Artículo original
Rev Hematol Mex 2015;16:210-216.

Revista de Hematología

Nuevo método de obtención de plasma rico en factores de crecimiento plaquetario (PRP). Estudio descriptivo en 15 pacientes y comparación con los resultados publicados en la bibliografía

Jesús Alcaraz-Rubio[1]
Antonio Oliver-Iguacel[2]
Juana María Sánchez-López[1]

[1] Unidad de Hematología, Unión Murciana de Hospitales. Profesor asociado de Hematología, Departamento de Medicina Interna de la Universidad Católica San Antonio, Murcia, España.
[2] Unidad de Neuroendocrinología, Hospital Rúber.

RESUMEN

Antecedentes: la utilización de los factores de crecimiento plaquetario, o lo que comúnmente se conoce como plasma rico en plaquetas (PRP), se está convirtiendo en una técnica considerada medicamento, a pesar de compartir características de la autotransfusión, con múltiples aplicaciones clínicas en distintos campos de la medicina.

Objetivo: poner a prueba una técnica concreta de obtención de plasma rico en plaquetas, con características precisas de elaboración y de composición final del compuesto elaborado, en 15 pacientes hematológicamente sanos, comparando nuestros resultados con los reportados en otros procedimientos científicamente consensuados en la bibliografía.

Material y método: estudio descriptivo de serie de casos clínicos en el que se seleccionaron 15 pacientes de raza caucásica, 8 de género masculino, con límites de edad de 5 y 65 años, hematológicamente sanos, siguiendo las normas de inclusión analíticas para autotransfusión de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia en cuanto a controles bioquímicos, hematológicos y serológicos previos a la obtención de las muestras de sangre total.

Resultados: el protocolo obtuvo concentraciones de plaquetas y leucocitos aproximadamente entre tres y cinco veces superiores a las cifras basales con predominio de mononucleares (75-90% de la celularidad blanca).

Conclusiones: el procedimiento propuesto concentra una mayor cantidad de plaquetas en comparación con otros protocolos de tratamiento consultados, si bien no guarda correlación con la cantidad de factores de crecimiento obtenidos independientemente de la edad y sexo del paciente.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas, factores de crecimiento, centrifugación, técnica abierta, campana de flujo laminar.

Recibido: 28 de abril 2015

Aceptado: 22 de julio 2015

Correspondencia: Dr. Jesús Alcaraz Rubio
Carretera de Águilas buzón 252-B
30800 Lorca, Murcia, España
jesusalcaraz@telefonica.net

Este artículo debe citarse como
Alcaraz-Rubio J, Oliver-Iguacel A, Sánchez-López JM. Nuevo método de obtención de plasma rico en factores de crecimiento plaquetario (PRP). Estudio descriptivo en 15 pacientes y comparación con los resultados publicados en la bibliografía. Rev Hematol Mex 2015;16:210-216.

Revista de Hematología

A new protocol for obtaining platelet rich in growth factors (PRP). A descriptive study in 15 patients and comparison with literature

ABSTRACT

Background: The use of platelet growth factors, or what is commonly known as platelet-rich plasma (PRP), is becoming a technique considered medication, despite sharing features of the autotransfusion, with multiple clinical applications in different fields of Medicine.

Objective: To introduce and test a specific technique for obtaining PRP, with precise characteristics both production and final composition of compound got, in 15 hematological healthy patients, comparing our results with those obtained by other procedures scientifically tested.

Material and method: A descriptive, series of clinical cases study that selected 15 Caucasian patients, 8 male, with ages from 5 to 65 years, hematologically healthy, following the analytical norms of inclusion for autotransfusion of Spanish Society of Hematology and Hemotherapy about biochemical, hematological and serological controls previous to obtain samples of total blood.

Results: The protocol obtained levels of platelets and leukocytes about three and five times higher than basal data with predominance of mononuclear (75-90% of white cell).

Conclusions: The procedure proposed obtains a higher quantity of platelets compared to other protocols of treatment consulted, even though it is not related to quantity of growth factor obtained independently of age and sex of patient.

Key words: platelet-rich plasma, growth factors, centrifugation, open technique, laminar flow bell.

ANTECEDENTES

La utilización de los factores de crecimiento plaquetario, o lo que comúnmente se conoce como plasma rico en plaquetas (PRP), se está convirtiendo en una técnica considerada medicamento, a pesar de compartir características de la autotransfusión, con múltiples aplicaciones clínicas en distintos campos de la medicina: Traumatología y Medicina Deportiva, Odontología y Cirugía Maxilofacial, Cirugía Plástica y quemados, Dermatología, Neurología y Neurocirugía, etc. La diversidad de procedimientos existentes, la ausencia de control en la mayor parte de los mismos y el creciente campo de aplicación clínica hacen que sean necesarios métodos adecuadamente estructurados, documentados, controlados y probados, reproducibles por cualquier autor, en vistas a poder realizar un seguimiento y trazabilidad del producto final obtenido, sus posibles efectos terapéuticos, así como efectos secundarios que pudiesen apare-

cer. Es lo más parecido a la elaboración de una ficha técnica del concentrado elaborado con el fin de garantizar la máxima eficacia y seguridad para el paciente.[1-3] El objetivo de este trabajo es presentar y poner a prueba una técnica concreta de obtención de plasma rico en plaquetas, con características precisas de elaboración y de composición final del compuesto elaborado, en 15 pacientes hematológicamente sanos, comparando nuestros resultados con los reportados en otros procedimientos científicamente consensuados en la bibliografía.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio descriptivo de serie de casos clínicos en el que se seleccionaron 15 pacientes de raza caucásica, 8 de género masculino, con límites de edad de 5 y 65 años, hematológicamente sanos, siguiendo las normas de inclusión analíticas para autotransfusión de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia en cuanto a controles bioquímicos, hematológicos y serológicos previos a la obtención de las muestras de sangre total. Para la obtención de sangre se usó un sistema cerrado mediante Vacutainer conectado a un tubo de 3.5 mL con EDTA. Se utilizó acceso venoso antebraquial con aguja de 20 G para adultos y 22 G para niños. El procedimiento de obtención del PRP consistió en una centrifugación única de la muestra de sangre durante 30 minutos a 3,500 rpm con centrifuga de eje angular de 16 tubos serie (CEMCON 2) y micropipeteado de la fracción proteínica rica en factores de crecimiento plaquetario plasmático y celular mediante técnica abierta en condiciones de asepsia en campana de flujo laminar horizontal grado A, a temperatura de 22ºC, con aprovechamiento de la capa leucoplaquetar o Buffy-coat (PRP rico en leucocitos). En el producto final obtenido se procedió al conteo celular, mediante hemocitómetro tipo Coulter (BECKMAN), de plaquetas, leucocitos, granulocitos, monocitos y CD 34+/mm^3, así como los siguientes factores de crecimiento plaquetarios: factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), factor transformante B (TGF-B), factor de crecimiento *insulin-like* tipo 1 (IGF-1) y el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) utilizando equipos específicos de inmunoenzimoanálisis (ELISA). Las determinaciones se realizaron en situación basal, previo al tratamiento, en los PRPs obtenidos y serológicas en los pacientes a las 24 h de la administración del mismo. La vía de inyección fue variada: intraarticular, endovenosa, intramuscular o subcutánea. Se utilizaron los datos recogidos en otros trabajos de autores con técnicas de obtención de PRP consolidadas en la bibliografía científica, como: Anitua y colaboradores, De Obarrio y colaboradores, Okuda y colaboradores, García y colaboradores y Lorente Pérez Sierra y colaboradores para compararlos con los nuestros.[3,4] Se aplicaron cálculos estadísticos descriptivos para la interpretación de los datos analíticos en cada caso.

RESULTADOS

En los Cuadros 1, 2 y 3 se pueden observar los resultados correspondientes a los 15 pacientes en cuanto al conteo celular y concentraciones de factores de crecimiento obtenidos con el valor máximo y mínimo recogido, así como la media parametral conseguida en situación basal y en los PRPs y en sangre a las 24 h del tratamiento en cada paciente. No hubo correlación entre la cantidad de plaquetas concentradas y la cantidad de factores de crecimiento obtenidos finalmente. El protocolo expuesto obtuvo concentraciones de plaquetas y leucocitos aproximadamente entre tres y cinco veces superiores a las cifras basales con predominio de mononucleares (75-90% de la celularidad blanca), hasta 1-3% de los cuales fueron positivos para marcador CD34+, sin apreciar cambios prácticamente en los conteos celulares, salvo incremento entre 150 y 300 veces mayor en la determinación de CD34 + a las 24 h posadministración del PRP

Cuadro 1. Características reológicas sanguíneas de los pacientes en situación basal

Paciente	PDGF-AB (10-50 pg/mL)	TGF-B1 (10-70 pg/mL)	IGF-1 (0.5-19.5 pg/mL)	VEGF (15-85 pg/mL)	Plaquetas (150,000-350,000/mm^3)	Leucocitos (3,200-9,000/mm^3)	Granulocitos /mm^3	Mononucleares /mm^3	CD 34 + /mm^3
1	45	60	18	80	210,000	7,500	4,875	1,275	0.9
2	40	25	10	45	210,000	6,500	3,575	1,625	0.3
3	43	55	17	80	190,000	6,230	3,738	1,246	0.4
4	43	67	15	75	170,000	7,500	4,500	1,125	0.5
5	15	25	7	30	180,000	8,900	5,340	1,335	0.3
6	35	24	12	40	175,000	8,900	5,340	1,956	0.2
7	20	15	7	30	260,000	7,200	4,320	1,440	0.2
8	30	20	7	35	176,000	7,430	4,458	1,114	0.4
9	91	60	16	75	350,000	7,430	4,086	1,337	0.7
10	45	55	18	70	195,000	9,500	5,700	1,425	0.7
11	35	20	15	40	205,000	8,300	4,980	1,909	0.2
12	12	15	4	25	250,000	8,500	5,100	1,890	0.1
13	45	60	17	75	240,000	8,700	5,481	1,131	0.7
14	43	55	17	70	300,000	7,600	4,560	1,140	0.4
15	15	55	18	70	210,000	7,500	4,500	1,500	0.2
Máximo	91	67	18	80	350,000	9,500	5,700	1,956	0.9
Mínimo	12	15	4	25	170,000	6,230	3,575	1,114	0.1
Media	32.74	35.02	11.58	50.94	219,675	7,782	4,645	1,411	0.3

Cuadro 2. Características reológicas de los PRPs obtenidos mediante procedimiento probado

Paciente	PDGF-AB (10-50 pg/mL)	TGF-B1 (10-70 pg/mL)	IGF-1 (0.5-19.5 pg/mL)	VEGF (15-85 pg/mL)	Plaquetas (150,000-350,000/mm^3)	Leucocitos (3,200-9,000/mm^3)	Granulocitos /mm^3	Mononucleares /mm^3	CD 34 + /mm^3
1	496	450	250	575	1,200,000	21,000	3,150	18,270	240
2	370	300	150	545	1,270,000	22,000	4,400	16,500	180
3	390	370	200	590	1,270,000	21,000	3,150	16,800	270
4	450	480	190	540	1,280,000	20,000	4,000	17,400	210
5	250	265	110	460	1,200,000	21,000	4,200	14,700	170
6	360	270	160	530	1,220,000	24,000	6,000	19,200	175
7	300	250	120	470	1,250,000	21,500	4,515	15,910	170
8	350	235	105	390	1,230,000	21,500	3,440	12,900	120
9	553	520	277	590	1,230,000	21,500	4,085	18,705	215
10	420	470	210	590	1,270,000	24,000	3,600	20,400	200
11	300	270	160	480	1,190,000	23,000	4,600	17,940	150
12	190	150	90	320	1,200,000	20,000	4,000	12,000	70
13	480	420	230	570	1,210,000	22,000	3,300	18,700	200
14	450	420	199	570	1,250,000	22,000	4,400	16,500	185
15	345	430	190	590	1,270,000	23,000	4,370	19,550	200
Máximo	553	520	277	590	1,280,000	24,000	6,000	16,860	176
Mínimo	190	150	90	320	1,190,000	20,000	3,150	20,400	270
Media	367.42	335.16	167	513.6	1,235,623	21,800	4,023	12,000	70

Cuadro 3. Características séricas sanguíneas de los pacientes a las 24 h del tratamiento

Paciente	PDGF-AB (10-50 pg/mL)	TGF-B1 (10-70 pg/mL)	IGF-1 (0.5-19.5 pg/mL)	VEGF (15-85 pg/mL)	Plaquetas (150,000-350,000/mm^3)	Leucocitos (3,200-9,000/mm^3)	Granulocitos /mm^3	Mononucleares /mm^3	CD 34 + /mm^3
1	390	375	200	499	270,000	8,100	3,200	1,950	20
2	395	260	103	430	230,000	6,300	3,100	1,800	10
3	290	290	170	505	205,000	7,500	3,500	1,900	15
4	305	385	155	476	190,000	8,400	3,400	2,000	15
5	230	220	95	390	195,000	3,950	3,950	1,750	7
6	280	270	101	410	210,000	8,700	3,600	1,700	7
7	240	240	100	400	235,000	7,900	3,200	1,900	15
8	270	165	78	295	205,000	7,950	3,750	1,600	7
9	480	450	200	460	290,000	8,450	3,900	1,600	10
10	370	250	170	495	205,000	7,800	3,700	1,700	15
11	330	220	100	400	230,000	8,400	3,600	1,750	12
12	135	120	55	200	230,000	8,600	3,900	1,600	5
13	370	350	195	490	245,000	8,900	3,930	1,900	15
14	390	370	170	450	190,000	7,200	4,000	1,700	16
15	310	350	150	485	250,000	8,300	3,900	1,750	15
Máximo	480	450	200	505	290,000	8,900	4,000	2,000	20
Mínimo	135	120	55	200	190,000	3,950	3,100	1,600	5
Media	306.8	272.7	127.3	415.45	223,602	7,638	3,629	1,768	11

respecto del conteo basal (Figuras 1 a 3); así como una cantidad de factores de crecimiento entre 7-10 veces mayor a las concentraciones basales del paciente, con escasa variación en las mismas. Los concentraciones de factores de crecimiento se mantuvieron estables en sangre de cada paciente a las 24 h del tratamiento entre siete y nueve veces mayor respecto a la situación previa basal (Figura 4). Comparado con otros procedimientos analizados en la bibliografía; este método logra concentrar entre 1.5 y 3 veces más plaquetas en el producto final obtenido (Figura 5), con una purificación de factores de crecimiento, sobre todo tipo VEGF y TGF-B claramente superior (Figura 6).

CONCLUSIÓN

Según los resultados obtenidos, el procedimiento propuesto concentra una mayor cantidad de plaquetas en comparación con otros protocolos de tratamiento consultados, si bien no guarda correlación con la cantidad de factores de crecimiento obtenidos independientemente de la edad y sexo del paciente,[3,4] en concordancia con lo expuesto por otros autores. Es destacable el hecho de que en nuestros PRPs, que son ricos en leucocitos, hay mayor cantidad de plaquetas y factores de crecimiento, sobre todo del tipo TGF-B y VEGF, en comparación con el resto de procedimientos en los que se ha deplecionado la fracción leucocitaria en el producto final obtenido, como se propuso en estudios anteriores, lo que puede explicarse por la existencia de mayor cantidad de plaquetas en la zona límite leucoplaquetar del centrifugado.[5,6] Otro hecho a destacar es la existencia de concentraciones de factores de crecimiento plaquetario y plasmático estables a las 24 h postratamiento en sangre de los pacientes, muy similares a los concentrados en los PRPs correspondientes, lo que podría explicarse por la gran capacidad

Revista de Hematología

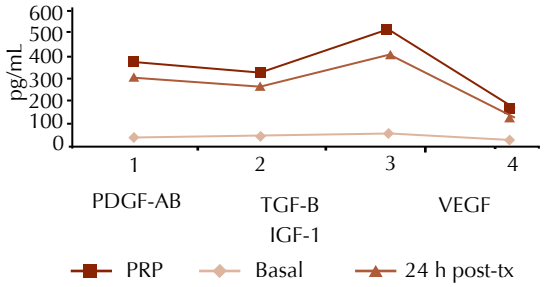

Figura 1. Conteo plaquetario medio en técnica de Alcaraz, Oliver y su grupo en situación basal, PRP y a las 24 h del tratamiento.

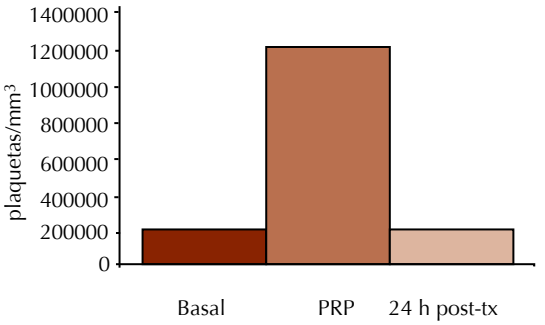

Figura 2. Contaje leucocitario (granulocitario y mononuclear) medio en técnica de Alcaraz, Oliver y su grupo en situación basal, PRP y a las 24 h postratamiento.

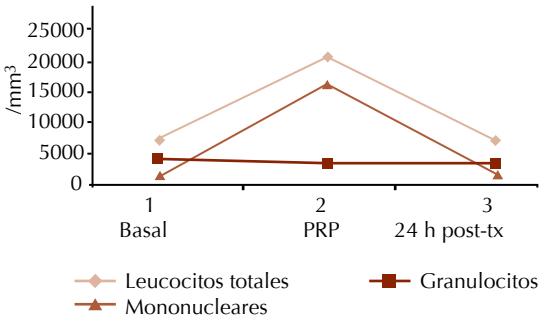

Figura 3. Conteo medio de CD 34+ en técnica de Alcaraz, Oliver y su grupo en situación basal, PRP y a las 24 h postratamiento.

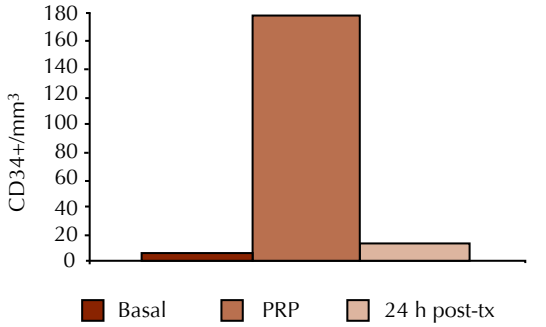

Figura 4. Concentraciones medias de factores de crecimiento en técnica de Alcaraz, Oliver y su grupo, medidos en situación basal, PRP y a las 24 h del tratamiento.

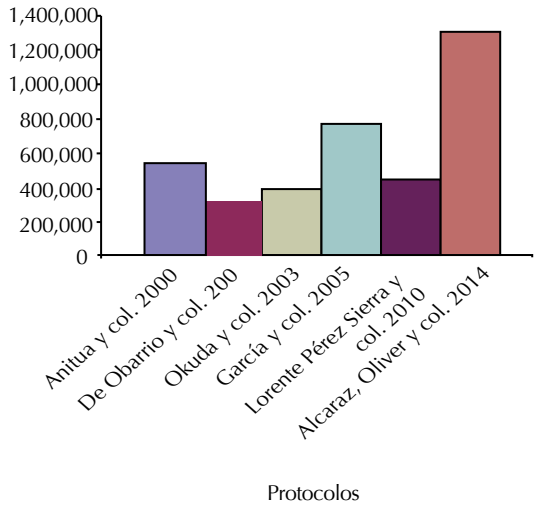

Figura 5. Concentración media de plaquetas en los PRPs de los seis procedimientos examinados.

de difusión a través de los distintos tejidos que tienen estas proteínas, independientemente del medio utilizado para administrarlos.[3] De igual modo, reseñar la capacidad de movilización que tienen sobre los CD34+,[4,5] detectándose cifras superiores en sangre a las 24 h postaplicación en comparación con el conteo basal.

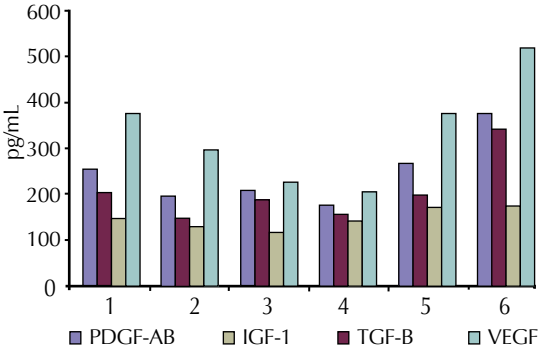

Figura 6. Concentración media de factores de crecimiento en los PRPs de los seis procedimientos examinados.

Estamos ante una técnica de obtención de PRP eficaz porque concentra gran cantidad de plaquetas y factores de crecimiento en comparación con otros protocolos; estable, debido a que no hay grandes variaciones en los valores del contenido final del producto, independientemente de la edad y sexo del paciente, y eficiente, porque logra concentraciones séricas de factores de crecimiento a las 24 h de administración en el paciente muy similares a las obtenidos en los correspondientes PRPs, con independencia de la vía de administración.

Agradecimientos

A mi mujer y a mi hijo, por su paciencia y dedicación, por su estímulo y ánimo, sin los cuales no hubiera sido posible la ejecución de este artículo.

REFERENCIAS

1. Beca T, Hernández G, Morante S, Bascones A. Plasma rico en plaquetas. Revisión bibliográfica. Av Periodon Implantol 2007;19:39-52.
2. Alsousou J, Thonpson M, Hulleyp, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its applications in trauma and orthopaedic surgery. A review of literature. J Bone Joint Surg Br 2009;91-B:987-996.
3. Anitua E, Prado R, Sánchez M, Orive G. Platelet-rich plasma: preparation and formulation. Oper Tech Orthop 2012;22:25-32.
4. Weibrich G, Kleiss WKG, Hafner G, Hitzler WE. Growth factors level in platelets-rich plasma and correlations with donor age, sex and platelets count. J Craneomaxillofac Surg 2002;30:97-102.
5. Everts PA, Brown-Mahoney C, Hoffmann JJ, Schonberger JP, et al. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications for platelets activation and platelet growth factors release. Growth Factors 2006;24:165-171.
6. González-Villalva A. Capítulo 6. Sangre. En: Fortoul y Castell. Histología y Biología celular. México: McGraw-Hill Interamericana, 2010;147-154.