera que proporcionan un medio estanco donde aplicar el PRP mediante el recubrimiento de la úlcera con una lámina con propiedades antiinflamatorias.

Diversos estudios, a la hora de valorar el dolor en las úlceras utilizan una escala que puntúa de 0 a 10 la percepción del dolor, donde 0 es “ningún dolor” y 10 es un “dolor intenso”. En nuestro estudio para la valoración de esta variable utilizamos la escala EVA, similar a la anteriormente citada, validada y ampliamente utilizada <sup>185,189,232,233</sup>.

Existen muchos métodos para elaborar PRP, todos ellos implican el uso de una centrifugadora para fraccionar la sangre, separando las células rojas de la sangre del plasma <sup>182</sup>. Las importantes diferencias en los métodos de centrifugación implican velocidad, aceleración, desaceleración, y la angulación y el radio del rotor de la centrifugadora. Otra de las diferencias en los métodos de procesamiento del PRP implica la activación de las plaquetas mediante la adición de diversos productos: trombina, cloruro cálcico, trombina con cloruro cálcico, así como el uso de un método de congelación-descongelación que lisa las plaquetas para acceder al contenido. Este último método crea un lisado de plaquetas en lugar de un producto biológico final <sup>182</sup>. Algunas preparaciones incluyen células rojas de la sangre y/o leucocitos en el gel resultante. Las diferentes preparaciones varían en sus concentraciones finales de plaquetas y la consistencia del gel resultante. Varios autores han señalado que gran parte de la variabilidad de los resultados obtenidos en la cicatrización de heridas tras el uso de PRP probablemente se debe a la diversidad de dispositivos, métodos y estrategias clínicas usadas para obtener y aplicar PRP en las úlceras. Así, los resultados obtenidos utilizando un método puede no ser representativa de todos los métodos utilizados para la preparación de PRP <sup>182</sup>.

A la hora de elaboración del PRP optamos por la técnica ideada por Anitua <sup>133</sup>, debido por un lado a que ha demostrado que un incremento del 340% en el recuento plaquetario es el adecuado, encontrándose muy próximo al que recomienda Marx del

400%<sup>114</sup>. Además Weibrich y Cols. reproducen el protocolo de Anitua y encuentran un incremento en el recuento plaquetario del 484%<sup>234</sup>. Por otro lado es una técnica que no requiere de una gran cantidad de sangre, utiliza cloruro cálcico para la activación de las plaquetas lo que evita el riesgo de coagulopatías, es fácil de obtener y no necesita una gran infraestructura.

Nuestro estudio corrobora la utilidad del PRP descrita en los estudios de Anitua, Frykberg, de León, Carter y Salazar-Álvarez en el tratamiento de heridas crónicas en general<sup>180,182-185,189</sup>.

En el presente estudio, el “porcentaje de área cicatrizado” se redujo de media  $67,7\% \pm 41,54$  en el grupo de tratamiento con PRP frente al grupo control que obtuvo  $11,17\% \pm 24,4$ ;  $p < 0,1$ . Resultados similares obtuvieron Anitua y Cols.<sup>180</sup> en su estudio sobre 14 pacientes con úlceras no isquémicas menores de  $12\text{ cm}^2$  y con amplio predominio de úlceras venosas (64%) muestran que el porcentaje de superficie sanado en el grupo PRP fue significativamente mayor que en el grupo control ( $72,94 \pm 22,25$  y  $21,48 \pm 33,56$  respectivamente;  $p < 0,5$ ); si bien en este estudio el protocolo de obtención de PRP es idéntico al utilizado en nuestro estudio, la duración del tratamiento es de 8 semanas y además de la instilación del PRP en el lecho de la ulcera, lo inyectan en los márgenes de la ésta<sup>180</sup>.

Salazar-Álvarez y Cols.<sup>189</sup> obtuvieron unos resultados parecidos: seleccionaron 11 pacientes con úlceras en miembros inferiores de etiología no isquémica con predominancia de úlceras venosas (59%), se evidenció una reducción media en el área de las úlceras del 60%. En este estudio el tiempo de tratamiento es de 4 semanas y se administró el PRP mediante inyección subcutánea perilesional y aplicación tópica<sup>189</sup>.

Frykberg y Cols.<sup>182</sup> realizan un estudio con 49 pacientes y 65 heridas de diferente etiología (de las que 16 son de etiología venosa) y con una superficie media de 19 cm<sup>2</sup>. Después de una media de 3,2 aplicaciones de PRP durante 2,8 semanas de media, obtuvieron una reducción del área de 39,5% ± 41,2, y una mejoría de las heridas en el 97% de ellas<sup>182</sup>. Donde si bien la técnica de aplicación de PRP y las curas sucesivas son similares a las de nuestro estudio, encontraron resultados bastante aceptables con un número bastante menor de aplicaciones y duración del tratamiento.

El estudio de de Leon y Cols.<sup>183</sup> mostro al igual que el nuestro una respuesta positiva en el 96,5% de las úlceras tratadas con PRP, en una media de 2,2 semanas de tratamiento y una reducción media del área de 47,5%; estudiaron 200 pacientes con 285 úlceras de distinta etiología y con una superficie media de 26 cm<sup>2</sup>, a los pacientes se les administró una o dos aplicaciones tópicas de PRP a la semana en función de las características de la úlcera<sup>183</sup>.

Carter y Cols.<sup>184</sup> realizan un estudio observacional sobre el análisis del registro de atención de 285 pacientes y 200 úlceras, donde cada úlcera se establece como control previo frente al tratamiento con PRP, el resultado fue una reducción del 15% del área de la úlcera antes del tratamiento con PRP y una reducción del 28% después del tratamiento, así como un 11% de reducción del volumen previo al tratamiento con PRP y un 39% de reducción del mismo después del tratamiento<sup>184</sup>.

En la revisión sistemática y metaanálisis de Carter y Cols.<sup>185</sup> sobre 24 trabajos publicados entre 2001 y 2011 que evaluaban el resultado del PRP en heridas agudas y crónicas concluyeron que la terapia con PRP mejoró la cicatrización completa y parcial frente al grupo control de atención de las heridas<sup>185</sup>. Los trabajos evaluados utilizaron distintas técnicas de obtención de PRP, varias técnicas distintas de aplicarlo en la herida

(inyección intralesional e instilación), diferentes productos para la activación de las plaquetas (nunca lisado) y terapias distintas como control.

En la mayoría de los estudios anteriormente citados se realizó una valoración del efecto del PRP en úlceras crónicas de diferente etiología, y aunque los datos son favorables en cuanto a la cicatrización de las heridas estudiadas, creemos que la valoración conjunta de los casos con úlceras de diferente etiología para determinar la utilidad del PRP en el tratamiento de lesiones crónicas (en la revisión de Carter y cols.<sup>185</sup> se incluyen heridas agudas), entre las que se incluyen úlceras venosas, puede interferir en la interpretación de resultados; siendo conveniente hacer una valoración por grupos de pacientes con úlceras de la misma etiología, ya que ello puede tener importantes repercusiones en el proceso evolutivo de las mismas.

Nuestros resultados difieren de otros estudios de autores como Senet y Stacey que afirman que no hay diferencias entre el grupo tratado con PRP y el grupo control en términos de cicatrización en pacientes con úlceras venosas<sup>178,235</sup>:

En el estudio de Senet y Cols.<sup>178</sup> realizaron un ensayo clínico controlado y aleatorizado durante 12 semanas de tratamiento concluyendo que no hay diferencias significativas entre la media del diámetro de las úlceras de los pacientes tratados con PRP y las del grupo control (respectivamente,  $13,7 \pm 7,9$  y  $10,9 \pm 8,4$ ; ( $p = 0,9$ )<sup>178</sup>. Stacey y Cols.<sup>235</sup> realizan un estudio sobre 86 pacientes durante 9 meses de tratamiento, concluyendo que no existen diferencias en la cicatrización del grupo de PRP y grupo control<sup>235</sup>.

Resaltar que en ambos estudios en los que no se aporta eficacia en la cicatrización de las úlceras, la técnica de elaboración del PRP difiere de la empleada en



nuestro estudio, ya que utilizan lisado de plaquetas, para la activación y liberación de FC del interior de estas.

La aplicación de PRP en nuestros pacientes ha resultado útil para mejorar el dolor localizado que presentan la mayoría de estos pacientes, hemos observado una reducción significativa en los valores asociados a la escala visual analógica del dolor de la OMS antes y después de la aplicación del tratamiento, resultados equivalentes aparecen en el estudio de Salazar-Álvarez y Cols.<sup>189</sup>, sin embargo, hay que tener en cuenta que el tiempo de tratamiento es en este estudio es considerablemente menor, y a la hora de aplicar el PRP utilizan la inyección subcutánea además de la aplicación tópica<sup>189</sup>. En el Estudio de Salazar-Álvarez y Cols.<sup>189</sup> se aplicó PRP en úlceras agudas y heridas quirúrgicas, se observó una disminución estadísticamente significativa en la cantidad de analgésicos intravenosos necesitados por los pacientes sometidos a la terapia con PRP<sup>189</sup>. Croveti y Cols.<sup>232</sup> realizan un estudio descriptivo longitudinal retrospectivo con la aplicación de gel de plaquetas en 24 pacientes con úlceras cutáneas de diversa etiología que no habían respondido a la terapia convencional. Los autores describen una reducción paulatina del dolor de la úlcera con cada aplicación de gel pero no lo analizan ni comparan con grupo control<sup>232</sup>. En el estudio de Englert y Cols.<sup>236</sup> utilizan una escala de 0 (ausencia de dolor a 10) dolor insoportable para medir el dolor en el primer y tercer día de heridas esternales y de la pierna (zona de obtención de injerto de safena) de pacientes sometidos a cirugía extracorpórea. El dolor medio referido por los pacientes en los dos tipos de heridas fue menor en el grupo experimental. La diferencia encontrada fue estadísticamente significativa ( $p = 0,001$ ). Los autores concluyen sin embargo, que el reducido tamaño muestral (15 pacientes en cada grupo) exige seguir realizando estudios más amplios con seguimiento longitudinal a largo plazo<sup>236</sup>. En la revisión y metaanálisis de Carter y Cols. encontraron un estudio

ECA que evaluó las puntuaciones de dolor según escala analógica visual a las 3 semanas, encontrando que las heridas tratadas con PRP tenían significativamente menos dolor que los pacientes del grupo control tratados con atención estándar <sup>185</sup>.

La base del dolor neuropático en las úlceras es debida a que la lesión nerviosa induce la hiperexcitabilidad de las neuronas nociceptivas como resultado de los cambios en su potencial de membrana, convirtiéndose en despolarizada, lo que disminuye su umbral de activación y aumentando su excitabilidad <sup>147</sup>. Para la resolución del proceso doloroso, la promoción de la regeneración axonal puede ser consecuencia de la liberación por parte de las plaquetas de MSCs, NGF, BDNF y la promoción de la angiogénesis <sup>147,155,156</sup>. Por lo tanto, mediante la promoción de la regeneración axonal y la restauración de las propiedades biofísicas normales del axón, las MSCs contenidas en el PRP explicarían una parte importante del mecanismo por el cual el PRP conduce a la reducción del dolor neuropático <sup>147,157</sup>. Al liberarse por parte de las plaquetas IL-17 se aumenta significativamente el número de neutrófilos que infiltran el sitio de la herida mejorando la respuesta inflamatoria hasta la resolución completa y finalizar el proceso de cicatrización, lo que conduce al restablecimiento de las propiedades biofísicas a nivel nociceptivo de los axones y la eliminación de su hiperexcitabilidad y, por tanto, el dolor neuropático <sup>147,165</sup>.

Otro aspecto importante que hemos encontrado es que ninguna de las 55 úlceras tratadas con PRP mostró signos de infección durante el estudio. Se sabe que una de las complicaciones más frecuentes e importantes en el cuidado de las úlceras venosas es la infección, que además de tener repercusiones negativas en la evolución de la herida, compromete seriamente el bienestar del paciente. En este sentido, sabemos que el gel de plaquetas presenta actividad antibacteriana. Una de las primeras descripciones de dicha actividad fue realizada por Moojen y Cols. <sup>237</sup> en 2008. Estos autores describen que el

PRP tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus Aureus*, efecto que se mostró máximo en las primeras horas del cultivo, concretamente entre las 4 a 8 horas del cultivo del microorganismo en presencia de PRP. El efecto observado no solo inhibió el crecimiento bacteriano, sino que disminuyó 100 veces el número de microorganismos del inóculo inicial, lo que sugiere que el PRP no solo tiene propiedades bacteriostáticas, sino también efecto bactericida, sobre esta población bacteriana. La actividad antimicrobiana se atribuyó inicialmente a la presencia de mieloperoxidasas en el gel de plaquetas. Sin embargo, estos autores no encontraron correlación entre la muerte bacteriana y esta actividad enzimática <sup>237</sup>.

Autores como Anitua han confirmado que el PRP en distintas formulaciones tiene efecto antibacteriano frente a distintos microorganismos, tanto Gram positivos (*Staphylococcus Aureus*, o *Staphylococcus Epidermidis*) como Gram negativos (*Escherichia coli*) <sup>137</sup>. En otros estudios sobre PRP se ha demostrado actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus Aureus* <sup>166,238,239</sup>, incluyendo el *Staphylococcus Aureus* resistente a la metilina <sup>166</sup>, *Cándida albicans*, y *Criptococcus neoformans* <sup>239</sup>. Chen y Cols. realizan un estudio in vitro para investigar el efecto antibacteriano del PRP en úlceras dérmicas de 16 pacientes diabéticos. Determinaron con su estudio que el PRP tiene efecto antibacteriano contra *Staphylococcus Aureus*, y no presenta efecto antibacteriano contra *Escherichia coli* o *Pseudomonas aeruginosa*. Además el PRP y los antibióticos pueden tener un efecto sinérgico <sup>240</sup>.

En la revisión y metaanálisis de Carter y Cols. <sup>185</sup> después de analizar 24 trabajos publicados durante 10 años comparativos, concluyen que la tasa de infección fue significativamente mayor en todos los grupos control excepto en un estudio ECA <sup>185</sup>.

En los estudios de Senet, Anitua, Salazar-Álvarez y Stacey no se describe la aparición de efectos adversos relacionados con la aplicación de PRP <sup>178,180,189,235</sup>, coincidiendo con los resultados de nuestro estudio. En la revisión de Carter y Cols. se apreciaron sustancialmente menos efectos secundarios en el grupo tratado con PRP que en el grupo control <sup>185</sup>.

En nuestro estudio no encontramos ningún evento adverso tras la aplicación de PRP. En la revisión de la literatura hemos encontrado que en general la aplicación del PRP parece ser bastante segura, en todos los ensayos clínicos encontrados que registran estos eventos no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el grupo experimental y el control <sup>189,241-244</sup>. De hecho, algunos de ellos reportan menor tasa de eventos adversos en los pacientes tratados con PRP <sup>180,189,245,246</sup>. Dada su naturaleza autóloga, el PRP es un producto seguro que carece por definición del riesgo potencial de transmisión de enfermedades implícito en el material sanguíneo procedente de donantes. La elaboración del producto final bajo estrictas condiciones de asepsia (campana de flujo laminar) ha supuesto un PRP con escasa capacidad de contaminación y por lo tanto de provocar efecto lesivo alguno a los pacientes.

Hemos encontrado relación entre la “superficie inicial de la úlcera”, el “tiempo de evolución” de ésta y la variable de resultado principal: “porcentaje de área cicatrizado”, a falta de estudios más exhaustivos en este sentido, podrían establecerse como criterios pronósticos en la respuesta al tratamiento con PRP en la úlcera venosa.

Ningún estudio sobre la eficacia de PRP en úlceras menciona esta relación. Si bien, diferentes trabajos de investigación sobre úlceras venosas sí que aportan datos sobre este aspecto. El estudio de Phillips y Cols. <sup>247</sup> para la variable de resultado principal: “curación completa” encuentra una importante relación con las variables

“área inicial de la úlcera” y la “duración de la úlcera”. Según los datos de este estudio en pacientes con área inicial de la úlcera de menos de 5 cm<sup>2</sup> se producía curación total en el 72%, para pacientes con úlceras mayores de 5 cm<sup>2</sup> la curación ocurría en un 40%.

En las úlceras que tenían duración de hasta un año se producía curación total en el 65%, úlceras con una duración de 1 a 2 años tenían una parecida tasa de curación: 61%, sin embargo las úlceras con más de 2 años la tasa de curación cae drásticamente al 29%, y 24% para las de más de 3 años <sup>247</sup>.

En este mismo sentido, Moffat y Cols. <sup>248</sup> realizaron un estudio para valorar la eficacia del vendaje compresivo de 4 capas en el tratamiento de úlceras venosas, hubo un 69% de curación a las 12 semanas de tratamiento, pero solo el 42% logró curarse en pacientes que tenían una úlcera mayor de 10 cm<sup>2</sup>; otro dato interesante de este estudio es que el 57% de los pacientes curaron su úlcera en el caso de tener más de 6 meses de duración <sup>248</sup>.

En el estudio de Margolis y Cols. <sup>230</sup> también encontraron que una superficie grande de la herida y larga duración son indicadores de un pobre resultado en cuanto a la cicatrización de la úlcera <sup>230</sup>.

En nuestro estudio para el grupo de tratamiento con PRP el valor medio de la variable “área inicial” fue de 13,69 cm<sup>2</sup>, en cuanto al “tiempo de evolución” fue de 41,13 semanas de media, y aunque los resultados aportan relación entre esas dos variables y el “porcentaje de área cicatrizada”, sería conveniente un mayor número de pacientes para determinar claros y rigurosos datos y así poder cuantificar estos criterios pronósticos para la respuesta al tratamiento del PRP en la úlcera venosa.

En resumen, los datos aquí mostrados, revelan que el uso de PRP en la regeneración de tejidos puede ser de gran utilidad en diferentes campos de la clínica,

desde la enfermería, hasta la odontología o la traumatología. Creemos que un aspecto especialmente importante a la hora de estudiar la utilidad del PRP es conocer el estado general del paciente. En este sentido, señalaremos que en nuestro estudio los pacientes presentaban un perfil bioquímico y hematológico muy próximo a lo que consideramos fisiológico o normal para este grupo de población. Esta circunstancia creemos que ha contribuido a los resultados óptimos obtenidos. No obstante, no todas las úlceras responden al tratamiento estándar, por ello pensamos que la aplicación de técnicas alternativas en el tratamiento de úlceras venosas se hace necesario, y en este sentido proponemos el uso de PRP como una técnica de bajo coste y segura para el paciente, que mejora su bienestar al acortar el tiempo de curación de la herida y reducir el dolor.

La aplicación de PRP por sí solo no es suficiente para la curación de úlceras venosas. A pesar de los nuevos enfoques en el tratamiento de las heridas crónicas, el desbridamiento debe seguir siendo un componente integral en el tratamiento de las úlceras. El desbridamiento facilita la entrega del factor de crecimiento mediante la restauración de la expresión de receptores de factores de crecimiento que no se expresan correctamente en el lecho de las heridas crónicas que no cicatrizan adecuadamente, haciendo que las células no respondan a los factores de crecimiento externos <sup>191</sup>.

Este tipo de terapia local es una nueva forma de cura tópica, y en absoluto puede desplazar la necesidad de tratar siempre que sea posible la enfermedad de base <sup>178</sup>. Lo que si intuimos en base a los resultados obtenidos es que acelera en gran medida la velocidad de curación de las úlceras venosas.

Existen algunas limitaciones en nuestro estudio:

Creemos que sería muy interesante que además de la mejoría clínica observada y constatada mediante la medición de la superficie de la úlcera, se realizara una constatación histopatológica de los fenómenos reparativos inducidos por el PRP.

Nuestro estudio encontró una importante limitación en este sentido, debido a la negativa de los pacientes a realizar biopsia de tejidos.

Entendemos que un mayor número de pacientes nos hubiera permitido cuantificar mejor los factores pronóstico señalados en el presente estudio y que correlacionan el “porcentaje de área cicatrizado” con el “área inicial”. Creemos que hubiera resultado muy útil realizar estratos de población con úlceras que al inicio del tratamiento tuvieran una superficie de “menos de 5 cm<sup>2</sup>”, de “más de 5 cm<sup>2</sup> y menos de 10 cm<sup>2</sup>”, y de “más de 10 cm<sup>2</sup>”.

Con una muestra considerablemente mayor hubiéramos podido estratificar la variable “tiempo desde que aparece la úlcera” en estratos tales que “menos de 1 mes”, “entre 1 y 6 meses”, y “más de 6 meses”; de manera que la correlación que resulta en nuestro estudio entre “porcentaje de área cicatrizado” y “tiempo de evolución” hubiera podido aportar datos más rigurosos, ya que en los resultados de este estudio solo hemos podido constatar que a menor tiempo de evolución de la úlcera existe mayor eficacia en cuanto a reducción de la superficie lesional con la aplicación de PRP.

## 8. CONCLUSIONES

---



## CONCLUSIONES

1. El protocolo de terapia local propuesto: aplicación semanal de PRP, cobertura con apósito suave de silicona, apósito secundario de gasa y vendaje monocapa; es una opción de tratamiento local que aportó buenos resultados mejorando la terapia de cura estándar.
2. La aplicación de plasma rico en plaquetas en úlceras venosas aceleró la cicatrización de éstas respecto al grupo control, con diferencias estadísticamente significativas.
3. El plasma rico en plaquetas en úlceras venosas resultó muy útil en la reducción del dolor local, con diferencias estadísticamente significativas con respecto al dolor percibido antes de la aplicación del producto y al grupo control.
4. La aplicación de plasma rico en plaquetas en úlceras venosas es una técnica segura, exenta de efectos secundarios.

## 9. PROSPECTIVA

---

## PROSPECTIVA

Nuestro estudio permite y estimamos recomendable ciertas líneas de investigación que complementarían los resultados obtenidos. En este sentido creemos que sería muy útil:

- Análisis coste-eficacia de la aplicación de PRP en úlceras. Estudio comparativo del coste en relación a la cura estándar y otras terapias locales.
  
- Resultados del efecto del PRP sobre la calidad de vida de los pacientes. Estudio en base al cuestionario Charing Cross (CCVUQ).
  
- Estudio sobre la eficacia biocida del PRP en la úlcera venosa.
  
- Valoración de la cantidad adecuada de PRP por unidad de superficie de la úlcera, así como estudio comparativo de la eficacia del PRP según modo de aplicación: irrigación versus inyección intralesional.

## 10.BIBLIOGRAFIA

---

## BIBLIOGRAFIA

1. Calderon W. Historia de la cirugía plástica mundial. Calderon. AYW, editor. Vol. Cirugía Pl. Santiago: Sociedad de cirujanos de Chile; 2001.
2. Ladin D. Understanding wound dressings. *CI Plast Surg.* 1998;25:433-41.
3. Loudon L. History of medicine. Leg ulcers in the eighteenth and early nineteenth centuries. II. Treatment. *J R Coll Gen Pract.* 1982;32:301-9.
4. Velasco M. [Diagnostic and treatment of leg ulcers]. *Actas Dermosifiliogr.* 2011;102(10):780-90.
5. Sánchez M, Andia I, Anitua E, Sanches P. Platelet rich plasma (PRP) biotechnology: Concepts and therapeutic applications in orthopedics and sports medicine. *Agbo EC Innov en Biotecnol Rijeka, Croat Intech.* 2012;113-38.
6. Conde E, Horcajada C, Suarez R. Utilidad del plasma rico en plaquetas en el tratamiento de las úlceras crónicas de la piel. *Piel Form Contin en dermatología.* 2013;29(4):284-254.
7. Marston W, Vowden K. Terapia compresiva, pautas para una práctica segura. Comprendiendo la terapia compresiva. Documento de posicionamiento EWMA. 2003.
8. Montón Echeverría J, Pérez Redondo S, Gómez Bajo GJ. Experiencia clínica en el empleo de factores de crecimiento autólogos obtenidos de plasma rico en plaquetas. *Cir Plast Ibero-Latinoamericana.* 2007;33(3):155-61.
9. Moffatt C, Vowden P, Soldevilla J. Heridas de difícil cicatrización: hacia un abordaje integral. *European Wound Management Position Document( EWMA).* Heridas de difícil cicatrización: hacia un enfoque integral. 2008.
10. González-Consuegra RV, Verdú J. Quality of life in people with venous leg ulcers: An integrative review. Vol. 67, *Journal of Advanced Nursing.* 2011. p. 926-44.
11. Van Hecke A, Grypdonck M, Beele H, De Bacquer D, Defloor T. How evidence-based is venous leg ulcer care? A survey in community settings. *J Adv Nurs.* 2009;65(2):337-47.

12. Krasner D. Painful venous ulcers: themes and stories about their impact on quality of life. *Ostomy Wound Manag.* 1998;44(9):38-46.
13. Hill DP, Poore S, Wilson J, Robson MC, Cherry GW. Initial healing rates of venous ulcers: Are they useful as predictors of healing? *Am J Surg.* 2004;188(1 SUPPL. 1):22-5.
14. Marston WA. Risk factors associated with healing chronic diabetic foot ulcers: the importance of hyperglycemia. *Ostomy Wound Manage.* 2006;52(3):26-8, 30, 32 passim.
15. Jones J, Barr W, Robinson J, Carlisle C. Depression in patients with chronic venous ulceration. *Br J Nurs.* 2006;15(11):17-23.
16. Moffat CJ, Vowden K, Price P, Vowden P. Factores psicosociales y retraso en la cicatrización. *Eur Wound Manag Position Doc EWMA) Heridas difícil cicatrización hacia un enfoque Integr.* 2008;
17. Pascarella L, Shortell CK. Medical management of venous ulcers. *Semin Vasc Surg.* Elsevier; 2015;28(1):21-8.
18. Álvarez-Fernández LJ, Lozano F, Marinello-Roura J, Masegosa-Medina JA. Encuesta epidemiológica sobre la insuficiencia venosa crónica en España: estudio DETECT-IVC 2006. Vol. 60, *Angiología.* 2008. p. 27-36.
19. Gohel MS, Barwell JR, Taylor M, Chant T, Foy C, Earnshaw JJ, et al. Long term results of compression therapy alone versus compression plus surgery in chronic venous ulceration (ESCHAR): randomised controlled trial. *BMJ.* 2007;335(7610):83.
20. Troppmann C, Pierce JL, Gandhi MM, Gallay BJ, McVicar JP, Perez R V. Higher surgical wound complication rates with sirolimus immunosuppression after kidney transplantation: a matched-pair pilot study. Vol. 76, *Transplantation.* 2003.
21. Kelechi TJ, Johnson JJ, Yates S. Chronic venous disease and venous leg ulcers: An evidence-based update. *J Vasc Nurs. Society for Vascular Nursing, Inc.;* 2015;33(2):36-46.
22. Weller C. Venous leg ulcer management in general practice. 2012;41(5).
23. Green J, Jester R. Health-related quality of life and chronic venous leg

ulceration : part 1. 2010;(December 2009).

24. Sanchez M, Azofra J, Aizpurua B, Elorriaga R, Anitua E, Andía I. Aplicación de plasma autólogo rico en factores de crecimiento en cirugía artroscópica. *Cuad Artrosc.* 2003;10(19):12-9.
25. Carrillo-Mora P, Gonzalez-Villalva A, Israel Macias-Hernandez S, Pineda-Villasenor C. Platelets-rich plasma: A versatile tool for Regenerative Medicine? *Cir Cir.* 2013;81(1):74-82.
26. Conde Montero E, Fernández Santos ME, Suárez Fernández R. Plasma rico en plaquetas: aplicaciones en dermatología. *Actas Dermosifiliogr.* 2015;106(2):104-11.
27. Bonadeo P. Le ulcere alle gambe nella storia de la medicina. *HeliosAggiornamenti wound care.* 1999;5(2):4-12.
28. Negus D. A practical approach to management. Butterwort Heinemann Ltd 241 2<sup>a</sup> Ed Oxford. 1995;
29. Tavizon OE, Alonzo L. Algunos aspectos clínico-patológicos de la úlcera de la pierna. *Dermatol Rev Mex.* 2009;53(2):80-91.
30. Marinello J. Propuesta de clasificación etiologica de las úlceras de extremidad inferior. *Todo heridas.* 2010;1(1):4-6.
31. O'Donnell TF, Passman MA. Clinical practice guidelines of the Society for Vascular Surgery (SVS) and the American Venous Forum (AVF)--Management of venous leg ulcers. Introduction. *J Vasc Surg.* agosto de 2014;60(2 Suppl):1S - 2S.
32. Kolluri R. Management of venous ulcers. *Tech Vasc Interv Radiol.* Elsevier; 2014;17(2):132-8.
33. Berardi H, Ciccioli a. Examen Doppler de la insuficiencia venosa de miembros inferiores: consenso entre especialistas. *Rev Argentina Radiol. Sociedad Argentina de Radiología;* 2015;79(2):72-9.
34. Marinello J. Úlceras de la extremidad inferior. Josep Marinello Roura G, editor. Barcelona: Glosa; 2005.
35. Nelzen O, Bergqvist D, Lindhagen A. Long-term prognosis for patients with

- chronic leg ulcers: a prospective cohort study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1997;13:500-8.
36. Kruger AJ, Raptis S, Fitridge RA. Management practices of Australian surgeons in the treatment of venous ulcers. Vol. 73, *ANZ Journal of Surgery.* 2003. p. 687-91.
  37. Persoon A, Heubeb Van Der Vleuten, C.J.M., De Rooi, J.M.J. MM, Van de Kerkhof PCM, Van Achterberg T. A review of their impact on daily life. *J Clin Nurs.* 2004;13:341-54.
  38. Van Hecke A, Verhaeghe S, Grypdonck M, Beele H, Flour M, Defloor T. Systematic development and validation of a nursing intervention: The case of lifestyle adherence promotion in patients with leg ulcers. *J Adv Nurs.* 2011;67(3):662-76.
  39. Bauersachs J, Fleming I, busse R. Pathophysiology of chronic venous insufficiency. *Phlebology.* 1996;11:16-22.
  40. Leu HJ. Morphology of chronic venous insufficiency. *Vasa.* 1991;20:330-42.
  41. Browse NL, Burnand KG. The cause of venous ulceration. *Lancet.* 1982;2(8292):243-5.
  42. Guimarães Barbosa JA, Nogueira Campos LM. Directrices para el tratamiento de úlcera venosa. *Enfermería Global.* 2010.
  43. Comerota A, Lurie F. Pathogenesis of venous ulcer. *Semin Vasc Surg. Elsevier;* 2015;28(1):6-14.
  44. Kelechi TJ, Johnson JJ, WOCN Society. Guideline for the management of wounds in patients with lower-extremity venous disease: an executive summary. *J Wound Ostomy Continence Nurs.* 39(6):598-606.
  45. Pannier F, Rabe E. Differential diagnosis of leg ulcers. *Phlebology.* marzo de 2013;28 Suppl 1:55-60.
  46. Yim E, Vivas A, Maderal A, Kirsner RS. Neuropathy and ankle mobility abnormalities in patients with chronic venous disease. *JAMA dermatology.* abril de 2014;150(4):385-9.
  47. Yamada BFA. Úlceras venosas. Abordagem multiprofissional do tratamento de



- feridas. Abordagem multiprofissional do tratamento de feridas. Sao Paulo: Atheneu; 2003.
48. Jull A, Waters J, Arroll B. Pentoxifylline for treatment of venous leg ulcers: a systematic review. *Lancet*. 2002;359(9317):1550-4.
  49. Varatharajan L, Thapar A, Davies AH. Adjunctive aspirin for venous ulcer healing. *Phleb J Venous Dis*. 1 de julio de 2014;29(6):336-7.
  50. Henry EF, Fegan W, Pegum JM. Five years survey of the treatment of varicose ulcers. *BrMedJ*. 1971;1(2):493-4.
  51. Marrocco CJ, Atkins MD, Todd Bohannon W, Warren TR, Buckley CJ, Bush RL. Endovenous ablation for the treatment of chronic venous insufficiency and venous ulcerations. *World J Surg*. 2010;34:2299-304.
  52. Samuel N, Carradice D, Wallace T, Smith GE, Chetter IC. Endovenous thermal ablation for healing venous ulcers and preventing recurrence. *Cochrane database Syst Rev*. 2013;10:CD009494.
  53. Brem H, Kirsner RS, Falanga V. Protocol for the successful treatment of venous ulcers. *Am J Surg*. 2004;188(July):1-8.
  54. Barwell JR, Davies CE, Deacon J, Harvey K, Minor J, Sassano A, et al. Comparison of surgery and compression with compression alone in chronic venous ulceration (ESCHAR study): randomised controlled trial. *Lancet* (London, England). 5 de junio de 2004;363(9424):1854-9.
  55. Gohel MS, Barwell JR, Taylor M, Chant T, Foy C, Earnshaw JJ, et al. Long term results of compression therapy alone versus compression plus surgery in chronic venous ulceration (ESCHAR): randomised controlled trial. *BMJ*. 14 de julio de 2007;335(7610):83-83.
  56. Partsch B, Partsch H. Calf compression pressure required to achieve venous closure from supine to standing positions. *J Vasc Surg*. octubre de 2005;42(4):734-8.
  57. Soldevilla J, Torra i Bau JE. Comprendiendo la terapia compresiva. *Doc Posicionamiento EWMA*. 2003;
  58. Partsch H. En que consiste la fisiopatología de la compresión. *Comprendiendo la Ter compresiva Doc posicionamiento EWMA*. 2003;

59. Nazarko L. Diagnosis and treatment of venous eczema. *Br J Community Nurs.* 2009;14(5):188-94.
60. Nelson EA, Bell-Syer SEM. Compression for preventing recurrence of venous ulcers. *Cochrane database Syst Rev.* 2014;9:CD002303.
61. Nelson EA, Hillman A, Thomas K. Intermittent pneumatic compression for treating venous leg ulcers. *Cochrane database Syst Rev.* 2014;5:CD001899.
62. Angiología D, Angiología D. Angiología Guía de práctica clínica en enfermedad venosa crónica del Capítulo de Flebología y Linfología de la Sociedad Practice guidelines in chronic venous disease from the Phlebology and. 2015;68(1).
63. Hafner J, Botonakis I, Burg G. A comparison of multilayer bandage systems during rest, exercise, and over 2 days of wear time. *Arch Dermatol.* 2000;136(7):857-63.
64. Soldevilla, J; Torra J. Documento de Posicionamiento (EWMA): comprendiendo la terapia compresiva. London MEP Ltd. 2003;
65. Moffatt C, Soldevilla J. Preparación del lecho de la herida en la practica. *European Wound Management (EWMA). Documento de posicionamiento. Wound Bed Preparation in practice.* 2004.
66. Moffat C, Morison MJ, Pina E. Preparación del lecho de la herida en la úlceras venosas de las piernas. *Doc Posicionamiento EWMA Wound bend Prep Pract.* 2004;
67. Jones AC, Lambourne LA, Moffatt CJ, Franks PJ. Community nurse education in leg ulcer management. *J Wound Care.* 1997;6(4):201-3.
68. Cutting K, Harding K. Criteria for identifying wound infection. *J Wound Care.* 1994;3(4):198-201.
69. Russell AD. Biocide use and antibiotic resistance: The relevance of laboratory findings to clinical and environmental situations. Vol. 3, *Lancet Infectious Diseases.* 2003. p. 794-803.
70. Bowler PG. Wound pathophysiology, infection and therapeutic options. *Ann Med.* 2002;34(6):419-27.

71. Trengove NJ, Stacey MC, McGeachie DF, Mata S. Qualitative bacteriology and leg ulcer healing. *J Wound Care*. 1996;5(6):277-80.
72. Cardenas GA, Gonzalez-Serva A, Cohen C. The clinical picture. Multiple leg ulcers in a traveler. *Cleve Clin J Med*. 2004;71(2):109-12.
73. Drosou A, Falabella A, Kirsner RS. Antiseptics on wounds: an area of controversy. *Wounds*. 2003;15(5):149-66.
74. Wright JB, Lam K, Olson ME. Is antimicrobial efficacy sufficient? A question concerning the benefits of new dressing. *Wounds*. 2003;15(5):133-42.
75. Fumal I, Braham C, Paquet P, Piérard-Franchimont C, Piérard GE. The beneficial toxicity paradox of antimicrobials in leg ulcer healing impaired by a polymicrobial flora: A proof-of-concept study. *En: Dermatology*. 2002. p. 70-4.
76. Cutting K. The causes and preventions of maceration of the skin. *J Wound Care*. 1998;8(4):200-1.
77. Degreef HJ. how to heal a wound fast. *Dermatolog Clin*. 1998;16(2):365-75.
78. Witkowski JA, parish LC. Topical metronidazole gel. The bacteriology of decubitus ulcers. *Int J Dermatolo*. 1991;30(9):660-1.
79. Chen WY, Abantagelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen*. 1999;7(2):79-89.
80. Falanga V, Grinnell F, Gilchrest B. Workshop on the pathogenesis of chronic wounds. *J Invest Dermatol*. 1994;102(1):125-7.
81. Barrick B, Campbell EJ, Owen CA. LeuKocyte proteinases in wound healing: roles in physiologic and pathologic processes. *Wound Repair Regen*. 1999;7(6):410-22.
82. Ennis WJ, Meneses P. Wound healing at the local level: the stunned wound. *Ostomy Wound Manage*. 2000;46(1A Suppl):39S - 48S; quiz 49S - 50S.
83. Cameron J. Skin care for patients with chronic leg ulcers. *J Wound Care*. 1998;7(9):459-62.
84. Calne S. Comprendiendo la terapia compresiva. *Eur Wound Manag Assoc*.

2012;1:20.

85. Cullum N, Nelson EA, Fletcher AW, Sheldon TA. Compression for venous leg ulcers. *Cochrane database Syst Rev*. 2001;(2):CD000265.
86. Vowden K, Vowden P. Understanding exudate management and the role of exudate in the healing process. *Br J Community Nurs*. 2003;8(11 Suppl):4-13.
87. O'Brien JA, Finlayson KJ, Kerr G, Edwards HE. Testing the effectiveness of a self-efficacy based exercise intervention for adults with venous leg ulcers: protocol of a randomised controlled trial. *BMC Dermatol*. 2014;14(1):16.
88. Andrades P, Sepúlveda S, Gonzalez J. Curación avanzada de heridas. *Rev Chil Cirugía*. 2004;56(4):396-403.
89. Restrepo-Medrano JC, Soriano JV. Desarrollo de un índice de medida de la evolución hacia la cicatrización 176 de las heridas crónicas. Vol. 22, Gerokomos. Universidad de Alicante: Departamento de Enfermería comunitaria, medicina preventiva, salud pública e historia de la ciencia; 2011. p. 176-83.
90. Hartoch RS, McManus JG, Knapp S, Buettner MF. Emergency Management of Chronic Wounds. Vol. 25, *Emergency Medicine Clinics of North America*. 2007. p. 203-21.
91. Castells A. Inmunología y dermatología. Armijo M, Camacho F, editores. Vol. Tratado de. Madrid: Grupo Paradigma; 1998.
92. Tomasek JJ, Gabbiani G, Hinz B, Chaponnier C, Brown RA. Myofibroblasts and mechano-regulation of connective tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3(5):349-63.
93. Restrepo-Medrano JC. Instrumentos de monitorización clínica y medida de la cicatrización en úlceras por presión (UPP) y úlceras de la extremidad inferior (UEI). Desarrollo y validación de un índice de medida. *Dep Enfermería Comunitaria, Med Prev Salud Pública e Hist la ciencia*. 2010;
94. García Esteo FJ, García Castellano JM, Pérez-Caballer AJ. Fundamentos de los procesos de reparación tisular: factores de crecimiento. *Rev Ortop y Traumatol*. Elsevier; 2005;49:5-16.
95. Martin P. Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*. 1997;276(5309):75-81.

96. Pines J, Rieder CL. Re-staging mitosis: a contemporary view of mitotic progression. *Nat Cell Biol.* 2001;3(1):E3-6.
97. Deuel PF. Polypeptide growth factors: Roles in normal and abnormal cell growth. *Ann Rev Cell Biol.* 1987;3:443-9.
98. Haque NS, Fallon JT, Pan JJ, Taubman MB, Harpel PC. Chemokine receptor-8 (CCR8) mediates human vascular smooth muscle cell chemotaxis and metalloproteinase-2 secretion. *Blood.* 2004;103(4):1296-304.
99. Tsou CL, Haskell CA, Charo IF. Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ -converting Enzyme Mediates the Inducible Cleavage of Fractalkine. *J Biol Chem.* 2001;276(48):44622-6.
100. Rot A, von Andrian UH. Chemokines in innate and adaptive host defense: basic chemokine grammar for immune cells. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:891-928.
101. Slavin J. The role of cytokines in wound healing. *J Pathol.* enero de 1996;178(1):5-10.
102. Schultz GS, Grant MB. Neovascular growth factors. *Eye (Lond).* 1991;5 ( Pt 2):170-80.
103. Raff MC. Size control: the regulation of cell numbers in animal development. *Cell.* 1996;86(2):173-5.
104. Guigoz Y, Vellas BJ, Garry PJ. Assessing the nutritional status of the elderly: the Mini Nutritional Assessment as part of the geriatric evaluation. *Nutr Rev.* 1996;54:S59.
105. Sandberg N. Time relationship between administration of cortisone and wound healing in rats. *Acta Chir Scand.* 1964;127:446-55.
106. Cutroneo KR, Costello D, Fuller FC. Alteration of proline hydroxylase activity by glucocorticoids. *Biochem Pharmacol.* 1971;20:2797-806.
107. Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn V, Kaushansky K, Prchal JT. Platelet morphology biochemistry and function. Vol. Williams H. New York: McGraw Hill Medical Co.; 2007.

108. Fernandez N, Hernandez P, Forrelat M. Espectro funcional de las plaquetas: de la hemostasia a la medicina regenerativa. *Rev Cuba Hematol Inmunol y Hemoter.* 2012;28(3):200-16.
109. Cañizares Proaño C. Las plaquetas. Su morfología, fisiología y patología. En: *Consideraciones sobre las enfermedades hemorrágicas y trombóticas.* Quito: Fundacyt; 1997.
110. Jovani M. El plasma rico en plaquetas en la regeneración ósea post-exodoncia. Estudio radiografico. Departamento de Estomatología. Universidad de Valencia; 2009.
111. Slater M, Patava J, Kingham K, Mason RS. Involvement of platelets in stimulating osteogenic activity. *J Orthop Res.* 1995;13(5):663-5.
112. Klinger MHF, Jelkmann W. Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res.* 2002;22(9):913-22.
113. Martinez-Gonzalez JM, Cano-Sanchez J, Gonzalo-Lafuente JC, Campo-Trapero J, Esparza-Gomez G, Seoane J. Do ambulatory-use Platelet-Rich Plasma (PRP) concentrates present risks? *Med Oral.* 2002;7(5):375-90.
114. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004;62(4):489-96.
115. Spinelli SL, Maggirwar SB, Blumberg N, Phipps RP. Nuclear emancipation: a platelet tour de force. *Sci Signal.* 2010;3(144):pe37.
116. Ombrello C, Block RC, Morrell CN. Our expanding view of platelet functions and its clinical implications. Vol. 3, *Journal of Cardiovascular Translational Research.* 2010. p. 538-46.
117. García García V, Corral I, Bascones Martínez A. Plasma Rico en Plaquetas y su utilización en implantología dental. Vol. 16, *Avances en Periodoncia e Implantología Oral.* 2004. p. 81-92.
118. Peñarrocha M, Sanchis JM, Martínez JM. Factores de crecimiento y proteínas que influyen en el crecimiento óseo: aplicaciones en implantoogía oral. *Periodoncia.* 2001;11(3):205-16.
119. Serrano V, Casas A. Factores de crecimiento: ¿Un nuevo enfoque terapéutico? *Periodoncia.* 1997;7(2):99-115.

120. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev.* 2008;22(10):1276-312.
121. Graham S, Leonidou A, Lester M, Heliotis M, Mantalaris A, Tsiridis E. Investigating the role of PDGF as a potential drug therapy in bone formation and fracture healing. *Expert Opin Investig Drugs.* 2009;18(11):1633-54.
122. Ghosh D, Lili L, McGrail DJ, Matyunina L V, McDonald JF, Dawson MR. Integral role of platelet-derived growth factor in mediating transforming growth factor- $\beta$ 1-dependent mesenchymal stem cell stiffening. *Stem Cells Dev.* 2014;23(3):245-61.
123. Ito J, Harada N, Nagashima O, Makino F, Usui Y, Yagita H, et al. Wound-induced TGF- $\beta$ 1 and TGF- $\beta$ 2 enhance airway epithelial repair via HB-EGF and TGF- $\beta$  Biochem Biophys Res Commun. 2011;412(1):109-14.
124. McNary S, Athanasiou K, Reddi AH. Transforming Growth Factor beta-Induced Superficial Zone Protein Accumulation in the Surface Zone of Articular Cartilage is Dependent on the Cytoskeleton. *Tissue Eng Part A.* 2013;
125. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, et al. Platelet-Rich Plasma: Growth Factors and Pro- and Anti-Inflammatory Properties. Vol. 78, *Journal of Periodontology.* 2007. p. 661-9.
126. Bao P, Kodra A, Tomic-Canic M, Golinko MS, Ehrlich HP, Brem H. The Role of Vascular Endothelial Growth Factor in Wound Healing. Vol. 153, *Journal of Surgical Research.* 2009. p. 347-58.
127. Kubota S, Kawata K, Yanagita T, Doi H, Kitoh T, Takigawa M. Abundant retention and release of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) by platelets. *J Biochem.* 2004;136(3):279-82.
128. Brown GL, Curtsinger LJ, White M, Mitchell RO, Pietsch J, Nordquist R, et al. Acceleration of tensile strength of incisions treated with EGF and TGF-beta. *Ann Surg.* 1988;208(6):788-94.
129. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Vol. 85, *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics.* 1998.
130. Anitua E. Un nuevo enfoque en la regeneración ósea. Plasma rico en factores de

crecimiento (PRFG). Puesta al día publicaciones SL. 2000;

131. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res.* 1999;14(11):1805-15.
132. Arnás M, Ballester JF, Molinos JR, Alvarez A. Factores de crecimiento: estado del conocimiento actual. *Rev Esp Odontostomat Implant.* 2002;10(4):202-8.
133. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. Vol. 14, *The International journal of oral & maxillofacial implants.* 1999. p. 529-35.
134. Reyes M, Montero S, Cifuentes J, Zarzar E. Actualización de la técnica de obtención y uso del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF). *Rev Dent Chile.* 2002;93(2):25-8.
135. Wroblewski AP, Mejia HA, Wright VJ. Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Oper Tech Orthop.* 2010;20(2):98-105.
136. Rodríguez Flores J, Palomar Gallego MA, Torres García-Denche J. Plasma rico en plaquetas: Fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Rev Esp Cir Oral y Maxilofac.* 2012;34(1):8-17.
137. Anitua E, Prado R, Sánchez M, Orive G. Platelet-Rich Plasma: Preparation and Formulation. *Oper Tech Orthop.* 2012;22(1):25-32.
138. 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??, Plateltext?? and one manual procedure. *Vox Sang.* 2009;97(2):110-8.
139. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent.* 2001;10(4):225-8.
140. Froum SJ, Wallace SS, Tarnow DP, Cho S-C. Effect of Platelet-Rich Plasma on Bone Growth and Osseointegration in Human Maxillary Sinus Grafts: Three Bilateral Case Reports. Vol. 22, *International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry.* 2002. p. 44-53.
141. Appel T, Potzsch B, Muller F, von Lindern J, Berge S, Reich R. Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. Vol. 13, *CLINICAL ORAL IMPLANTS RESEARCH.* 2002. p. 522-8.



142. Tsay RC, Vo J, Burke A, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg.* 2005;63(4):521-8.
143. Weibrich G, Kleis WKG, 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. Vol. 20, *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants.* 2005. p. 118-23.
144. Rodriguez-Flores J, Palomar-Gallego MA, Enguita-Valls AB, Rodriguez-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.
145. Martínez CE, Smith PC, Palma Alvarado VA. The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update. *Front Physiol.* 20 de octubre de 2015;6.
146. Oklu R, Walker TG, Wicky S, Hesketh R. Angiogenesis and Current Antiangiogenic Strategies for the Treatment of Cancer. *J Vasc Interv Radiol.* diciembre de 2010;21(12):1791-805.
147. Kuffler DP. Platelet-Rich Plasma Promotes Axon Regeneration, Wound Healing, and Pain Reduction: Fact or Fiction. *Mol Neurobiol.* 2015;52(2):990-1014.
148. Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res.* 1 de marzo de 2010;89(3):219-29.
149. He LP, Wang C, Chen DW, Li XJ, Ran XW. Dynamic changes of MMP-1, MMP-9 and TIMP-1 in the refractory diabetic dermal ulcers treated by autologous platelet-rich gel. *J Sichuan Univ (Medical Sci Ed.* 2012;43(5):757-61.
150. Moalem G, Tracey DJ. Immune and inflammatory mechanisms in neuropathic pain. *Brain Res Rev.* agosto de 2006;51(2):240-64.
151. Campbell JN, Meyer RA. Mechanisms of Neuropathic Pain. *Neuron.* 2006;52(1):77-92.
152. Nurgali K, Qu Z, Hunne B, Thacker M, Pontell L, Furness JB. Morphological and functional changes in guinea-pig neurons projecting to the ileal mucosa at early stages after inflammatory damage. *J Physiol.* 15 de enero de

2011;589(2):325-39.

153. Jankowski MP, Lawson JJ, McIlwrath SL, Rau KK, Anderson CE, Albers KM, et al. Sensitization of cutaneous nociceptors after nerve transection and regeneration: possible role of target-derived neurotrophic factor signaling. *J Neurosci*. 11 de febrero de 2009;29(6):1636-47.
154. Goel RK, Suri V, Suri A, Sarkar C, Mohanty S, Sharma MC, et al. Effect of bone marrow-derived mononuclear cells on nerve regeneration in the transection model of the rat sciatic nerve. *J Clin Neurosci*. septiembre de 2009;16(9):1211-7.
155. Wang Y, Jia H, Li W-Y, Tong X-J, Liu G-B, Kang S-W. Synergistic effects of bone mesenchymal stem cells and chondroitinase ABC on nerve regeneration after acellular nerve allograft in rats. *Cell Mol Neurobiol*. abril de 2012;32(3):361-71.
156. Wang X, Luo E, Li Y, Hu J. Schwann-like mesenchymal stem cells within vein graft facilitate facial nerve regeneration and remyelination. *Brain Res*. 6 de abril de 2011;1383:71-80.
157. Hernández J, Torres-Espín A, Navarro X. Adult stem cell transplants for spinal cord injury repair: current state in preclinical research. *Curr Stem Cell Res Ther*. septiembre de 2011;6(3):273-87.
158. Emel E, Ergün SS, Kotan D, Gürsoy EB, Parman Y, Zengin A, et al. Effects of insulin-like growth factor-I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. *J Neurosurg*. febrero de 2011;114(2):522-8.
159. Elgazzar RF, Mutabagani MA, Abdelaal SE, Sadakah AA. Platelet rich plasma may enhance peripheral nerve regeneration after cyanoacrylate reanastomosis: a controlled blind study on rats. *Int J Oral Maxillofac Surg*. agosto de 2008;37(8):748-55.
160. Yu W, Wang J, Yin J. Platelet-Rich Plasma: A Promising Product for Treatment of Peripheral Nerve Regeneration After Nerve Injury. *Int J Neurosci*. 2 de marzo de 2011;121(4):176-80.
161. Wu C-C, Wu Y-N, Ho H-O, Chen K-C, Sheu M-T, Chiang H-S. The neuroprotective effect of platelet-rich plasma on erectile function in bilateral cavernous nerve injury rat model. *J Sex Med*. noviembre de 2012;9(11):2838-48.
162. Cho H-H, Jang S, Lee S-C, Jeong H-S, Park J-S, Han J-Y, et al. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve

- regeneration in an acute nerve injury model. *Laryngoscope*. mayo de 2010;120(5):907-13.
163. Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope*. enero de 2007;117(1):157-65.
  164. Takeuchi M, Kamei N, Shinomiya R, Sunagawa T, Suzuki O, Kamoda H, et al. Human platelet-rich plasma promotes axon growth in brain-spinal cord coculture. *Neuroreport*. 22 de agosto de 2012;23(12):712-6.
  165. Kim CF, Moalem-Taylor G. Interleukin-17 contributes to neuroinflammation and neuropathic pain following peripheral nerve injury in mice. *J Pain*. marzo de 2011;12(3):370-83.
  166. Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Król W, Wielkoszynski T. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *J Bone Joint Surg Br*. 2007;89(3):417-20.
  167. Mariani E, Filardo G, Canella V, Berlingeri A, Bielli A, Cattini L, et al. Platelet-rich plasma affects bacterial growth in vitro. *Cytotherapy*. 2014;16(9):1294-304.
  168. Li H, Li B. PRP as a new approach to prevent infection: preparation and in vitro antimicrobial properties of PRP. *J Vis Exp*. 2013;(74):1-7.
  169. Drago L, Bortolin M, Vassena C, Taschieri S, Del Fabbro M. Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity. *BMC Microbiol*. 2013;13(1):47.
  170. Beca T, Hernández G, Morante S, Bacones A. Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. *Av Periodon Implant*. 2007;19(1):39-52.
  171. Angel MJM, Sgaglione NAM, Grande DAP. Clinical Applications of Bioactive Factors in Sports Medicine: Current Concepts and Future Trends. *Sport Med Arthrosc Rev*. 2006;
  172. Eghbali-Fatourehchi GZ, Lamsam J, Fraser D, Nagel D, Riggs BL, Khosla S. Circulating osteoblast-lineage cells in humans. *N Engl J Med*. 2005;352(19):1959-66.
  173. Pignolo RJ, Kassem M. Circulating osteogenic cells: Implications for injury,

- repair, and regeneration. Vol. 26, *Journal of Bone and Mineral Research*. 2011. p. 1685-93.
174. De La Mata J. Plasma rico en plaquetas: ¿un nuevo tratamiento para el reumatólogo? Vol. 9, *Reumatología Clínica*. 2013. p. 166-71.
  175. Anitua E, Prado R, Orive G. A New Regulatory Framework for Platelet-Rich Plasma in Spain. *J Knee Surg*. 30 de abril de 2015;28(04):355-6.
  176. Serra R, Buffone G, Dominijanni A, Molinari V, Montemurro R, de Francis S. Application of platelet-rich gel to enhance healing of transmetatarsal amputations in diabetic dysvascular patients. *Int Wound J*. 2013;10(5):612-5.
  177. Reutter H, Bort S, Jung MF, Klyszcz T, Schippert W, Zuder D, et al. [Questionable effectiveness of autologous platelet growth factors (PDWHF) in treatment of venous ulcers of the leg]. *Hautarzt*. 1999;50(12):859-65.
  178. Senet P, Bon FX, Benbunan M, Bussel A, Traineau R, Calvo F, et al. Randomized trial and local biological effect of autologous platelets used as adjuvant therapy for chronic venous leg ulcers. *J Vasc Surg*. 2003;38(6):1342-8.
  179. Rivellini C, Mastromarino A, Rughetti A, Dell'Orso L, Masturzo M, Ventura M. The effectiveness of platelet gel in neoangiogenesis and tissue regeneration in «vascular» patients presenting trophic lesions resistant to local treatment. *Ital J Vasc Endovasc Surg*. 2004;11(4):155-61.
  180. Anitua E, Aguirre J, Algorta J, Ayerdi E, Cabezas A, Orive G, et al. Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. Vol. 84B, *JOURNAL OF BIOMEDICAL MATERIALS RESEARCH PART B-APPLIED BIOMATERIALS*. 2008. p. 415-21.
  181. Martinez-Zapata M, Marti-Carvajal A, Sola I, Bolibar I, Exposito J, Rodriguez L, et al. Efficacy and safety of the use of autologous plasma rich in platelets for tissue regeneration: a systematic review. Vol. 49, *TRANSFUSION*. 2009. p. 44-56.
  182. Frykberg RG, Driver VR, Carman D, Lucero B, Borris-Hale C, Fylling CP, et al. Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet-rich plasma gel: a prospective case series. *Ostomy Wound Manage*. 2010;56(6):36-44.
  183. de Leon JM, Driver VR, Fylling CP, Carter MJ, Anderson C, Wilson J, et al. The

- clinical relevance of treating chronic wounds with an enhanced near-physiological concentration of platelet-rich plasma gel. *Adv Skin Wound Care*. 2011;24(8):357-68.
184. Carter MJ, Fylling CP, Li WW, de Leon J, Driver VR, Serena TE, et al. Analysis of run-in and treatment data in a wound outcomes registry: Clinical impact of topical platelet-rich plasma gel on healing trajectory. *Int Wound J*. 2011;8(6):638-50.
  185. Carter MJ, Fylling CP, Parnell LKS. Use of platelet rich plasma gel on wound healing: a systematic review and meta-analysis. *Eplasty*. 2011;11:e38.
  186. Martinez-Zapata MJ, Martí-Carvajal AJ, Solà I, Expósito JA, Bolívar I, Rodríguez L, et al. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *Cochrane database Syst Rev*. 2012;10(10):CD006899.
  187. Suryanarayan S, Budamakuntala L, Suresh D, Sarvajnamurthy S. Autologous platelet rich plasma in chronic venous ulcers: Study of 17 cases. *J Cutan Aesthet Surg*. 2013;6(2):97.
  188. Bogdan VG, Tolstov DA. Prospective randomized clinical trials of efficiency of autologous platelet-derived concentrates to stimulate regeneration of trophic ulcers of venous etiology. Vol. 22, *Surgery News / Novosti Hirurgii*. 2014. p. 344-50.
  189. Salazar-Álvarez AE, Riera-del-Moral LF, García-Arranz M, Álvarez-García J, Concepción-Rodríguez NA, Riera-de-Cubas L. Use of Platelet-Rich Plasma in the Healing of Chronic Ulcers of the Lower Extremity. *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Ed)*. 2014;105(6):597-604.
  190. Yilmaz S, Aksoy E, Doganci S, Yalcinkaya A, Diken AI, Cagli K. Autologous platelet-rich plasma in treatment of chronic venous leg ulcers: A prospective case series. *Vascular*. 2014;
  191. De Pascale MR, Sommese L, Casamassimi A, Napoli C. Platelet Derivatives in Regenerative Medicine: An Update. *Transfus Med Rev*. 2015;29(1):52-61.
  192. Waniczek D, Mikusek W, Kamiński T, Wesecki M, Lorenc Z, Cieślik-Bielecka A. The «biological chamber» method – use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in the treatment of poorly healing lower-leg ulcers of venous origin. *Polish J Surg*. 2015;87(6).
  193. Driver VR, Hanft J, Fylling CP, Beriou JM. A prospective, randomized,

controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy Wound Manage.* 2006;52(6):68-70, 72, 74 passim.

194. Knox RL, Hunt AR, Collins JC, DeSmet M, Barnes S. Platelet-rich plasma combined with skin substitute for chronic wound healing: a case report. Vol. 38, *The Journal of extra-corporeal technology.* 2006. p. 260-4.
195. Yuan NB, Wang C, Wang Y, Yu TT, Shu SQ, Liu M, et al. The preliminary application of autologous platelet-rich gel used to treat refractory diabetic dermal ulcer. *J Sichuan Univ (Medical Sci Ed.* 2007;38(5):900-3.
196. Yuan NB, Yang L, Zhang XX, Ran XW. Study on the mechanism of autologous platelet-rich gel to treat the refractory diabetic dermal ulcers. *J Sichuan Univ (Medical Sci Ed.* 2009;40(2):292-4.
197. Villela DL, Santos VLCG. Evidence on the use of platelet-rich plasma for diabetic ulcer: a systematic review. *Growth Factors.* 2010;28(2):111-6.
198. He JD, Xiao-bo O, Zhang L, Yang XR, Wu QR. Autologous platelet-rich gel for diabetic foot ulcer: A systematic review of randomized controlled trials. Vol. 10, *Chinese Journal of Evidence-Based Medicine.* 2010. p. 838-41.
199. Saad Setta H, Elshahat A, Elsherbiny K, Massoud K, Safe I. Platelet-rich plasma versus platelet-poor plasma in the management of chronic diabetic foot ulcers: A comparative study. *Int Wound J.* 2011;8(3):307-12.
200. Sell S, Ericksen J, Reis T, Droste L, Bhuiyan M, Gater D. A case report on the use of sustained release platelet-rich plasma for the treatment of chronic pressure ulcers. Vol. 34, *JOURNAL OF SPINAL CORD MEDICINE.* 2011. p. 122-7.
201. Kim SA, Lee KS, Cho JW. Therapeutic trial of platelet-rich plasma for superficial ulcers caused by herpes zoster. *Korean J Dermatology.* 2011;49(10):918-22.
202. Rappl LM. Effect of platelet rich plasma gel in a physiologically relevant platelet concentration on wounds in persons with spinal cord injury. *Int Wound J.* 2011;8(2):187-95.
203. Enríquez-Vega ME, Bobadilla-Flores NO, Rodríguez-Jiménez ÓA, Guerra-Márquez Á, Carrasco-Nava L, Varela-Silva J. Plasma rico en plaquetas para el tratamiento de úlceras isquémicas del paciente diabético. *Rev Mex Angiol.* 2012;40(2):51-6.

204. Tzeng YS, Deng SC, Wang CH, Tsai JC, Chen TM, Burnouf T. Treatment of nonhealing diabetic lower extremity ulcers with skin graft and autologous platelet gel: A case series. *Biomed Res Int.* 2013;2013.
205. Li L, Wang C, Wang Y, He LP, Yang YZ, Chen LH, et al. Impact of topical application of autologous platelet-rich gel on medical expenditure and length of stay in hospitals in diabetic patients with refractory cutaneous ulcers. *J Sichuan Univ (Medical Sci Ed.* 2012;43(5):762-5.
206. Ramos-Torrecillas J, De Luna-Bertos E, García-Martínez O, Díaz-Rodríguez L, Ruiz C. Use of Platelet-Rich Plasma to Treat Pressure Ulcers. *J Wound, Ostomy Cont Nurs.* 2013;40(2):198-202.
207. Tashnizi MA, Alamdari DH, Khayami ME, Rahimi HR, Moeinipour A, Amouzeshi A, et al. Treatment of non-healing sternum wound after open-heart surgery with allogenic platelet-rich plasma and fibrin glue-preliminary outcomes. *Indian J Plast Surg.* 2013;46(3):538-42.
208. Kim DH, Oh GN, Kim JY, Choi JE, Ahn HH, Kye YC, et al. Successful treatment of nicolau syndrome with platelet rich plasma. *Korean J Dermatology.* 2013;51(1):69-71.
209. Rallis E, Falidas E, Villias C. Amyopathic dermatomyositis-associated bilateral elbow ulcers successfully treated with autologous platelet-rich plasma. *Int J Dermatol.* 2014;53(1):e50-2.
210. Latorre, A.; del Rincón J. Bases Metodológicas de la investigación educativa. Experiencia E, editor. Barcelona; 1994.
211. Polit DF, Hungler BP. Investigación científica en ciencias de la salud. Vol. Sexta. Mexico: Mcgraw-Hill Interamericana; 2000.
212. Argimon, JM.; Jimenez J. Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica. Mosby Doyma, editor. Barcelona; 2004.
213. Cobos-Carbó A, Augustovski F. Declaración CONSORT 2010: actualización de la lista de comprobación para informar ensayos clínicos aleatorizados de grupos paralelos. *Med Clin (Barc).* 2011;137(5):213-5.
214. Cobos-carbó A. Ensayos clínicos aleatorizados ( CONSORT ). 2001;21-7.
215. Anitua E, Troya M, Zalduendo M, Orive G. Effects of anti-aggregant, anti-

- inflammatory and anti-coagulant drug consumption on the preparation and therapeutic potential of plasma rich in growth factors (PRGF). *Growth Factors*. 2015;33(1):57-64.
216. Schippinger G, Pruller F, Divjak M, Mahla E, Fankhauser F, Rackemann S, et al. Autologous Platelet-Rich Plasma Preparations: Influence of Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs on Platelet Function. *Orthop J Sport Med*. 24 de junio de 2015;3(6).
  217. Troppmann C, Pierce JL, Gandhi MM, Gallay BJ, McVicar JP, Perez R V. Higher surgical wound complication rates with sirolimus immunosuppression after kidney transplantation: a matched-pair pilot study. *Transplantation*. 2003;76(2):426-9.
  218. Burns J, Pieper B. HIV/AIDS: impact on healing. *Ostomy Wound Manage*. 2000;46(3):30-40, 42, 44 passim; quiz 48-9.
  219. Troxler, K. Vowden, M. Vowden M. Integrating adjunctive therapy into practice: the importance of recognising «hard-to-heal» wounds [Internet]. *World wide wounds*. 2006. p. 9-9. Recuperado a partir de: <http://www.worldwidewounds.com/2006/december/Troxler/>
  220. Guerra, J.A.; Escamilla, M.; Ruda, C.; Medina, M.J.; Arcos, C.; Acedo, F.; Mendizabal L. MAK. Tratamiento no etiológico de heridas con factores de crecimiento derivados de plaquetas. *Cirugía Andaluza*. 2012;23(2).
  221. Margolis DJ, Berlin JA, Strom B. Risk factors associated with the failure of a venous ulcer to heal. *Arch Dermatol*. 1999;135:920-6.
  222. Blume PA, Walters J, Payne W, Ayala J, Lantis J. Comparison of negative pressure wound therapy using vacuum-assisted closure with advanced moist wound therapy in the treatment of diabetic foot ulcers: a multicenter randomized controlled trial. *Diabetes Care*. 2008;31(4):631-6.
  223. Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, 2008. *Bioética debat Trib abierta del Inst Borja Bioética*. 2009;56:1-5.
  224. Ley Orgánica 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de carácter Personal. 1999.
  225. INFORME/V1/23052013 Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas. 2013.



226. Reglamento (CE) n° 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo de 13 de Noviembre de 2007 sobre medicamentos de terapia avanzada. 2007.
227. Lubkowska A, Dolegowska B, Banfi G. Growth factor content in PRP and their applicability in medicine. Vol. 26, Journal of biological regulators and homeostatic agents. 2012.
228. Amable PR, Carias RBV, Teixeira MVT, da Cruz Pacheco I, Corrêa do Amaral RJF, Granjeiro JM, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. Stem Cell Res Ther. 2013;4(3):67.
229. Pinto JMN, Pizani NS, Kang HC, Silva LAK. Application of platelet-rich plasma in the treatment of chronic skin ulcer - Case report. An Bras Dermatol. 2014;89(4):638-40.
230. Margolis DJ, Kantor J, Berlin JA. Healing of diabetic neuropathic foot ulcers receiving standard treatment: A meta-analysis. Diabetes Care. 1999;22(5):692-5.
231. Morimoto N, Kakudo N, Matsui M, Ogura T, Hara T, Suzuki K, et al. Exploratory clinical trial of combination wound therapy with a gelatin sheet and platelet-rich plasma in patients with chronic skin ulcers: study protocol. BMJ Open. 2015;5(5):e007733-e007733.
232. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. Transfus Apher Sci. 2004;30(2):145-51.
233. Englert SJ, Estep TH, Ellis-Stoll CC. postoperative surgical chest and leg incision sites using platelet gel: a retrospective study. J Extra Corpor Technol. 2008;40(4):225-8.
234. Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. Bone. 2004;34(4):665-71.
235. Stacey M, Mata S, Trengove N, Mather C. Randomised double-blind placebo controlled trial of tropical autologous platelet lysate in venous ulcer healing. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2000;20(3):296-301.
236. Englert SJ, Estep TH, Ellis-Stoll CC. Autologous platelet gel applications during cardiovascular surgery: effect on wound healing. Vol. 37, The Journal of extra-corporeal technology. 2005.

237. Moojen DJF, Everts PAM, Schure RM, Overdeest EP, Van Zundert A, Knape JTA, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against staphylococcus aureus. *J Orthop Res.* 2008;26(3):404-10.
238. Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. *Yale J Biol Med.* 2010;83(1):1-9.
239. Tang Y-Q, Yeaman MR, Selsted ME. Antimicrobial peptides from human platelets. *Infect Immun.* 2002;70(12):6524-33.
240. Chen L, Wang C, Liu H, Liu G, Ran X. Antibacterial effect of autologous platelet-rich gel derived from subjects with diabetic dermal ulcers in vitro. *J Diabetes Res.* 2013;2013.
241. McAleer JP, Sharma S, Kaplan EM, Persich G. Use of autologous platelet concentrate in a nonhealing lower extremity wound. *Adv Skin Wound Care.* septiembre de 2006;19(7):354-63.
242. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci.* abril de 2004;30(2):145-51.
243. O'Connell SM, Impeduglia T, Hessler K, Wang X-J, Carroll RJ, Dardik H. Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers. *Wound Repair Regen.* 16(6):749-56.
244. Margolis DJ, Allen-Taylor L, Hoffstad O, Berlin JA. Diabetic neuropathic foot ulcers: the association of wound size, wound duration, and wound grade on healing. *Diabetes Care.* octubre de 2002;25(10):1835-9.
245. Driver VR, Hanft J, Fylling CP, Beriou JM, Autogel Diabetic Foot Ulcer Study Group. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy Wound Manage.* junio de 2006;52(6):68-70, 72, 74 passim.
246. Saldalamacchia G, Lapice E, Cuomo V, De Feo E, D'Agostino E, Rivellese AA, et al. A controlled study of the use of autologous platelet gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* diciembre de 2004;14(6):395-6.
247. Phillips TJ, Machado F, Trout R, Porter J, Olin J, Falanga V. Prognostic indicators in venous ulcers. Vol. 43, *Journal of the American Academy of*

Dermatology. 2000.

248. Moffatt CJ, Franks PJ, Oldroyd M, Bosanquet N, Brown P, Greenhalgh RM, et al. Community clinics for leg ulcers and impact on healing. Vol. 305, British Medical Journal. 1992. p. 1389-92.

## 11.ANEXOS

---

## Anexo I. Hoja de recogida de datos.

REGISTRO DE CURAS	GRUPO:	Nº REGISTRO
<i>Nombre:</i>  <i>Fecha Nacimiento:</i>  <i>Género:</i>  <i>Estado Civil:</i>  <i>Centro Sanitario de procedencia:</i>	<i>Patologías:</i>   <i>Tratamiento:</i>	<i>Registro de la lesión/Fecha</i>  <i>Fecha Aparición</i>  <i>Localización</i>  <i>Estadío</i>  <i>Dimensiones</i>

<b>Fecha</b>								
<b>Dimensiones</b>								
<b>Dolor</b>								
<b>Efectos 2º</b>								
<b>Fecha</b>								
<b>Dimensiones</b>								
<b>Dolor</b>								
<b>Efectos 2º</b>								
<b>Fecha</b>								
<b>Dimensiones</b>								
<b>Dolor</b>								
<b>Efectos 2º</b>								

Superficie Inicio (cm <sup>2</sup> )	Superficie Final (cm <sup>2</sup> )	Porcentaje Reducción del Área

## Anexo II. Escala Analógica Visual del Dolor (EVA).

### *ESCALA ANALÓGICA VISUAL- EVA*

Permite medir la intensidad del dolor con la máxima reproductibilidad entre los observadores.

Consiste en una línea horizontal de 10 centímetros, en cuyos extremos se encuentran las expresiones extremas de un síntoma. Se mide con una regla milimetrada. La intensidad se expresa en centímetros o milímetros.

*Sin dolor* \_\_\_\_\_ *Máximo dolor*

0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nada										Insoponible

## **ANEXO III. Hoja de información y Consentimiento Informado.**

### ***HOJA de INFORMACIÓN PARA LOS POSIBLES PARTICIPANTES.***

**(RD 561/93 y Normas BPC-CPMP/ICH/135/95)**

#### **OBJETIVO**

Si así lo desea, Ud. va a formar parte de un ensayo clínico con finalidad investigadora, el propósito del mismo es valorar la utilidad de un nuevo tratamiento para acelerar la curación de las heridas.

#### **METODOLOGÍA**

Debe saber que se le va a aplicar el siguiente tratamiento:

Semanalmente, después de que usted nos autorice a ello, realizaremos curas de su herida de manera similar a como estaba usted siendo tratado en su centro de salud u hospital.

Durante esta cura y mientras dure el estudio aplicaremos una fracción de Plasma Rico en Plaquetas (extraído de su propia sangre). Existe la posibilidad de que aparezcan efectos secundarios, puesto que es un estudio experimental.

#### **TRATAMIENTOS ALTERNATIVOS**

Para el tratamiento de las heridas existe una gran variedad de estrategias de terapéutica local.

La participación en el ensayo es voluntaria y puede rechazar su participación o abandonar en cualquier momento del ensayo. En cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puede revocar su consentimiento.

#### **ACCESO A LOS DATOS DE SU HISTORIAL CLÍNICO**

Los datos de su historia clínica son confidenciales. Tan sólo podrán acceder a los mismos el/los investigadores que participan en el ensayo para extraer los datos que puedan ser relevantes para la investigación. En ningún caso se violará la

confidencialidad del sujeto. Una vez firmado el formulario de consentimiento informado que se le pasará, tanto usted como su representante legalmente aceptado (familiar o allegado) tendrán autorizado el acceso a los datos contenidos en su historia clínica.

Los documentos, así como las fotografías o imágenes filmadas con fines científicos o didácticos que identifiquen al sujeto serán confidenciales y no estarán a disposición pública. Si se publican los resultados del ensayo, la identidad del sujeto será confidencial.

El sujeto o representante será informado, en todo momento, de cualquier incidencia relevante para la decisión del sujeto de continuar participando en el ensayo.

En caso de reacciones adversas (intolerancias o alergias) a cualquier producto empleado, así como cualquier otra circunstancia que pueda darse harán que finalice la participación del sujeto en el ensayo.

#### COMPENSACIÓN ECONÓMICA Y TRATAMIENTO EN CASO DE DAÑO O LESIÓN.

De su participación en el ensayo no se derivará ningún costo económico para usted.

El investigador principal responsable del estudio es el Enfermero D. Manuel Escamilla Cardeñosa, Profesor Titular de la Escuela Universitaria de Enfermería Francisco Maldonado de Osuna (Sevilla) con el que puede contactar en el teléfono 955820289.



**DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.**

**D./Dña.....de.....años de edad.**  
**con domicilio en .....y DNI nº.....**  
**D./Dña.....de.....años de edad.**  
**con domicilio en .....y DNI nº.....**  
**en calidad de .....de.....**  
**(Representante legal, familiar o allegado) (Nombre y apellidos paciente)**

DECLARO:

He sido informado/a de que voy a formar parte de un ensayo clínico con finalidad investigadora, el propósito del mismo es valorar la eficacia de un nuevo tratamiento para acelerar la cicatrización de las heridas.

Conozco que se me va a aplicar una fracción de Plasma Rico en Plaquetas en la herida para conocer la efectividad de dicho tratamiento.

Comprendo que mi participación en el ensayo es voluntaria y que puedo rechazar mi participación o abandonar en cualquier momento el ensayo sin penalización o pérdida de los beneficios a los que hubiera tenido derecho de otro modo. En cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo y el profesional que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que he planteado.

Doy mi consentimiento para que antes, durante y con posterioridad al desarrollo del procedimiento puedan tomarse fotografías o películas de una parte o totalidad del procedimiento con fines exclusivamente científicos.

Manifiesto que estoy satisfecho con la información recibida y que comprendo el alcance y los riesgos del tratamiento.

Y en tales condiciones

**CONSIENTO**

Para que se me practique, en dichas condiciones las actuaciones descritas.

En.....a.....de.....201

Fdo: El Investigador

Fdo: El Paciente

Fdo: Representante legal

**REVOCO**

El consentimiento que en su día di para participar en dicho ensayo clínico

En.....a.....de.....201

## Anexo IV. Autorización Comité Ético.



A quien pueda interesar:

El Comité Ético de Experimentación de la Universidad de Sevilla, habiendo examinado el Proyecto "ESTUDIO SOBRE LA EFICACIA Y SEGURIDAD DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN EL TRATAMIENTO DE ÚLCERAS" presentado por D. Manuel Escamilla Cardefiosa emite el siguiente informe,

El proyecto cumple los requisitos exigidos para experimentación en sujetos humanos y en animales, y se ajusta a las normativas vigentes en España y en la Unión Europea.

Sevilla, a 05 de febrero de 2011.

EL PRESIDENTE DEL COMITE,

Fdo.: Prof. Dr. Fernando Rodríguez Fernández.