

TESIS DOCTORAL

PROGRAMA DE DOCTORADO

'SALUD, DISCAPACIDAD, DEPENDENCIA Y BIENESTAR'



**universidad
de león**

**FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE PLAQUETAS (PDGF)
PROCEDENTES DE AFÉRESIS DE DONANTE ÚNICO (al-PRP) PARA
TRATAMIENTO DE OSTEONECROSIS MANDIBULAR SECUNDARIA A
BIFOSFONATOS, ÚLCERAS CUTÁNEAS POR HIDROXIUREA Y ÚLCERAS
CUTÁNEAS DE EVOLUCIÓN TÓRPIDA**

**Tutor Dr. Jesús Seco Calvo
Directores Dr. Jesús Seco Calvo
Dr. Sergio Sánchez Herráez**

Julia Vidán Estévez

León, 2021

FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE PLAQUETAS (PDGF)
PROCEDENTES DE AFÉRESIS DE DONANTE ÚNICO (al-PRP) PARA
TRATAMIENTO DE OSTEONECROSIS MANDIBULAR SECUNDARIA A
BIFOSFONATOS, ÚLCERAS CUTÁNEAS POR HIDROXIUREA Y ÚLCERAS
CUTÁNEAS DE EVOLUCIÓN TÓRPIDA



**universidad
de león**

Julia Vidán Estévez

A mi padre.
A mi marido Sergio.
A mis tesoros: Sergio, Marcos y Juan.

“La Medicina es la ciencia de la incertidumbre y el arte de la probabilidad”
(Prof. Dr. William Osler)

AGRADECIMIENTOS

Versa el adagio: *“Ser talentoso te abre muchas puertas, ser agradecido te las mantiene abiertas”*.

Por ello, quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas y cada una de las personas que han contribuido de algún modo a que pudiera llevarse a cabo este proyecto.

Gracias a mi tutor y director de tesis el Profesor Dr. Jesús Seco Calvo, por su gran implicación y entusiasmo. Sus ánimos continuos, su apoyo incesante y su disponibilidad absoluta han hecho posible sacar adelante este proyecto.

Gracias al Dr. Sergio Sánchez, codirector de esta tesis, por su apoyo, su dedicación y sobre todo por impulsar este trabajo.

Gracias a la Universidad de León en especial a la Unidad de Doctorado por la posibilidad de proseguir y concluir mis estudios de doctorado.

Gracias a todos y cada uno de los pacientes y familiares que pusieron su plena confianza en que los resultados obtenidos traerían bienestar a sus vidas y confiaron y aceptaron este novedoso tratamiento; sin ellos este trabajo no hubiera sido posible.

Gracias al Dr. Fernando Escalante; la preocupación por sus pacientes de mieloma múltiple llevó a buscar solución a una patología dolorosa y de difícil solución como es la osteonecrosis mandibular, surgiendo así una de las ideas de la presente tesis.

Gracias a mis compañeros del Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, del Cirugía Maxilofacial y del Servicio de Angiología y Cirugía Vasculuar, en especial a la Dr^a Isabel Blanco, por sus aportaciones.

Gracias al Dr. Filomeno Rondón por su valiosa cooperación en el desarrollo de este trabajo.

Gracias a mi supervisora, D^a Pilar González, y a todas las enfermeras del Servicio de Transfusión, por su entusiasmo con el proyecto, por ese buen hacer y por ser las mejores.

Gracias al Dr. José Antonio Rodríguez, mi jefe, por hacerlo todo fácil.

Gracias a todos mis compañeros, adjuntos y residentes del Servicio de Hematología del Complejo Asistencial Universitario de León por permitirme crecer profesionalmente cada día.

Gracias a la Profesora Doctora Leticia Ribeiro, mi referente en la especialidad, que desde mi residencia en Coimbra me inculcó la importancia de la investigación y me enseñó que con el trabajo en equipo se obtienen los mejores resultados.

Gracias a mi marido, Sergio, por compartir no solo mi ilusión por esta profesión si no también el proyecto de vida.

Gracias a mis hijos: Sergio, Marcos y Juan, el motor de mi vida; por haber aportado vuestro granito de arena y por “entender “ese tiempo robado.

Gracias a mi padre, mi primer maestro en la medicina, por sus sabios consejos y por transmitirme la pasión por esta profesión.

Gracias a mi madre, la mejor madre y profesora por ser la más positiva.

Gracias a mis hermanos por hacerme estar cerca a pesar de la distancia y a mi hermana por ser mi gran apoyo.

Gracias a mis compañeras y amigas María Pampín y Clara Ruíz por aquellos maravillosos años.

Gracias a Portugal por acogerme y brindarme enormes oportunidades.

Gracias a todas las personas que en el algún momento de mi vida se cruzaron conmigo y que supieron transmitirme su conocimiento.

Y por último, no podría dejar de agradecer a tres grandes hematólogos que hoy ya no están con nosotros y que han sido un pilar básico en mi formación no solo a nivel profesional sino también personal: el Dr. Gabriel Tamagnini, mi mentor en la Hematología; la Dr^a María Jesús Moro, por transmitirme tesón y saber hacer; y a mi compañero y amigo que se fue antes de tiempo, el Dr. Carlos Cecchini que me transmitió sus conocimientos sobre el apasionante mundo de la inmunohematología y me ayudó a iniciar este proyecto. Ellos disfrutarían orgullosos de este trabajo.

Muchas gracias a todos.

FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE PLAQUETAS (PDGF)
PROCEDENTES DE AFÉRESIS DE DONANTE ÚNICO (a1-PRP) PARA
TRATAMIENTO DE OSTEONECROSIS MANDIBULAR SECUNDARIA A
BIFOSFONATOS, ÚLCERAS CUTÁNEAS POR HIDROXIUREA Y ÚLCERAS
CUTÁNEAS DE EVOLUCIÓN TÓRPIDA



**universidad
de león**

Julia Vidán Estévez

ABREVIACIONES

A (o **Ap**): activación plaquetaria.

ADP: difosfato de adenosina.

AEI: anticuerpos irregulares antieritrocitarios.

AI (o **AIT** o **TIA**): ictus isquémico/accidente isquémico transitorio.

al-PRP: Aféresis de donante único.

Ang-2: angiopoyetina-2.

APC: concentrado de plaquetas autólogo (*autologous platelet concentrate*).

ASC: células madre derivadas de tejido adiposo.

ATP: trifosfato de adenosina.

au-PRP: aféresis del propio paciente (autólogo).

BF: bifosfonatos.

BRONJ: osteonecrosis de la mandíbula relacionada con los bisfosfonatos.

CAULE: Complejo Asistencial Universitario de León.

CLEU: úlceras crónicas de las extremidades inferiores.

DLEU: úlceras diabéticas de las extremidades inferiores.

DM: diabetes mellitus.

Dx: diagnóstico.

EGF: factor de crecimiento epidérmico.

FA: fibrilación auricular.

FCs: factores de crecimiento.

FGF: factores de crecimiento de fibroblastos.

GM-CSF: factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos.

Hb: hemoglobina.

HBO: oxigenoterapia hiperbárica.

HLA: antígenos leucocitarios humanos.

HPA: antígenos plaquetarios humanos.

HU: Hidroxiurea.

IAM: infarto agudo de miocardio.

IGF: factor de crecimiento similar a la insulina.

IL-8: interleucina-8.

KGF: factor de crecimiento de queratinocitos.

L - PRF: fibrina rica en leucocitos y plaquetas.

LIL: láser de baja intensidad.

LNH: linfoma no Hodgkin.

MM: mieloma múltiple.

MRONJ: osteonecrosis de la mandíbula relacionada con la medicación.

ON: osteonecrosis.

ONM: osteonecrosis de la mandíbula.

P: número absoluto de plaquetas

PDAF: factor de angiogénesis derivado de plaquetas.

PDEGF: factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas.

PDGF: factores de crecimiento derivados de las plaquetas (*platelet-derived growth factor*).

PFC: factores de crecimiento plaquetario.

P-PRF: fibrina pura rica en plaquetas.

PRP: plasma rico en plaquetas.

PV (o VP): policitemia vera.

SMPc: síndrome mieloproliferativo crónico.

TCI: test de Coombs indirecto.

TE (o EP): trombocitemia esencial.

TGF: factor de crecimiento transformante.

TNF: factor- α de necrosis tumoral.

UC: úlceras crónicas.

UDD: úlceras en extremidades inferiores.

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular.

W: glóbulos blancos.

ZA: ácido zoledrónico.

ÍNDICE ELEMENTOS GRÁFICOS

Diagrama 1. Diagrama de flujo de pacientes correspondientes a osteonecrosis.

Diagrama 2. Diagrama de flujo de pacientes correspondientes a úlceras cutáneas.

Cuadro 1. Relación de los valores de la d de Cohen, con R^2 y el coeficiente R de correlación.

TABLAS

Primer análisis (N=31)

Tabla 1. Análisis descriptivo y comparativo. Características sociodemográficas de la muestra, según Diagnóstico. (N=31).

Tabla 2. *Análisis descriptivo y comparativo.* Antecedentes, según Diagnóstico. (N=31).

Tabla 3. *Análisis descriptivo y comparativo.* Resultados analíticos, según Diagnóstico. (N=31).

Tabla 4. *Análisis descriptivo y comparativo.* Factores relativos a la lesión, según Diagnóstico. (N=31).

Tabla 5. *Análisis descriptivo y comparativo.* Factores relativos al Tratamiento PRP, según Diagnóstico. (N=31).

Tabla 6. *Análisis univariante.* Factores sociodemográficos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

Tabla 7. *Análisis univariante.* Factores de los antecedentes relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

Tabla 8. *Análisis univariante.* Factores de los resultados analíticos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

Tabla 9. *Análisis univariante.* Factores relativos a la lesión relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

Tabla 10. Árbol CHAID (N=31), variable dependiente. Mejoría (curación total o parcial).

Tabla 11. Análisis de supervivencia, Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. Diagnóstico Indicativo para el uso de PRP (en semanas). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 12. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. tratamiento previo del sujeto (Hydrea®/Zometa®). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 13. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. tratamiento local previo al uso de PRP. [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 14. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. duración del tratamiento previo al uso de PRP. [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 15. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. localización de la lesión. [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 16. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. sexo del sujeto (mujer/varón). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 17. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. edad (categorizada en rango etáreo habitual). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 18. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. edad (categorizada en rango etáreo por décadas). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Tabla 19. Análisis mediante Regresión de Cox.

Tabla 20. Regresión logística binaria. Muestra de qué variables depende principalmente la **mejoría** (nueva variable dicotómica para aglutinar curación parcial/ total).

Tabla 21. ANOVA para la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Variable de selección. 'diagnóstico hematológico'. Sí hay diferencias entre grupos (**p ,037**).

Tabla 22. ANOVA para la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Variable de selección. 'tratamiento previo'. Sí hay diferencias entre grupos (**p ,004**).

Tabla 23. ANOVA para la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Variable de selección. 'tratamiento local previo'. Sí hay diferencias entre grupos (**p ,014**).

Tabla 24. Regresión lineal. Muestra de qué variables depende principalmente la variable 'duración del tratamiento en semanas'.

Segundo análisis (N=23)

Tabla 25. *Análisis descriptivo.* Resultados analíticos.

Tabla 26. *Análisis univariante.* Factores sociodemográficos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

Tabla 27. *Análisis univariante.* Factores de los antecedentes relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

Tabla 28. *Análisis univariante.* Factores de los resultados analíticos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

Tabla 29. *Análisis univariante.* Factores relativos a la lesión relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

Tercer análisis (N=8)

Tabla 30. *Análisis descriptivo.* Resultados analíticos.

FIGURAS

Primer análisis (N=31)

Figura 1. *Histograma.* Composición de la muestra según EDAD. (N=31).

Figura 2. *Diagrama de sectores.* Composición de la muestra según GÉNERO. (N=31).

Figura 3. *Diagrama de barras.* Patologías asociadas. (N=31).

Figura 4. *Diagrama de barras.* Otros antecedentes. (N=31).

Figura 5. *Diagrama de barras.* Situación actual. (N=31).

Figura 6. *Diagrama de sectores.* Remisión. (N=31).

Figura 7. *Árbol CHAID (N=31), variable dependiente.* Mejoría (curación total o parcial).

Figura 8. *Curva de Kaplan-Meier.* Análisis de supervivencia para la variable. Diagnóstico Indicativo para el uso de PRP (en semanas).

Figura 9. *Curva de Kaplan-Meier.* Análisis de supervivencia para la variable. tratamiento previo del sujeto (Hydrea®/Zometa®).

Figura 10. *Curva de Kaplan-Meier.* Análisis de supervivencia para la variable. tratamiento local previo al uso de PRP.

Figura 11. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. duración del tratamiento previo al uso de PRP.

Figura 12. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. localización de la lesión.

Figura 13. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. sexo del sujeto (mujer/varón).

Figura 14. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. edad (categorizada en rango etáreo habitual).

Figura 15. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. edad (categorizada en rango etáreo por décadas).

Figura 16. Árbol de decisión CRT CHAID (N=31) que muestra de qué depende la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Nótese. podría confirmarse que depende esencialmente de dos variables. 'tratamiento previo' y 'diagnóstico hematológico'.

Segundo análisis (N=23)

Figura 17. *Histograma.* Composición de la muestra según EDAD. (N=23 casos con UC).

Figura 18. *Diagrama de sectores.* Composición de la muestra según GÉNERO. (N=23).

Figura 19. *Diagrama de barras.* Patologías asociadas. (N=23 casos con UC).

Figura 20. *Diagrama de barras.* Otros antecedentes. (N=23 casos con UC).

Figura 21. *Diagrama de barras agrupadas.* Analíticas. (N=23 casos con UC).

Figura 22. *Diagrama de barras.* Localización de la lesión. (N=23 casos con UC).

Figura 23. *Diagrama de barras.* Tamaño de la lesión. (N=23 casos con UC).

Figura 24. *Diagrama de barras.* Grado de la lesión. (N=23 casos con UC).

Figura 25. *Diagrama de barras.* Tratamientos previos. (N=23 casos con UC).

Figura 26. *Diagrama de barras.* Tiempo con tratamientos previos. (N=23 casos con UC).

Figura 27. *Diagrama de barras.* Situación actual. (N=23 casos con UC).

Figura 28. *Diagrama de sectores.* Remisión. (N=23 casos con UC).

Figura 29. *Diagrama de barras agrupadas.* Remisión en función del tiempo de tratamiento con PRP. (N=23 casos con UC).

Tercer análisis (N=8)

Figura 30. *Histograma.* Composición de la muestra según EDAD. (N=8 casos con ON).

Figura 31. *Diagrama de sectores.* Composición de la muestra según GÉNERO. (N=8).

Figura 32. *Diagrama de barras.* Patologías asociadas. (N=8 casos con ON).

Figura 33. *Diagrama de barras agrupadas.* Analíticas. (N=8 casos con ON).

Figura 34. *Diagrama de barras.* Localización de la lesión. (N=8 casos con ON).

Figura 35. *Diagrama de barras.* Tamaño de la lesión. (N=8 casos con ON).

Figura 36. *Diagrama de barras.* Grado de la lesión. (N= N=8 casos con ON).

Figura 37. *Diagrama de barras.* Tratamientos previos. (N=8 casos con ON).

Figura 38: *Diagrama de barras.* Tiempo con tratamientos previos. (N=8 casos con ON).

Figura 39. *Diagrama de barras.* Situación actual. (N=8 casos con ON).

Figura 40. *Diagrama de sectores.* Remisión. (N=8 casos con ON).

ÍNDICE

	pág
INTRODUCCIÓN	27
1. Reseña histórica del uso de plasma rico en plaquetas	27
2. Mecanismos biológicos que participan en la reparación de tejidos	31
3. Factores de crecimiento contenidos en el PRGF y su papel en la reparación	33
4. Tipos de factores plaquetarios y sus principales funciones	34
<i>4.1. PDGF</i>	<i>34</i>
<i>4.2. TGF-beta</i>	<i>34</i>
<i>4.3. IGF-I</i>	<i>35</i>
<i>4.4. HGF</i>	<i>35</i>
<i>4.5. VEGF</i>	<i>35</i>
<i>4.6. FGF</i>	<i>35</i>
<i>4.7. EGF</i>	<i>35</i>
5. Preparación del PRGF	36
<i>5.1. Preparación del PRGF según Anitua (1999)</i>	<i>36</i>
<i>5.2. Preparación del PRGF según otros autores</i>	<i>37</i>
6. Tratamiento de las heridas crónicas	40
7. Hidroxiurea	44

8. Gel plaquetario alogénico o tratamiento con hidrogel	44
9. Aplicación de al-PRP o au-PRP en úlceras de extremidades inferiores	47
10. Osteonecrosis mandibular secundaria al uso de Bifosfonatos	49
11. PRP en cirugía oral y maxilofacial	51
JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	57
HIPÓTESIS de INVESTIGACIÓN	57
OBJETIVOS	56
Objetivo general	58
Objetivos específicos	58
MATERIAL Y MÉTODOS	63
1. Diseño del estudio	63
2. Muestra	63
3. Criterios de Inclusión	65
4. Criterios de Exclusión	66
5. Procedimiento	66
5.1. Obtención de la aféresis de plaquetas	67
5.2. Alicuotado	68
5.3. Criopreservado	69
6. Tratamiento	69

7. Otras valoraciones	70
8. Análisis estadístico	71
9. Aspectos éticos y legales	77
RESULTADOS	81
1º Análisis. Serie completa (N=31)	81
1.- Análisis descriptivo de la muestra	81
2.- Factores relacionados con la remisión	90
2.1.- Análisis univariante	91
2.1.1.- Factores sociodemográficos	91
2.1.2.- Antecedentes	92
2.1.3.- Factores analíticos	93
2.1.4.- Factores relativos a la lesión	95
2.2.- Análisis multivariante	96
2º Análisis. Serie de casos, pacientes con UV (N=23)	125
1.- Análisis descriptivo de la muestra	125
2.- Factores relacionados con la remisión	131
2.1.- Análisis univariante	132
2.1.1.- Factores sociodemográficos	132
2.1.2.- Antecedentes	132
2.1.3.- Factores analíticos	134

2.1.4.- Factores relativos a la lesión	136
2.2.- Análisis multivariante	138
3º Análisis. Serie de casos, pacientes con úlceras secundarias a ON (N=8)	140
1.- Análisis descriptivo de la muestra	140
DISCUSIÓN	149
1. Controversia según los tipos de PRP utilizados	149
2. Controversia según el procedimiento de obtención del PRP	150
3. La problemática de la Hidroxiurea y el uso del PRP alogénico	152
4. Úlceras en extremidades inferiores. Tratamiento con al-PRP	155
5. Gel plaquetario alogénico o tratamiento con hidrogel en heridas crónicas	160
6. Osteonecrosis mandibular secundaria al uso de Bifosfonatos	163
7. Otras úlceras vasculares o cutáneas de evolución tórpida	169
8. Fortalezas y limitaciones del estudio. Aplicación práctica	170
CONCLUSIONES	175
BIBIOGRAFÍA	181
ANEXOS	205

ÍNTRODUCCIÓN

El plasma rico en plaquetas es un componente sanguíneo concentrado obtenido mediante centrifugación de la sangre total que se caracteriza por poseer una alta concentración de plaquetas (4 a 6 veces sus valores normales). La gran concentración de diversos factores tróficos contenidos en los gránulos de las plaquetas, llevaron a sugerir que la aplicación del plasma rico en plaquetas puede contribuir a estimular o acelerar la reparación y/o la regeneración de diversos tejidos. Desde la primera aplicación del plasma rico en plaquetas en el tratamiento de úlceras cutáneas en 1980, se han publicado los beneficios de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas en reparación y regeneración de tejidos. Las plaquetas contienen factores de crecimiento que se liberan por los gránulos plaquetarios después de su activación. Se ha visto una gran cantidad de aplicaciones en distintos terrenos de la Medicina (Oftalmología, Otorrinolaringología, Cirugía Maxilofacial, Cirugía Plástica y Estética, Ortopedia y Traumatología, Dermatología, etc.), para el tratamiento de: heridas quirúrgicas, patologías musculoesqueléticas, quemaduras, reparación de nervios periféricos; algunas de estas aplicaciones con resultados francamente positivos o muy prometedores. A pesar de la gran cantidad de publicaciones tanto experimentales como clínicas al respecto de la utilidad del plasma rico en plaquetas en distintos ámbitos de la Medicina Regenerativa, en sus inicios, las indicaciones en las que se encontraba plenamente demostrada su utilidad eran más bien escasas; de hecho, siempre se ponía de manifiesto la importancia de realizar futuros estudios clínicos metodológicamente adecuados que permitieran mejorar los niveles de evidencia sobre el uso del plasma rico en plaquetas.

1. Reseña histórica del uso de plasma rico en plaquetas

El PRP debe su interés terapéutico al papel instrumental decisivo de las plaquetas en el proceso de curación y reparación de la herida tisular. Este papel reparador no está relacionado con las plaquetas por sí mismas sino, más bien, con los factores de crecimiento (FCs) liberados de sus gránulos α , poseedores de múltiples propiedades regeneradoras. La reparación de la herida tisular es un proceso complejo en el que

coexisten, secuencial y solapadamente, una gran variedad de funciones celulares como la quimiotaxis, la angiogénesis, la proliferación celular, la formación de matriz extracelular y la limpieza macrofágica. Estas funciones forman un complejo entramado en el que clásicamente se distinguen 3 fases o etapas consecutivas que se superponen: etapa inflamatoria, de proliferación y reparación y una última fase de remodelado. Numerosos estudios experimentales describen la participación de los factores de crecimiento en estos mecanismos y avalan los principios básicos para su utilización terapéutica, en Odontología y Cirugía Máxilo-facial y en Cirugía Ortopédica y traumatología (Anitua, 1999; Anitua et al., 2005; Anitua et al., 2006; Anitua et al., 2009; Anitua et al., 2011; Anitua et al., 2012; Anitua et al., 2013; Anitua et al., 2014; Anitua et al., 2015; Sánchez et al., 2009; Sánchez et al., 2014a; Sánchez et al., 2014b; Sánchez et al., 2014c; Padilla et al., 2014; Vaquerizo et al., 2015), así como en otras especialidades (Gómez-Caro et al., 2012; Kawakami et al., 2015; Perez-Zabala et al., 2016); incluso presenta aplicaciones en el sistema nervioso o como terapia frente al SARS-COV-2 (Beitia et al., 2021).

Así, investigaciones muy recientes (de febrero de 2021) dirigidas por el Dr. Mikel Sánchez (Delgado et al., 2021), han mostrado que el efecto del PRP en modelos celulares del SNC, considerando las diferencias entre PRP de donantes jóvenes y ancianos, evaluando la respuesta celular en modelos in vitro del SNC, estudiando proliferación, neurogénesis, sinaptogénesis e inflamación. Si bien no se encontraron diferencias en la composición celular de los PRP, la composición molecular del PRP joven mostró niveles más bajos de moléculas inflamatorias como CCL-11, así como la presencia de otros factores no encontrados en PRP envejecido (GDF-11). Aunque ambos PRP tuvieron efectos en términos de reducción de la apoptosis de las células progenitoras neurales, estabilización de las sinapsis neuronales y disminución de la inflamación en la microglía, el efecto del joven PRP fue más pronunciado (Delgado et al., 2021). Por tanto, la composición molecular del PRP, condicionada por la edad de los donantes, afecta la magnitud de la respuesta biológica.

Igualmente, el grupo liderado por el Dr. Mikel Sánchez, ha demostrado muy recientemente (febrero de 2021) la posibilidad de nebulizar el Plasma Rico en Plaquetas para su administración por vía aérea (Beitia et al., 2021). Este tipo de administración podría ser aplicado en pacientes con infecciones respiratorias como la COVID-19, donde

los efectos más graves son los trastornos pulmonares y sus secuelas, como el síndrome respiratorio agudo grave (SARS) y la fibrosis pulmonar. La administración por vía aérea permitiría actuar directamente sobre el tejido pulmonar modulando la inflamación y la fibrosis, y estimulando los procesos reparativos sobre estructuras clave como la barrera alveolocapilar. Y es que las plaquetas desempeñan un papel fundamental en los trastornos respiratorios derivados de las infecciones víricas, ya que se encuentran en primera línea de defensa contra los virus y son esenciales para mantener la función pulmonar.

Por otra parte, se han descrito distintos protocolos para la aplicación práctica de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), asociada a la cirugía o como tratamiento de lesiones tendinosas y musculares (Sánchez et al., 2009; Sánchez et al., 2014a; Sánchez et al., 2014b; Sánchez et al., 2014c; Padilla et al., 2014; Vaquerizo et al., 2015). Siendo en esencia lo más relevante lo siguiente: Se prepara un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) a partir de la sangre del paciente, minutos antes de realizar la intervención. Este plasma incluye un número elevado de plaquetas, que contienen factores de crecimiento y otras proteínas. Mediante la adición de cloruro de calcio se provoca la activación del plasma y el vaciado de los gránulos alfa; de esta forma, se consigue aplicar factores de crecimiento en el mismo lugar de la lesión. Los factores de crecimiento contenidos en esta preparación inciden especialmente en las etapas iniciales de inflamación y proliferación, reduciendo la intensidad de la inflamación y acortando la duración de ambas etapas. El resultado final es una aceleración significativa de la recuperación funcional. La preparación y utilización correcta de los factores de crecimiento junto con la fibrina, contenidos en el PRGF, reporta beneficios clínicos considerables.

Las aportaciones de la investigación básica ampliaron la información de los procesos celulares y moleculares implicados en la reparación y regeneración de tejidos en general, y en particular de los tejidos del sistema musculoesquelético. Estos conocimientos permitieron el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas, entre ellas la utilización de factores de crecimiento (FCs).

Los factores de crecimiento (FCs) son proteínas con un efecto reconocido en la formación de tejido nuevo. En este sentido es evidente que los FCs liberados tras la desgranulación de las plaquetas en el lugar de la lesión proporcionan las señales iniciales para la activación de las células integrantes de los tejidos que rodean la lesión (5) Como respuesta a las señales que proporcionan estas moléculas, las células locales y las infiltradas sufren cambios en la proliferación, diferenciación y síntesis de proteínas con distintas funciones biológicas. Todos estos fenómenos, en conjunto, definen el proceso que se conoce como activación celular.

La utilización de una fracción plasmática, rica en factores de crecimiento, para suministrar FCs de manera eficaz, y acelerar la regeneración de tejido óseo y de los tejidos blandos adyacentes ha proporcionado muy buenos resultados clínicos (Anitua, 1999; Anitua et al., 2005; Anitua et al., 2006; Anitua et al., 2009; Anitua et al., 2011; Anitua et al., 2012; Anitua et al., 2013; Anitua et al., 2014; Anitua et al., 2015; Gómez-Caro et al., 2012; Kawakami et al., 2015; Perez-Zabala et al., 2016; Sánchez et al., 2009; Sánchez et al., 2014a; Sánchez et al., 2014b; Sánchez et al., 2014c; Padilla et al., 2014; Vaquerizo et al., 2015). Así, un reciente estudio realizado por los especialistas e investigadores de la Unidad de Cirugía Artroscópica del Dr. Mikel Sánchez (Sánchez et al., 2021), pone de manifiesto que el tratamiento con Plasma-Rico en Plaquetas (PRP) puede retrasar o incluso evitar la artroplastia total de rodilla o colocación de prótesis en pacientes con artrosis de rodilla. Se analizó el tiempo retraso y el porcentaje de pacientes que no tuvieron que someterse a una artroplastia total de rodilla. Dicho estudio se realizó con 1084 pacientes entre 2014 y 2019 y se evaluaron variables como la gravedad de la patología, el momento de la cirugía, la edad de los pacientes, el número de ciclos de PRP y la vía de administración. Los resultados concluyeron que el 74,1% de los pacientes del estudio retrospectivo – pacientes con artrosis de rodilla que se colocaron prótesis de rodilla entre 2014 y 2019 y recibieron infiltraciones previamente – lograron un retraso en la cirugía de más de 1,5 años, siendo la mediana de retraso de 5,3 años. Además, se realizó un estudio de supervivencia – pacientes con artrosis de rodilla que recibieron tratamiento PRP durante 2014 y con seguimiento hasta 2019 – mostrando que el 85,7% de los pacientes no se sometieron a dicha cirugía durante los cinco años de seguimiento (Sánchez et al., 2021).

Factores como el grado de gravedad, la edad, los ciclos de PRP y la vía de administración tuvieron influencia en la eficacia del PRP. Estos datos nos sugieren que la aplicación de este tratamiento puede retrasar hasta 10 años la edad de la artroplastia total de rodilla, no obstante, todavía se requieren más estudios para avanzar más en el conocimiento de esta técnica y en la optimización de los resultados clínicos.

2. Mecanismos biológicos que participan en la reparación de tejidos

Un recuerdo de la secuencia de mecanismos biológicos que tienen lugar durante la reparación facilita la comprensión del papel que desempeñan los FCs, en los citados mecanismos y los principios básicos de su utilización, así como la comprensión del potencial clínico del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF)

En términos generales, en la reparación de tejidos se reconocen tres fases consecutivas que se solapan entre sí: una fase inflamatoria aguda, una segunda fase de proliferación y reparación y una tercera fase de remodelado.

Desde una perspectiva molecular la respuesta de los tejidos a una lesión se caracteriza por un perfil determinado de secreción y actividad de los FCs que va variando a medida que evolucionan las fases de reparación. La liberación de dichos FCs, en respuesta a la lesión, está coordinada con un aumento en la expresión de receptores específicos para estos FCs.

En la fase aguda tras la lesión, los daños ocasionados en las membranas celulares, originan cambios en la permeabilidad vascular y como consecuencia trasvase de fluido, vasoconstricción reactiva, isquemia y cambios metabólicos. Clínicamente esta inflamación se manifiesta asociada a eritema, dolor y pérdida de función. En todo este proceso intervienen cambios vasculares, celulares y químicos, que van evolucionando en el transcurso de las distintas fases. En el mejor de los casos conducen a la reparación del tejido y, en casos desfavorables, a la degeneración crónica, al tejido cicatricial y a la formación de fibrosis y adherencias.

La **fase inflamatoria** se caracteriza por un aumento de la vasodilatación, inducida por el óxido nítrico (NO), y un incremento del flujo sanguíneo que facilita el movimiento secuencial de las distintas poblaciones celulares hacia el lugar de la herida. Los neutrófilos seguidos de monocitos y macrófagos, limpian la zona fagocitando los restos celulares del tejido dañado. Las señales moleculares iniciales suministradas por el coágulo sanguíneo que se forma tras la lesión vascular, son amplificadas por los macrófagos.

Este conjunto de proteínas señala el inicio de una segunda fase de proliferación y reparación. Los cambios característicos de esta fase son la formación del coágulo de fibrina, la migración celular de fibroblastos y células progenitoras que proliferan y sintetizan proteínas de la matriz extracelular, principalmente colágeno; existe una población de células locales que también proliferan en respuesta a estas señales proteicas.

Al final de la **fase de proliferación**, el coágulo provisional de fibrina se sustituye gradualmente, por otra estructura más permanente, formada por colágeno. Esta estructura se denomina tejido de granulación, invade el espacio de la lesión, y sería la característica de esta etapa. Paralelamente ha tenido lugar la angiogénesis: migración y proliferación de células endoteliales que invaden la estructura de fibrina y utilizan primero la fibrina y a continuación el tejido de granulación, como soporte.

En la **fase final de remodelado**, este tejido se reestructura y se sustituye por un tejido mejor organizado, cuyas fibras de colágeno se han orientado, y se caracteriza por un menor contenido celular y vascular y una matriz extracelular más densa.

En los protocolos de aplicación del PRGF en vez del coágulo sanguíneo que se forma tras la rotura de vasos en la fase inicial, y que está constituida por plaquetas, hematíes y leucocitos, se ocupa la zona de la lesión con un coágulo blanco, formado por una red de fibrina que contiene un número elevado de plaquetas. Este hecho cambia el entorno bioquímico de la lesión influyendo en la evolución clínica: se observa una disminución significativa de la inflamación, así como una aceleración de la fase de proliferación y de reparación.

3. Factores de crecimiento contenidos en el PRGF y su papel en la reparación

Existe la posibilidad de incidir en estos mecanismos, favoreciendo y acelerando el proceso global de reparación mediante el suministro de PRGF, plasma rico en factores de crecimiento, en el lugar de la lesión. Para comprender mejor el potencial clínico del PRGF es necesario tener algunas nociones de las características biológicas de estos FCs y de su mecanismo de acción. Los FCs contenidos en esta preparación actúan de forma autocrina y/o paracrina; afectan al comportamiento celular uniéndose a receptores específicos situados en la membrana de las células. No todos los fenotipos celulares tienen los mismos receptores, por tanto, el efecto del PRGF no será idéntico en todos los tejidos ni en todas las situaciones. También existen otras circunstancias que afectan a la biodisponibilidad de los FCs, en la preparación. Por ejemplo, una gran parte del TGF-beta y del IGF-I se encuentran en forma latente, esto es unido a otra proteína que los inactiva. Dependiendo de variables bioquímicas del entorno biológico, como el pH, dichas proteínas se activan, y están disponibles para interactuar con sus receptores. Como consecuencia de esta interacción se desencadena una cascada compleja de señales intracelulares, cuyo destino final es el núcleo de la célula, donde tiene lugar la activación de un gen específico. La consecuencia de esta activación es la transcripción de ARNm y finalmente la síntesis de una proteína concreta.

El plasma rico en plaquetas (PRP) se aplica ampliamente como un andamio bioactivo en la terapia celular y la ingeniería de tejidos. Se prepara a partir de plasma autólogo con plaquetas concentradas (Cervantes et al., 2018). En particular, las plaquetas contienen más de 300 moléculas biológicamente activas que se liberan tras la activación de las plaquetas alfa y gránulos densos y, posteriormente, regulan el proceso de regeneración tisular (Nurden et al., 2008; Nurden, 2011). Los factores derivados de plaquetas activados sirven como mensajeros y reguladores que influyen en una variedad de interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular (MEC) y sirven para modificar el microambiente pericelular (Everts et al., 2006; Rozman and Bolta, 2007; De Lima et al., 2010). Los factores de crecimiento más importantes liberados por las plaquetas en el PRP incluyen el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), el factor de crecimiento transformante - β (TGF - β), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el

factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) , factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), factores de crecimiento similares a la insulina 1 y 2 (IGF - 1 e IGF - 2), metaloproteinasas de matriz 2 y 9 e interleucina - 8 (Andia et al., 2013; rodríguez et al., 2014). Estas moléculas bioactivas desempeñan un papel importante en diferentes aplicaciones de la medicina regenerativa, que incluyen remodelación ósea, cicatrización de heridas, recrecimiento del cabello, regeneración nerviosa, envejecimiento de la piel facial, cicatrización del acné, alopecia androgénica y heridas diabéticas. Durante los últimos años, los estudios de cultivo han investigado la aplicación del PRP en la regeneración de diferentes tejidos.

4. Tipos de factores plaquetarios y sus principales funciones

Veamos una breve descripción de los distintos tipos factores y sus principales funciones:

- ✓ **PDGF** se identificó a principios de los años 70. Es un dímero formado por dos cadenas. Hasta ahora se habían identificado tres isoformas AA, BB, AB; que se unen a dos tipos específicos de receptores alfa y beta; la unión a receptores alfa tiene efectos quimiotácticos, y la unión a receptores beta efectos en la proliferación celular. Las plaquetas proporcionan el suministro inicial y el más abundante de PDGF. Es un mitógeno potente para fibroblastos, células endoteliales y musculares. Modula las actividades de otros factores de crecimiento. Recientemente se han identificado la cadena C y D y se estudia su presencia en las plaquetas, así como sus funciones (Blobe et al., 2000)
- ✓ **TGF-beta** se identificó en el año 83 por su capacidad de estimular la proliferación celular mediante un mecanismo que es independiente de la adhesión. Pertenece a una familia de proteínas, que incluye las BMPS, con actividades diversas. TGF-beta1 es abundante en las plaquetas se libera en el inicio de la reparación. Su ausencia en el lugar de la lesión retrasa la reparación, como se ha comprobado con ratones “knock-out” para esta proteína. Este factor es especialmente pleiotrópico, su actividad depende

de numerosos factores como concentración, presencia de otros factores de crecimiento, fenotipo celular etc. (Gilberston et al., 2001).

- ✓ **IGF-I**, la mayoría de los FCs son sintetizados por el megacariocito; sin embargo, IGF-1 y la proteína que modula su actividad biológica, IGFBP-3 (insulin growth factor binding protein-3) (Duan et al., 2002), se sintetizan en el hígado y desde ahí se liberan al torrente sanguíneo, donde son capturados por la plaqueta mediante un mecanismo de endocitosis, y posteriormente almacenados en los gránulos alfa.
- ✓ **HGF**, se describió inicialmente en 1992, como mitógeno para los hepatocitos. Se trata de una proteína multifuncional presente en los gránulos alfa plaquetarios.

Tres de los FCs presentes en el PRGF, se caracterizan principalmente por su participación activa en la angiogénesis. Éstos son VEGF, bFGF y EGF.

- ✓ **VEGF** se aisló en los años 70 y se identificó como mediador en la permeabilidad vascular. En la actualidad se conocen cinco isoformas distintas con distintos pesos moleculares. Actúa en receptores tirosina cinasa situados en las células endoteliales. Proporciona un estímulo angiogénico potente y prolongado, su efecto es sinérgico con bFGF.
- ✓ **FGF**: la familia de FCs ligados a heparina incluye 9 proteínas, de FGF1 a FGF9. FGF2, presente en plaquetas, contribuye a la angiogénesis en el tejido granulado estimulando la infiltración y proliferación de células endoteliales.
- ✓ **EGF**, se descubrió inicialmente en las glándulas salivares en 1962, fue el primer factor de crecimiento que se identificó; estimula la epitelización y también actúa en fibroblastos y células musculares lisas. La presencia de EGF, junto con TGF-beta y HGH explica los efectos curativos de la saliva, y que sea éste uno de los recursos, que utilizan los animales para lograr la cicatrización de las heridas (Playford and Macdonald, 1997).

Además de estos factores de crecimiento la preparación de PRGF contiene fibrinógeno que se transforma en un coágulo de fibrina, tras la adición, al plasma, de

cloruro de calcio. La red tridimensional de fibrina, asociada con fibronectina y vitronectina, proporciona una matriz provisional que actúa como soporte de las células infiltradas, éstas incluyen neutrófilos, monocitos, fibroblastos, células progenitoras y células endoteliales.

Esta red de fibrina no es inerte, y en ella se inician los mecanismos de la reparación. Las células infiltradas utilizan receptores de membrana tipo integrina que reconocen dominios específicos en la fibrina, vitronectina y fibronectina, interaccionando a través de ellos con dicha red tridimensional. Este hecho tiene mucha importancia porque estas interacciones de integrinas de la membrana celular con la red de fibrina influyen en la activación celular. Como consecuencia de estas interacciones, derivan señales de expresión génica que controlan la expresión de proteínas integrantes de la matriz extracelular o bien enzimas que la degradan como la colagenasa MMP-1, y además pueden modular la respuesta de las células a las distintas señales proteicas.

La malla de fibrina facilita la adhesión celular y la proliferación y no produce inflamación; además su estructura tridimensional facilita la angiogénesis en su interior, así como la deposición de matriz extracelular; dicha fibrina se reabsorbe una vez que ha servido como molde para la regeneración.

5. Preparación del PRGF

En lo que respecta a la preparación de los PRGF, distinguiremos entre el método pionero y más referenciado, y el resto.

5.1. Preparación del PRGF según Anitua (1999)

Siguiendo a Anitua (1999), la preparación sería como sigue:

Se realiza una extracción de sangre al paciente mediante punción venosa, unos minutos antes de comenzar la cirugía y de la administración de la anestesia. El volumen de sangre que se extrae se adaptará a cada caso clínico concreto, como se describe a continuación. La sangre se recoge en tubos que contienen citrato sódico al 3,8% como anticoagulante. El plasma se separa mediante centrifugación a 450 g (1800 rpm) durante ocho minutos (PRGF System® III, BTI, Vitoria) El volumen de plasma por tubo de 4,5

mL que se obtiene tras la centrifugación será de unos 2 mL, cuando el hematocrito esté dentro de los parámetros clínicos habituales. Como resultado de esta centrifugación se consigue un gradiente en la concentración de plaquetas.

La fracción plasmática de 0,5 mL situada inmediatamente por encima de la serie roja y la serie blanca es lo que denominamos PRGF. Se trata de una fracción de plasma con un alto contenido en plaquetas, unas tres veces el número de plaquetas presentes en sangre periférica; dichas plaquetas se caracterizan además por su mayor densidad comparando con las plaquetas de las otras fracciones y por esta razón durante el centrifugado se sitúan más abajo; esta mayor densidad se debe a que son plaquetas jóvenes, que llevan pocos días en el torrente sanguíneo y no han sufrido ningún desgaste ni activación parcial. La concentración de FCs en estas plaquetas es significativamente superior al resto de las plaquetas de las otras fracciones plasmáticas. Por esta razón este plasma es especialmente rico en FCs.

Para activar las plaquetas y coagular el fibrinógeno se añaden 50µL de cloruro cálcico por cada mL de plasma. Como resultado de la adición de cloruro de calcio, el plasma inicia un proceso dinámico de coagulación, que finaliza con la retracción del coágulo. En ese coágulo de fibrina recién formado están contenidos los FCs plaquetarios. Se puede controlar dicho proceso y formar el coágulo “in vitro” para su posterior aplicación o bien “in situ” aplicando el plasma recién activado todavía en fase líquida para que coagule en el mismo lugar de la lesión.

5.2. Preparación del PRGF según otros autores

La aplicación clínica del PRP se basa en las altas concentraciones de factores de crecimiento que se liberan de los gránulos alfa de las plaquetas concentradas y en la secreción de proteínas que pueden aprovechar el proceso de curación a nivel celular. La calidad y funcionalidad de las plaquetas dependen en gran medida del protocolo utilizado para preparar PRP. Se han realizado numerosos intentos para estandarizar los protocolos de preparación de PRP; sin embargo, existe una amplia variación entre los estudios con respecto a la velocidad de rotación, el tiempo de centrifugación, el volumen

sanguíneo y el agonista plaquetario anticoagulante, de modo que es difícil comparar directamente los resultados de estos protocolos propuestos (Piao et al., 2017).

El PRP se puede preparar mediante procedimientos de centrifugación de uno o dos pasos (Badran et al., 2018). El **protocolo de un solo paso** que se cita con más frecuencia es el protocolo de factor de crecimiento rico en plasma de Anitua (1999) mencionado anteriormente, que produce una suspensión de PRP con leucocitos mínimos y una concentración de plaquetas reducida, en relación con la producida por otras preparaciones de PRP (Franchini et al., 2018). En el protocolo de dos pasos más común, la sangre completa se centrifuga a una velocidad constante para formar tres capas: una capa inferior que contiene glóbulos rojos, una 'capa leucocitaria' central que contiene glóbulos blancos y una capa superior que contiene plaquetas suspendidas en plasma. La capa superior y parte de toda la capa leucocitaria (dependiendo de la fracción de leucocitos preferida en el aislado final) se transfieren luego a un nuevo tubo y se centrifugan nuevamente, lo que da como resultado un sedimento de plaquetas (Singh and Goldberg, 2016). La velocidad de centrifugación constante es un paso clave en la preparación de PRP, lo que permite un aumento en la concentración de plaquetas (Croise et al., 2019). Se debe prestar atención al uso de la fuerza de centrifugación adecuada para evitar dañar las frágiles plaquetas (Nikolidakis et al., 2008).

Actualmente hay varios métodos disponibles para la preparación de PRP que se muestran en la tabla del **Anexo 1**.

- Arora et al. (2016), estudiaron la concentración de plaquetas a través de diferentes protocolos de doble centrifugación. El grupo notó que, cuando aumentaba el tiempo de centrifugación, la concentración de plaquetas aumentaba. La concentración de plaquetas más alta se obtuvo por primera centrifugación a 440 g durante 20 min. Además, cuando el grupo investigó la tasa de liberación de diferentes factores de crecimiento, concluyó que el mejor protocolo fue 208 g durante 20 min porque la fuerza de centrifugación creciente condujo a una agregación plaquetaria y una mala liberación de factores de crecimiento.

- Eren et al. (2016) revelaron que el efecto del tiempo de centrifugación sobre la liberación de factores de crecimiento, usando 2660 rpm durante 10 min o 12 min. El tiempo de centrifugación prolongado aumentó significativamente la concentración de VEGF, pero no tuvo ningún efecto sobre otros factores de crecimiento.
- Amable et al. (2013), verificaron una doble centrifugación para el aislamiento de plaquetas y la cuantificación de citocinas y factores de crecimiento en 22 sujetos sanos. El mejor rendimiento para la concentración de plaquetas es de 300 g durante 5 min en el 1^{er} centrifugado.

La **segunda centrifugación** de 700 g durante 17 min se eligió para una menor pérdida de plaquetas (Amable et al., 2013). La condición óptima para obtener la mayor concentración de plaquetas determinada por Kahn et al. (1976). Se realizó una aceleración centrífuga de 3731 g durante 4 min utilizando una muestra de 478 mL de sangre total.

Así, otros autores desarrollaron distintos protocolos.

- Slichter y Harker (1976) investigaron que la mayor eficiencia de recuperación de plaquetas fue del 80% utilizando una muestra de 250 a 450 ml de sangre total centrifugada a 1000 g durante un período de 9 min.
- Bausset et al. (2012) establecieron un protocolo de doble concentración y encontraron que 130 o 250 g durante un período de 15 min era óptimo para obtener un factor de concentración de plaquetas de 3,47 a partir de 8,5 ml de sangre total.
- Yin et al. (2017), recogieron sangre periférica de 80 donantes voluntarios para investigar una doble centrifugación óptima. Las muestras de sangre se analizaron eligiendo fuerzas centrífugas relativas (RCF) de 110 a 450 g, tiempo de 10 a 15 min. Los resultados mostraron que 160 g durante 10 min y 250 g durante 15 min se designaron como las condiciones óptimas de centrifugación para el primer y segundo giro, respectivamente.

- Franco et al. (2012), obtuvieron una concentración de plaquetas 8,5 veces mayor ($603 \times 10^3 / \mu\text{L}$) al realizar una primera centrifugación a 400 g durante 10 min y 800 g durante 10 min para el segundo centrifugado de la capa leucocitaria.
- Mazzocca et al. (2012), analizaron tres protocolos para preparar muestras de PRP mediante el estudio con ocho sujetos sanos, una centrifugación a baja velocidad (1500 rpm durante 5 min), una centrifugación a alta velocidad (3200 rpm durante 15 min) y una doble centrifugación con un centrifugado suave de 1500 rpm durante 5 min y un centrifugado fuerte de 6300 rpm durante 20 min. Se observó una alta concentración de plaquetas con un paso de centrifugación a 3200 rpm durante 15 min en comparación con la velocidad baja o los giros dobles.
- Landesberg et al. (2000), utilizaron 5 ml de sangre total para dos vueltas a 200 g durante 10 minutos por vuelta y obtuvieron muestras de PRP que tenían aproximadamente 3,2 veces la concentración de la línea base de sangre total.
- Rutkowski et al. (2008), desarrollaron un método de preparación de PRP simple y reproducible. El paso de centrifugación de PRP de alta calidad sin alteración plaquetaria fue de 1350 g durante 10 min.
- Jo et al. (2013) examinaron el mejor protocolo del tiempo de centrifugación y la fuerza gravitacional en la tasa de recuperación de plaquetas de PRP con 39 muestras de sujetos sanos. Se utilizó centrifugación en dos pasos para preparar PRP. La primera centrifugación se evaluó de 500 a 1900 g durante 5 min y de 100 a 1300 g durante 10 min. En el paso 2, las plaquetas en el plasma separado se concentraron a 1000 g durante 15 min, 1500 g durante 15 min, 2000 g durante 5 min y 3000 g durante 5 min. La máxima eficiencia para el primer paso de centrifugación se obtuvo aplicando 900 g durante 5 min. Alcanzaron una eficiencia del 92% al realizar 1500 g durante 15 minutos para el segundo paso de centrifugación.

6. Tratamiento de las heridas crónicas

Las heridas crónicas (también llamadas tórpidas, inveteradas o recalcitrantes) se asocian con un aumento de la morbilidad y la mortalidad, tienen un impacto negativo en la calidad de vida del paciente y suponen una grave carga para el sistema de salud

(Brod, 1988; Singh et al., 2005). En concreto, las úlceras de extremidades inferiores son un grave problema que afecta al 0.5-1 % de la población, siendo más del 80% de ellas de causa venosa. Garber and Rintala (2003), estimaron que el coste del tratamiento de las heridas que no cicatrizan era muy elevado. Al momento actual, los informes coste-efectividad reportan que están implicadas en altas tasas de absentismo laboral (6 millones de días/año de trabajo perdidos en USA) y suponen un coste económico sanitario directo de mil millones de dólares al año (Sierra Martínez, 2019). Teniendo en cuenta otros costes indirectos, incluida la ausencia del trabajo, la pérdida del empleo, el coste del transporte médico, la asistencia con la vida diaria y los gastos de autocuidado y medicamentos, se ha estimado que se gastan casi 5 mil millones de dólares anualmente en los EE. UU. en el tratamiento de úlceras (Medina et al., 2005). Por lo tanto, promover la aceleración de la cicatrización de heridas es muy deseable, ya que es probable que mejore la calidad de vida del paciente y es probable que se reduzca el impacto económico en el sistema de atención médica.

Por otra parte, el tratamiento de las úlceras recalcitrantes es un gran desafío clínico. Los tratamientos actuales incluyen desbridamiento, descarga y tratamientos complementarios. Sin embargo, la respuesta al tratamiento es a menudo deficiente y el resultado decepcionante. Estas heridas ponen una extremidad en riesgo de infección y amputación y también ponen a los pacientes en riesgo de muerte. Teniendo en cuenta que la cicatrización óptima de heridas requiere la integración bien orquestada de eventos biológicos y moleculares complejos involucrados en la migración celular, la proliferación, la deposición y remodelación de la matriz extracelular (Harding et al., 2002), se han propuesto varios enfoques novedosos para el tratamiento de ulceraciones recalcitrantes. Estos incluyen el uso de células madre (Badiavas and Falanga, 2003), factores de crecimiento derivados de plaquetas (Knighton et al., 1986) y malla de fibrina (Laurens et al., 2006). Se ha informado que cada uno de estos enfoques aumenta el tiempo de respuesta de curación de heridas crónicas.

En las plaquetas, los factores bioactivos se encuentran en los gránulos α y los gránulos densos. En la regeneración de tejidos, la herida cicatriza a través de tres fases: inflamación, proliferación y remodelación. Los factores bioactivos están activos durante

cada una de estas fases. Los gránulos α contienen factores de crecimiento y citocinas, incluido el factor de crecimiento transformante β , factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento similar a la insulina I y II, factor de crecimiento de fibroblastos, factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento endotelial vascular y factor de crecimiento de células endoteliales. Estos factores de crecimiento y citocinas son importantes en la proliferación celular, quimiotaxis, diferenciación celular y angiogénesis (Ichioka et al., 2005). Los gránulos densos contienen serotonina, histamina, dopamina, calcio y adenosina. Estos factores de no crecimiento tienen efectos fundamentales sobre los aspectos biológicos de la reparación de tejidos. La histamina y la serotonina aumentan la permeabilidad capilar, lo que permite a las células inflamatorias un mayor acceso al sitio de la herida y activa los macrófagos. Los leucocitos polimorfonucleares migran hacia el área de la inflamación y poco después, las células comienzan a proliferar mientras que los fibroblastos ayudan a la formación de una sustancia fundamental. La activación del receptor de adenosina modula la inflamación durante la cicatrización de heridas (Foster et al., 2009). Por lo tanto, los factores bioactivos juegan un papel central en los procesos de curación al modular el reclutamiento, duplicación, activación y diferenciación de varios tipos de células. Las plaquetas se utilizan en forma de plasma rico en plaquetas (PRP) que se prepara en un proceso de dos pasos. La sangre completa se centrifuga inicialmente para separar el plasma de los glóbulos rojos y se centrifuga nuevamente para separar el PRP del plasma pobre en plaquetas (Gandhi et al., 2005). El PRP clínicamente valioso contiene al menos un millón de plaquetas por μl (4 a 5 veces más que la línea base sanguínea) (Marx, 2001). No se puede confiar en concentraciones menores para mejorar la cicatrización de heridas, y no se ha demostrado que concentraciones mayores aumenten la cicatrización de heridas (Mishra et al., 2009).

La malla/pegamento de fibrina es un adhesivo biológico tópico, cuyo efecto imita las etapas finales de la coagulación, donde la trombina se separa del fibrinopéptido A y B de la cadena de fibrinógeno para formar un monómero, que polimeriza para formar un coágulo de fibrina en el sitio de aplicación. La cola de fibrina es un tratamiento complementario prometedor en numerosos campos quirúrgicos y es beneficioso en procedimientos que implican un alto riesgo de hemorragia posoperatoria o pérdida de

aire, sangre y otros fluidos (Martinowitz and Spotnitz, 1997). Los coágulos de fibrina proporcionan una importante matriz extracelular temporal para la cicatrización de heridas. Por lo tanto, se utilizó pegamento de fibrina para aplicar una mezcla de plaquetas a la herida. La composición estructural de la fibrina y la unión de la fibrina a las células y proteínas determina el proceso de curación de la herida. Esto representa un vehículo de suministro ideal para células adicionales para el tratamiento de heridas crónicas (Laurens et al., 2008).

La matriz de colágeno funciona como un andamio para la regeneración. Cuando se aplica a un defecto de tejido, el brote de capilares y la migración de fibroblastos al colágeno da como resultado la inducción de angiogénesis y fibroplasia. Se ha demostrado la eficacia de la matriz de colágeno para el tratamiento de úlceras sacras profundas (Ichioka et al., 2005).

Según un estudio de Ravari et al. (2011), se planteó la hipótesis de que para aquellos pacientes que no respondieron a la terapia PFRP, considerando los factores patológicos asociados con las células mesenquimales fenotípicamente alteradas y / o senescentes en la herida, la terapia con células madre debería considerarse como un segundo enfoque para el tratamiento de heridas recalcitrantes. Si embargo, esta hipótesis requiere más estudio. Por otra parte, en otro estudio (Asadi et al., 2014), sobre diez pacientes, se evaluó el tratamiento de heridas recalcitrantes utilizando una aplicación combinada de PFC como vehículo de administración para la liberación sostenida de factores bioactivos derivados de plasma rico en plaquetas y fibrinógeno (PFRP) para estimular la cicatrización en úlceras recalcitrantes, en las que el tratamiento convencional con otros métodos, ha fallado. Hasta donde sabemos, ésta (Asadi et al., 2014) fue la primera vez que se aplicó esta combinación para el tratamiento de heridas crónicas. Sus resultados demostraron la viabilidad del modelo práctico propuesto como método no invasivo en el primer abordaje para el tratamiento de heridas potencialmente mortales. Por tanto, el uso de la terapia de colágeno con PFRP, que implica una combinación de liberación sostenida e inmediata de factores de crecimiento, curó o redujo significativamente el tamaño de la herida en las diversas categorías de úlceras recalcitrantes, incluidas las heridas profundas (heridas socavadas y en túnel) y

superficiales. No hubo evidencia de complicaciones locales o sistémicas asociadas con el procedimiento. Por lo tanto, sobre la base de estos resultados, sería también interesante realizar estudios más amplios, con el objetivo de evaluar más a fondo la terapia de colágeno-PFRP para el tratamiento de úlceras recalcitrantes.

7. Hidroxiurea

Un inhibidor específico del ciclo celular, la hidroxiurea (HU) es un medicamento oral que se usa comúnmente para tratar los trastornos mieloproliferativos como la trombocitemia esencial (ET), que se caracteriza por una elevación plaquetaria persistente y una alteración funcional y policitemia vera (PV) donde lo que se produce es una elevación de los glóbulos rojos. Sin embargo, la HU se asocia con varias reacciones adversas, como depresión de la médula ósea, efectos adversos sistémicos (que incluyen fatiga, dolor de cabeza y síntomas gastrointestinales) y reacciones dermatológicas (que incluyen atrofia cutánea, sequedad y úlceras cutáneas) (Quattrone et al., 2013). Las úlceras crónicas de las extremidades inferiores (CLEU) son una reacción adversa rara, y solo aproximadamente el 5% de los pacientes se ven afectados (Latagliata et al., 2012). Las úlceras múltiples o bilaterales suelen presentarse en la región perimaleolar y se acompañan de dolor intenso atrófico periférico (Bader et al., 2000).

Los regímenes de tratamiento como el desbridamiento y el cuidado de heridas requieren la interrupción de la HU. En pacientes para los que la interrupción de la HU no es adecuada, como aquellos que no pueden tolerar tratamientos alternativos, no existe una cura eficaz para estas úlceras. En un estudio pionero (Zhao et al., 2019), los investigadores describieron a un paciente con CLEU asociados con la terapia ET y HU, que experimentó la curación completa de las úlceras después de cuatro rondas de terapia con plasma rico en plaquetas (PRP) alogénico.

8. Gel plaquetario alogénico o tratamiento con hidrogel

En lo que respecta a la regeneración de heridas crónicas con gel plaquetario alogénico o tratamiento con hidrogel, hemos de recordar, en primer lugar, que las plaquetas son pequeños (1-3 μm) (Everts et al., 2006), fragmentos de células anucleares, derivados en la médula ósea de megacariocitos por fragmentación celular (Rožman and

Bolta, 2007; Golebiewska and Poole, 2015; Borst et al., 2017). La diferenciación plaquetaria está dirigida por varios factores de crecimiento, siendo el más notable la trombopoyetina (Rožman et al., 2011). Su vida útil es de 7-9 días y la concentración de plaquetas en sangre periférica de un adulto sano es de $150-300 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Wasterlain et al., 2012; Piccin et al., 2017).

Las plaquetas contienen al menos 60 moléculas presintetizadas biológicamente activas, por ejemplo, proteínas citoesqueléticas, moléculas de señalización, proteína de membrana, factores de crecimiento, proteínas de coagulación, moléculas de adhesión, moléculas que activan las células, citocinas, integrinas, moléculas inflamatorias y otras (Rožman and Bolta, 2007; Ahmed et al., 2017). Estas moléculas se almacenan en uno de los tres tipos principales de gránulos de plaquetas. La primera forma de gránulos son gránulos densos. Hay 3-8 gránulos densos por plaqueta; se liberan por exocitosis y contienen varios principios activos (difosfato de adenosina / trifosfato de adenosina (ADP / ATP), serotonina, Ca^{2+}) (Gobbi and Vitale, 2012; Li et al., 2017). Hay 50-80 gránulos alfa (α) por plaqueta (Andia et al., 2012; Li et al., 2017), y liberan una gran cantidad de diferentes factores de crecimiento, quimiocinas y citocinas (Gobbi and Vitale, 2012; Li et al., 2017). Aunque hay más de 300 proteínas diferentes en los gránulos α (Andia et al., 2012; Pagel et al., 2017), parece que los factores de crecimiento más importantes en las plaquetas son los tres isómeros del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ y $\alpha\beta$, factor de crecimiento transformante (TGF) $-\alpha$ y $-\beta$, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y factor de crecimiento epidérmico (EGF), ya que inician la cicatrización de heridas (Marx, 2004; De Pascale et al., 2015).

También son importantes otros factores de crecimiento que se encuentran en las plaquetas, es decir, factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas (PDEGF), factor de angiogénesis derivado de plaquetas (PDAF), interleucina-8 (IL-8), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), factor de crecimiento de queratinocitos (KGF) y angiopoyetina-2 (Ang-2) (Rožman et al., 2011). Todos los factores de crecimiento mencionados anteriormente participan en la cicatrización de los tejidos, influyendo en mecanismos

como la quimiotaxis, la proliferación celular, la diferenciación celular, la eliminación de restos celulares, la angiogénesis, la modulación inmunitaria, la actividad antimicrobiana y la remodelación tisular (Rožman and Bolta, 2007; Alsousou et al., 2009; Andia et al., 2012). El último tipo de gránulos de plaquetas son los lisosomas que contienen enzimas responsables de la inducción de proteínas y la regeneración de la matriz (catepsinas D y E, elastasa, hidrolasas ácidas) (Anitua et al., 2004; Gobbi and Vitale, 2012; Li et al., 2017).

Cuando las plaquetas se adhieren a las moléculas expuestas del epitelio lesionado o se unen a agonistas fisiológicos como trombina, ADP, colágeno, tromboxano A₂, epinefrina o factores activadores de plaquetas, se activan (Rožman and Bolta, 2007). Este proceso conduce a un rápido cambio de forma de las plaquetas, al desarrollo de pseudópodos debido a la reorganización del citoesqueleto y, finalmente, a la agregación plaquetaria (Everts et al., 2006).

La activación plaquetaria también provoca la liberación del contenido de los gránulos α en el entorno circundante debido a su fusión con la membrana plasmática plaquetaria, conocida como desgranulación (Mehta and Watson, 2008; Li et al., 2017). La mayoría (95%) del contenido presintetizado de los gránulos de plaquetas se libera dentro de 1 hora de la activación, mientras que los factores de crecimiento adicionales se sintetizan y liberan hasta el final de la vida útil de las plaquetas (Marx, 2004).

Además de su papel en la hemostasia, donde las plaquetas ayudan a prevenir la pérdida de sangre en el sitio de la lesión, también juegan un papel importante en la defensa inmunológica, la formación de tejidos y la regeneración (Anitua et al., 2004; Rožman et al., 2011; Li et al., 2017). Debido a estos hallazgos, las plaquetas comenzaron a usarse con éxito para una curación más rápida de heridas crónicas. Hasta la fecha, el uso de plaquetas autólogo está más extendido, sin embargo, existen muy pocos estudios (Asadi et al., 2014; Semenič et al., 2018; Zhao et al., 2019; He et al., 2020; Liao et al., 2020) que se centren en la eficacia del uso del plasma rico en plaquetas alogénico (al-PRP) y del gel de plaquetas con el fin de acelerar la cicatrización de heridas crónicas. En este sentido, Semenič et al. (2018), propusieron ampliar el conocimiento sobre PRP y evaluar la eficacia y seguridad de un nuevo método de activación de PRP en un gel de plaquetas utilizado para el tratamiento de úlceras crónicas de la pierna que no cicatrizan.

Tradicionalmente, la activación plaquetaria se logra agregando trombina y calcio al PRP. Cuando las plaquetas en el PRP autólogo se activan, se forma un gel de plaquetas. Se desarrolló por primera vez a principios de la década de 1970. El primer uso clínico de la mezcla de plaquetas, fibrinógeno y trombina como "adhesivo corneal" data de 1975 (Rosenthal et al., 1975). En 1979, se utilizó "espuma de gel" de plaquetas para obtener una anastomosis nerviosa sin suturas (Fischer, 1979). En los últimos años, el uso de gel de plaquetas se ha extendido a diferentes campos quirúrgicos (Martínez-Zapata et al., 2009). El hecho de que la fibrina pueda impulsar la migración de fibroblastos y la deposición de colágeno, lo que lleva a la formación de tejido de granulación, también ofrece la posibilidad de utilizar gel de plaquetas en el tratamiento de defectos tisulares (Brändstedt et al., 1980).

9. Aplicación de al-PRP o au-PRP en úlceras de las extremidades inferiores

En lo referente al tratamiento al-PRP o au-PRP de las úlceras de las extremidades inferiores, cabe señalar previamente que las úlceras de las extremidades inferiores afectan a millones de personas, lo que genera un importante problema de salud pública y una carga económica (Singer et al., 2017). La diabetes es una de las causas más comunes de úlceras en las extremidades inferiores (Kirsner and Vivas, 2015). Las úlceras diabéticas de las extremidades inferiores (DLEU) son propensas a ser crónicas y refractarias con un alto riesgo de amputación (Humphries et al., 2016; Armstrong et al., 2017). Por lo tanto, explorar nuevas tecnologías para acelerar la cicatrización de heridas es la clave para reducir la discapacidad y la mortalidad. Una revisión sistemática realizada por el Grupo de Trabajo Internacional sobre Pie Diabético para evaluar el efecto de la terapia celular, incluidas las plaquetas, las células madre y los factores de crecimiento, indicó que el plasma rico en plaquetas (PRP) tiene un resultado clínico prometedor en la cicatrización de heridas (Game et al., 2016).

El PRP es un concentrado de plaquetas separado de la sangre total por centrifugación. El PRP se ha aplicado ampliamente en los campos de la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa (Alsousou et al., 2013; Lang et al., 2018). El beneficio teórico del PRP ha sugerido una influencia positiva en la migración, proliferación y angiogénesis in vitro, así como en estudios en animales y humanos (Alsousou et al., 2013;

Etulain et al., 2018; Tambella, Martin, Cantalamessa, et al., 2018). Basado en la fuente de sangre completa, el PRP se prepara comúnmente como plasma rico en plaquetas autólogo (au-PRP) y plasma rico en plaquetas alogénico (al-PRP). En los campos de la medicina veterinaria y la medicina humana, el au-PRP podría considerarse una terapia complementaria eficaz para promover la cicatrización de las heridas de la piel en animales (Tambella et al., 2013; Tambella, Attili, Dupré, et al., 2018). Asimismo, se ha comprobado que el au-PRP es un tratamiento de viabilidad y seguridad para las úlceras venosas de la pierna (Burgos et al., 2018; Moneib et al., 2018). Además, el PRP también se utilizó para la medicina regenerativa en otros campos médicos, como la traumatología, la oftalmología y la odontología (Del Fabbro et al., 2017; Faillace et al., 2017; Görmeli et al., 2017; Alio et al., 2018; Bhujbal et al., 2018; Huang et al., 2019; Marcazzan et al., 2018). En particular, au-PRP puede mejorar la cicatrización en el tratamiento de las úlceras del pie asociadas a la diabetes (Picard et al., 2015; Martinez et al., 2016). Estudios previos, tanto clínicos como básicos, sugieren que el au-PRP no solo juega un papel en la estimulación de la regeneración de los tejidos blandos, sino que también muestra propiedades biológicas antibacterianas en el tratamiento de las úlceras del pie diabético con infección grave (Deng et al., 2016; Li et al., 2019). Sin embargo, los pacientes con DLEU suelen tener complicaciones y comorbilidades graves. Además, el protocolo para la preparación de au-PRP es variable y los resultados terapéuticos carecen de reproducibilidad (Anitua and Prado, 2019). Debido a las complicadas condiciones clínicas, la aplicación de au-PRP para pacientes con DLEU es limitada. Vale la pena investigar si el al-PRP puede tener efectos terapéuticos fiables y seguros en comparación con el au-PRP. Según una revisión de la literatura, solo unos pocos estudios piloto o de casos de al-PRP se han utilizado para promover la regeneración de tejidos con una inmunogenicidad insignificante y una gran eficacia curativa (Scevola et al., 2010; Zhang et al., 2013). La aplicación de al-PRP para el tratamiento con DLEU se ha investigado menos. Además, no se ha realizado ningún estudio para comparar la seguridad y eficacia de al-PRP sobre au-PRP.

10. Osteonecrosis mandibular secundaria al uso de Bifosfonatos

Los bifosfonatos son agentes reguladores del metabolismo óseo que se usan principalmente en la prevención y el tratamiento de enfermedades de resorción ósea como la osteoporosis primaria y en procesos oncológicos y oncohematológicos para prevenir eventos esqueléticos relacionados con la enfermedad (fracturas óseas fundamentalmente). La utilización de bifosfonatos en el tratamiento de soporte del mieloma múltiple (MM) está indicada al menos durante los dos primeros años desde el diagnóstico de la enfermedad.

Se ha reconocido que la osteonecrosis de la mandíbula es un efecto secundario potencial (< 5%) en pacientes que reciben tratamiento con bisfosfonatos a largo plazo (Steller et al., 2019). Esta afección, conocida popularmente como osteonecrosis de la mandíbula relacionada con los bisfosfonatos (BRONJ), se ha rebautizado como MRONJ (osteonecrosis de la mandíbula relacionada con la medicación) para adaptarse al número creciente de casos de osteonecrosis de la mandíbula asociada con varias otras terapias farmacológicas antirresortivas y antiangiogénicas (Inchingolo et al., 2017). Se define como el hueso necrótico expuesto que involucra las estructuras maxilofaciales en pacientes tratados con bisfosfonatos, y la fisiopatología de esta enfermedad sigue sin estar clara.

Se ha observado una inhibición de la función de los osteoclastos, pero los osteoblastos y los fibroblastos también se ven afectados negativamente en términos de proliferación alterada. El tratamiento local aditivo con plasma rico en plaquetas (PRP) y fibrina rica en plaquetas (PRF) promueve la adhesión, proliferación y migración de las células debido a las altas concentraciones de factores de crecimiento como PDGF, TGF e IGF (Steller et al., 2019).

La fibrina rica en plaquetas es un sistema de concentrado de sangre que se utiliza para la regeneración de tejidos blandos y óseos. En la última década, la fibrina rica en plaquetas (PRF) ha sido ampliamente utilizada en diferentes campos de indicación, particularmente en cirugía oral y maxilofacial.

Aunque según una revisión (López-Jornet et al., 2016), no hay datos científicos publicados que apoyen suficientemente ningún protocolo de tratamiento específico,

incluido el uso de concentrado de plaquetas autólogo (*autologous platelet concentrate*, APC) junto con el desbridamiento quirúrgico, para el manejo de MRONJ, y que se necesitan ensayos clínicos controlados aleatorios del uso de APC. Por otra parte, en otra revisión (Ghanaati et al., 2018) se investigó el nivel de evidencia científica de los artículos publicados relacionados con el uso de PRF para la regeneración ósea y de tejidos blandos en odontología y cirugía maxilofacial. Se encontraron un total de 392 artículos. Al comparar PRF con biomateriales versus biomaterial solo en elevación de seno (5 estudios; IIa), no se detectaron diferencias estadísticamente significativas. La preservación de la cavidad y el aumento de la cresta con PRF mejoraron significativamente la formación de hueso nuevo en comparación con la curación sin PRF (7 estudios Ib, IIa, IIb). Se logró la reepitelización y la regeneración ósea en 96 de 101 pacientes diagnosticados con osteonecrosis de la mandíbula relacionada con la medicación (5 estudios, III). En periodoncia, la PRF sola (6 estudios; Ib, IIa, IIb) o su combinación con biomateriales (6 estudios; Ib, IIa, IIb) mejoró significativamente la profundidad de la bolsa y la pérdida de inserción en comparación con un tratamiento sin PRF. Más del 70% de los pacientes formaban parte de estudios con un alto nivel de evidencia científica (estudios prospectivos aleatorizados y controlados). Esta evidencia publicada (38 artículos), con un alto nivel científico, mostró que la PRF es una herramienta beneficiosa que mejora significativamente la regeneración ósea y de tejidos blandos (Ghanaati et al., 2018). Sin embargo, la comunidad clínica requiere una estandarización de los protocolos de PRF para examinar más a fondo el beneficio de la PRF en la regeneración de huesos y tejidos blandos en estudios reproducibles, con un mayor nivel de evidencia científica.

Por otra parte, también se ha sugerido que un procedimiento combinado mediante el abordaje quirúrgico utilizando diferentes dispositivos: láser Er: YAG (2940 nm) para remover y vaporizar tejido duro necrótico hasta sangrar hueso; PRP para estimular la cicatrización de los tejidos duros y blandos; láser de diodo (808 nm) para bioestimular el sitio quirúrgico, durante todos los pasos del tratamiento con MRONJ permite realizar una cirugía más rápida y menos invasiva con un proceso de curación postoperatoria más cómodo y representa un abordaje innovador en este evento adverso severo (Fornaini et al., 2017). En línea con esto, también se ha propuesto (Mauceri et al.,

2018) que un tratamiento quirúrgico conservador que combina el láser Er, Cr: YSGG y PRP para el tratamiento de BRONJ en pacientes con cáncer, resulta efectivo y eficaz.

Por tanto, el tratamiento de la osteonecrosis de la mandíbula relacionada con los bisfosfonatos (BRONJ), sin pautas basadas en la evidencia, sigue siendo controvertido.

11. PRP en cirugía oral y maxilofacial

Así, la odontología regenerativa es un campo emergente de la medicina que involucra la tecnología de células madre, la ingeniería de tejidos y la ciencia dental. Aprovecha los mecanismos biológicos para regenerar los tejidos bucales dañados y restaurar sus funciones. El plasma rico en plaquetas (PRP) es un producto biológico que se define como la parte de la fracción plasmática de sangre autóloga con una concentración de plaquetas superior a la de la sangre completa original (Anitua 1999). Los gránulos de plaquetas contienen una supermezcla de citocinas clave y factores de crecimiento. Por lo tanto, la aplicación de PRP ha ganado una atención sin precedentes en la medicina regenerativa en general (Sánchez et al., 2009; Gómez-Caro et al., 2012; Sánchez et al., 2014a; Sánchez et al., 2014b; Sánchez et al., 2014c; Padilla et al., 2014; Kawakami et al., 2015; Vaquerizo et al., 2015; Pérez-Zabala et al., 2016) y en la odontología en particular (Anitua, 1999; Anitua et al., 2005; Anitua et al., 2006; Anitua et al., 2009; Anitua et al., 2011; Anitua et al., 2012; Anitua et al., 2013; Anitua et al., 2014; Anitua et al., 2015). La razón fundamental subyacente a la utilización de PRP es que actúa como un biomaterial para entregar factores de crecimiento críticos y citocinas de los gránulos de plaquetas al área objetivo, promoviendo así la regeneración en una variedad de tejidos. Sobre la base de una mejor comprensión de la señalización celular y la biología del factor de crecimiento, los clínicos han comenzado a utilizar el tratamiento con PRP como un método novedoso para regenerar los tejidos dañados, incluidos el hígado, los huesos, los cartílagos, los tendones y la pulpa dental (Xu et al., 2020). Para permitir una mejor comprensión de los efectos regenerativos del PRP en odontología, es preciso conocer diferentes métodos de preparación y aplicación de este producto biológico, y justificar mediante explicaciones detalladas las controversias y perspectivas futuras relacionadas con el uso de PRP en la medicina regenerativa dental y por extensión máxilofacial.

Por todo ello, el potencial regenerativo del PRP se ha explorado con considerable profundidad durante las últimas dos décadas. El objetivo principal del uso de PRP en cirugía oral es regenerar nuevos tejidos durante el proceso de curación. Se ha sugerido que las plaquetas en el PRP liberan un conjunto de factores de crecimiento que reclutan células reparadoras y promueven varios procesos biológicos necesarios para la reparación de los tejidos blandos y la regeneración del hueso alveolar (Yang et al., 2015). Además, el PRP es autólogo y relativamente fácil de preparar en una clínica dental (Zhu et al., 2013). Por tanto, el uso de PRP abre nuevas vías en el campo de la reparación y regeneración de tejidos en la cirugía oral.

Varios estudios han demostrado que el gel de PRP puede reducir significativamente el dolor y el malestar posoperatorio después de la avulsión del diente y puede evitar el desarrollo de osteítis (Del Corso et al., 2012). Alissa et al. (2010), evaluaron el efecto del PRP en la curación de alveolos de extracción. Los hallazgos de sus estudios sugirieron que el dolor postoperatorio se redujo significativamente con una cicatrización de tejidos blandos clínicamente apreciable en pacientes tratados con PRP, en comparación con el grupo de control. En un estudio de pacientes que se habían sometido a la extracción del tercer molar, Ogundipe et al. (2011) mostraron que el tratamiento con PRP condujo a la reducción del dolor, así como a la mejora de la hinchazón y la apertura de la boca. Ruktowski et al. (2010) mostró que hubo un aumento significativo en la densidad radiográfica sobre el nivel de línea de base después de la extracción del diente. Prataap et al. (2017), informaron que el PRP autólogo es un material biocompatible que mejora la cicatrización de los tejidos blandos, reduce el dolor y disminuye la incidencia de osteítis alveolar en el alveolo de extracción. En estos estudios, la definición exacta de los productos PRP probados no está clara, debido a la falta de una terminología coherente y los malentendidos asociados. Sin embargo, una evaluación cuidadosa de los datos publicados revela que los geles de plasma rico en leucocitos y plaquetas (L-PRP) y plasma rico en plaquetas puro (P-PRP) son probablemente los productos probados con mayor frecuencia en la cirugía oral y maxilofacial (del Corso et al., 2012).

Los productos asociados al PRP se han estudiado in vitro e in vivo tanto en cirugía maxilofacial como en cirugía general, y actualmente se utilizan para diversas aplicaciones ortopédicas y traumatológicas (Sánchez et al., 2009; Sánchez et al., 2014a; Sánchez et al., 2014b; Sánchez et al., 2014c; Padilla et al., 2014; Vaquerizo et al., 2015). Los investigadores clínicos recomiendan el uso de PRP antes o junto con la colocación de implantes dentales para aumentar la velocidad y la calidad de la regeneración de los depósitos óseos (Sánchez et al., 2018). Cuando se utiliza como parte de un enfoque terapéutico simple y seguro, el PRP se muestra prometedor en numerosos estudios en cirugía oral y maxilofacial.

Por otra parte, con toda humildad hemos de apuntar que nuestro grupo, acumula experiencia desde enero del año 2012 en el manejo de PRP obtenido de donante (Vidán et al, 2013), con resultados prometedores, toda vez que hemos utilizado plaquetas alogénicas isogrupo ABO procedentes de donantes sanos, en el manejo de úlceras cutáneas y osteonecrosis mandibular secundarias.

JUSTIFICACIÓN.

Hipótesis y objetivos

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

Por estos motivos se pretende realizar un estudio en el que la utilización de plaquetas alogénicas isogrupo ABO procedentes del servicio de transfusión, se pueda emplear en la medicina regenerativa por su capacidad de secretar FC y otros materiales bioactivos tras un procedimiento de congelación a -40°C y posterior descongelación que permite la desintegración plaquetaria y liberación de los PDGF responsables de la cicatrización de las heridas. El uso de PDGF procedentes de aféresis de plaquetas, para úlceras crónicas en pacientes refractarios a otro tipo de tratamientos podría ser actualmente una alternativa real para conseguir una mejoría evidente e incluso la curación completa de las lesiones.

HIPÓTESIS de INVESTIGACIÓN

Nuestra hipótesis es que el tratamiento con factores de cicatrización derivados de las plaquetas (*Platelet-Derived Growth Factor, PDGF*) procedentes de aféresis de donante único (al-PRP), produce una regeneración tisular y mejora las úlceras cutáneas secundarias a *Hydrea*®, lesiones de osteonecrosis mandibular secundaria a bifosfonatos y úlceras cutáneas de evolución tórpida.

Se ha trazado por lo tanto una Hipótesis nula (H_0); la cual parte de la base de que no existen diferencias entre los porcentajes o los valores comparados.

Esta H_0 se enuncia del siguiente modo:

- “Las variables estudiadas no están relacionadas con la mejoría de la lesión (úlceras)”.
- “Las variables estudiadas no están relacionadas entre sí”.

La Hipótesis Alternativa (HA) nos definirá lo contrario; que “sí existen diferencias significativas entre las variables estudiadas y por lo tanto los resultados no son debidos al azar. Las variables estudiadas y la mejoría son variables dependientes”. “Las variables estudiadas son dependientes entre sí, están relacionadas”.

OBJETIVOS

Nuestro estudio se orienta a comprobar el efecto del tratamiento con factores de cicatrización derivados de las plaquetas (*Plateled Derived Growth Factor, PDGF*) procedentes de aféresis de donante único, en el tratamiento de úlceras cutáneas secundarias a *Hydrea®*, lesiones de osteonecrosis mandibular secundaria a bifosfonatos y úlceras cutáneas de evolución tórpida.

Objetivos específicos serían:

- Analizar y evaluar si la técnica de preparación influye y en qué medida, en la concentración y viabilidad de las plaquetas.
- Analizar y evaluar las ventajas de trabajar con plaquetas obtenidas por aféresis.
- Analizar y evaluar las ventajas de trabajar con plaquetas de un solo donante, en comparación con las plaquetas de pool que proceden de diversas unidades de sangre total.
- Analizar las ventajas y desventajas del procedimiento de congelación-descongelación para activar las plaquetas con respecto a otros procedimientos que las activan mediante la agregación de cloruro de calcio o similar.
- Establecer un modelo o perfil de variable para determinar cuál o cuáles es la que más influye en que el tratamiento mediante aféresis al-PRP, sea eficaz en la curación de las úlceras o lesiones mucocutáneas.
- Analizar y evaluar si el uso de al-PRP podría proporcionar una terapia biológica, factible, eficaz y segura como una solución lista, para usar para las DLEU.

- Analizar y evaluar si el uso de al-PRP podría proporcionar una terapia biológica, factible, eficaz y segura como una solución lista, para usar para las úlceras derivadas de ON.
- Evaluar si la aplicación de plaquetas alogénicas podría ser considerada, cuando los pacientes tienen alguna limitación o imposibilidad para la extracción de la sangre.

MATERIAL Y MÉTODOS

1. Diseño del estudio

Si bien en un principio nos planteamos realizar un ensayo clínico, los aspectos éticos nos impidieron diseñar un estudio sobre la eficacia del al-PRP (frente a placebo), dado que no podemos privar a un paciente de un tratamiento que necesite. Por otra parte, tampoco pudimos realizar un estudio sobre la efectividad (frente a otros procedimientos) porque el reclutamiento de los sujetos es en base a aquellos pacientes que son derivados de otros servicios precisamente para el tratamiento con al-PRP.

Por todo lo anterior, el diseño del estudio experimental fue: estudio longitudinal, prospectivo.

2. Muestra

Si bien es cierto que ya desde enero del año 2012 realizamos un estudio preliminar para cuantificar la viabilidad de la investigación, entre enero de 2016 y febrero 2020 fueron tratados con PDGF procedentes de aféresis de donante, pacientes con osteonecrosis mandibular y con úlceras cutáneas. En todos los casos, se optará por aféresis de plaquetas de donante único dada la imposibilidad de ser donantes autólogos (edad avanzada o carecer de accesos venosos, neoplasias activas: mieloma múltiple, síndromes mieloproliferativos crónicos, etc.).

Hemos de matizar que en nuestro trabajo de tesis doctoral presentamos un número mayor de casos que de pacientes reclutados. Esto es debido a que contabilizamos como 'caso' toda lesión; y reclutamos algunos pacientes con más de una lesión; de ahí la no coincidencia del número de sujetos con el número de casos. Por ello aclaramos que cuando en nuestro estudio nos referimos, sea el análisis que sea, a una "N", nos referimos a 'nº de casos'.

Así, la muestra se compone finalmente de **22 pacientes**, de los cuales.

Hematológicos (n=15):

- 8 diagnosticados de Mieloma Múltiple (MM).

- 1 diagnosticado de Linfoma no Hodgkin (LNH).
- 6 diagnosticados de síndrome mieloproliferativo crónico (SMPc).
 - 4 PV
 - 2 TE

No Hematológicos (n=7):

- 1 sujeto con carcinoma renal con metástasis óseas.
- 6 pacientes son derivados de los servicios de Cirugía Vascular o Traumatología y Cirugía Ortopédica, por tanto, son considerados como “vasculares”.

O dicho de otro modo, **22 pacientes:**

- 9 con osteonecrosis: 8 MM y 1 con carcinoma renal
- 13 úlceras crónicas: 2 TE, 4 PV, 1 LNH, 5 vasculares, 1 “traumatológico”.

En los siguientes diagramas se muestra la síntesis de nº de pacientes/nº de casos:

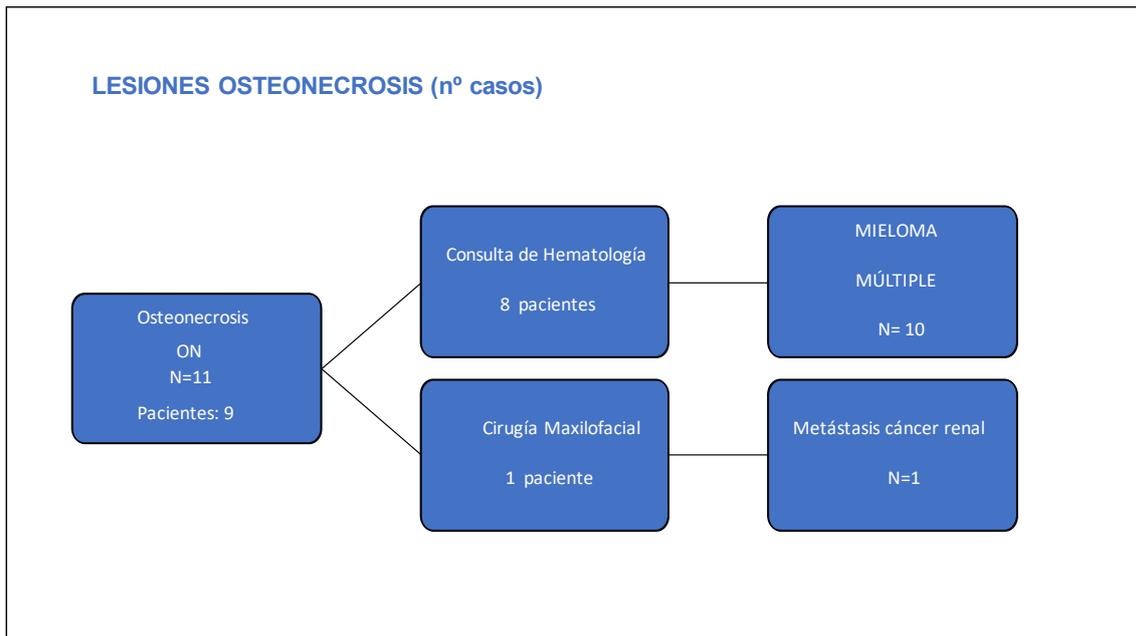


Diagrama 1. Diagrama de flujo de pacientes correspondientes a osteonecrosis.

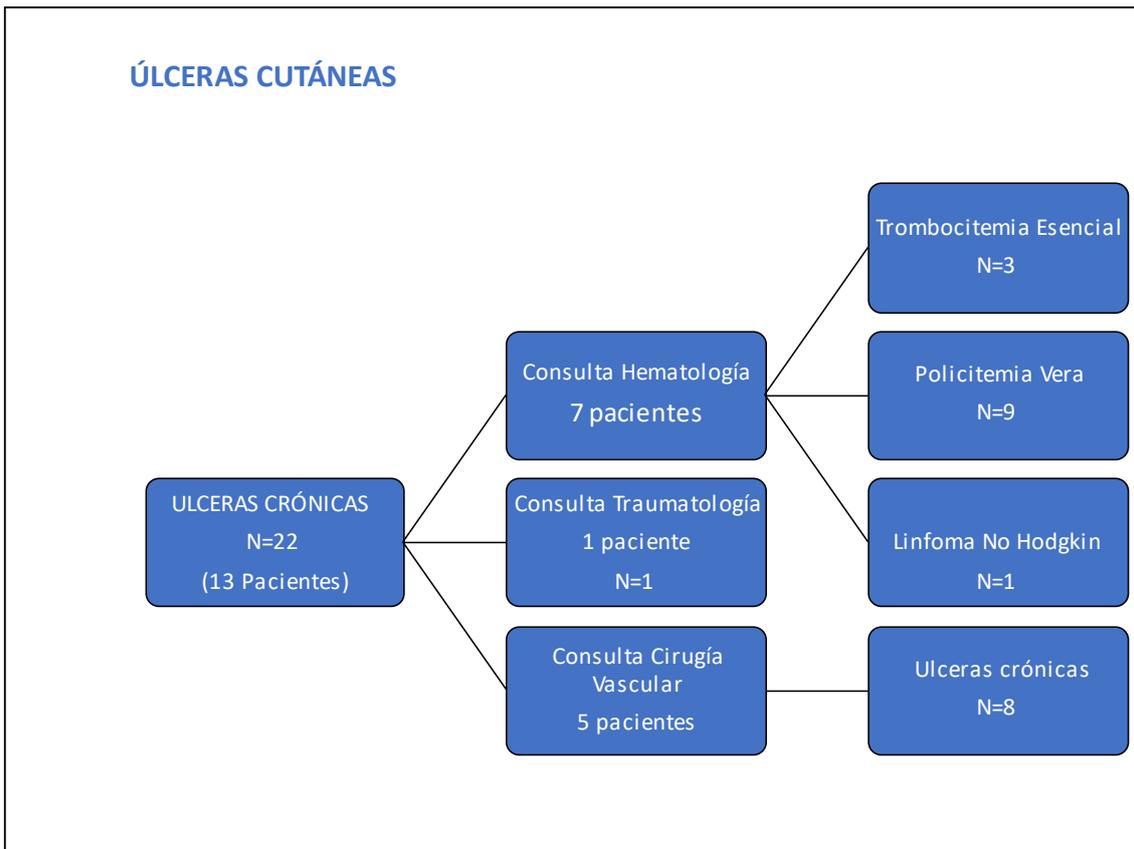


Diagrama 2. Diagrama de flujo de pacientes correspondientes a úlceras cutáneas.

3. Criterios de Inclusión

- Sujetos que presenten úlceras crónicas en pacientes refractarios a otro tipo de tratamientos.
- Sujetos derivados al Servicio de hematología, procedentes de otros servicios como Cirugía Vasculuar, Cirugía Máxilo-facial, y Cirugía Ortopédica y Traumatología (COT).
- Pacientes con osteonecrosis mandibular, secundarias al uso de bifosfonatos (tipo Zometa®).
- Pacientes con úlceras cutáneas secundarias al uso de Hydrea®
- Pacientes con úlceras tórpidas de mala evolución.
- Pacientes sin buenos accesos venosos (que es el criterio por el que usamos aféresis de donante, de lo contrario, se haría la aféresis al propiopaciente).
- Mayores de edad.

- Que hayan autorizado el tratamiento mediante el debido consentimiento informado.

4. Criterios de Exclusión

- Estado nutricional deteriorado: déficits nutricionales graves, estados subclínicos o composición corporal indicativa de desnutrición.
- Ciertas comorbilidades que contraindicaran la aplicación de al-PRP, etc.
- Coexistencia de enfermedades infecciosas concomitantes.
- Serología positiva para: HBsAg, Anti-VHC, Anti-VIH, sífilis, PCR VHC/VIH/VHB.
- Presencia de úlceras cutáneas infectadas.
- Presencia de lesiones secundarias a osteonecrosis infectadas.
- Edad avanzada, superior a 90 años.
- Imposibilidad de realizar la cura diaria (pacientes mayores que presentan limitación de la movilidad o incapacidad funcional para acceder al lugar de la úlcera y viven solos) y la cura se la hace el propio paciente o familiar siempre cada 24 horas (diariamente cada 2-3-4 meses, lo que dure la lesión).

5. Procedimiento

Primero se procede a evaluar al paciente en consulta del Servicio de Transfusión anotando y midiendo las lesiones a tratar. Se le explica al procedimiento y comprueba que será capaz de realizar el tratamiento de forma continuada o que cuenta con el apoyo para que el tratamiento se lleve a cabo diariamente. Tras la firma del consentimiento informado, se procede a la extracción de analítica completa: hemograma, bioquímica, grupo sanguíneo, test de Coombs indirecto (TCI) para detectar anticuerpos irregulares antieritrocitarios (AEI) y serologías (HBsAg, Anti-VHC, Anti-VIH, sífilis, PCR VHC/VIH/VHB).

Una vez valorada la analítica y ver que paciente es apto, se selecciona una aféresis de plaquetas de donante único isogrupo ABO con el paciente a tratar.

La ventaja de trabajar con plaquetas obtenidas por aféresis es que contienen entre 200 y 400 × 10³/μL plaquetas en 200 a 300 mL de plasma de un solo donante, en

comparación con las plaquetas de pool que proceden de diversas unidades de sangre total y que generalmente contiene entre 240 y $360 \times 10^3/\mu\text{L}$ plaquetas suspendidas en 200 a 350 mL de plasma de varios donantes. Los índices de calidad apuntan a que estos preparados deben contener una cantidad de eritrocitos inferior a $3 \times 10^6/\mu\text{L}$ y de leucocitos menor de $1 \times 10^3/\mu\text{L}$.

5.1. Obtención de la aféresis de plaquetas

Mediante un separador celular (Optia Caridian BCT®), se obtiene sangre total del donante, se separan los diferentes elementos por centrifugación, y se recogen las plaquetas devolviéndose los otros componentes sanguíneos al donante. La sangre se extrae de una vena gruesa, generalmente en región antecubital, pasa a través de un equipo estéril, llega a una centrífuga la cual gira a 3000 revoluciones por minuto separando los distintos componentes, de acuerdo al peso y densidad de cada uno, las plaquetas se separan derivándolas hacia una bolsa de recolección, mientras los otros componentes retornan al donante, durante este tiempo el donante permanece conectado al equipo.

El procedimiento dura más o menos una hora y media y los donantes deben tener los requisitos de cualquier donación de aféresis: personas de buena salud con analítica con parámetros normales, pesar más de 50 Kg de peso, ser mayor de 18 años y menor de 65 , poseer buenos accesos venosos en región cubital en ambos brazos, no padecer o haber padecido enfermedades transmisibles por la sangre (hepatitis B o C, SIDA, sífilis), no haber tomado aspirina ni derivados o antiinflamatorios en los últimos 5 días, no haber padecido episodios hemorrágicos normales y tener valores normales de plaquetas ($>150 \times 10^3/\mu\text{L}$).

Una vez obtenida la aféresis, se identifica correctamente con nombre del centro, tipo de producto, grupo ABO y Rh (D), número de unidad, fecha de extracción, fecha de caducidad, resultados de la analítica, tipo de anticoagulante, condiciones de conservación y de administración. Se conservarán hasta su procesamiento (alicuotado) a 22°C en agitación continua y durante 7 días.

La utilización de plaquetas alogénicas isogrupo ABO procedentes de los servicios de transfusiones, que mantienen la seguridad actual en la práctica pretransfusional, es

una modalidad empleada en la medicina regenerativa que permite el uso de plaquetas que conservan su capacidad de secretar *PDGF* y otros materiales bioactivos.

La diferencia con respecto a otros procedimientos es que en nuestro estudio no se activan las plaquetas mediante la agregación de cloruro de calcio o similar, sino que el simple procedimiento de congelación-descongelación es la que rompe la plaqueta y así se liberan los gránulos con el factor de crecimiento plaquetario.

La aplicación de las plaquetas alogénicas puede ser considerada, cuando los pacientes tienen alguna limitación (proceso tumoral, edad, etc.) o imposibilidad para la extracción de la sangre. En el caso de los pacientes de nuestro estudio tienen todos ellos una edad media elevada, casi todos superan los 70 años y la mayoría padecen una enfermedad hematológica.

El uso de plaquetas alogénicas para aplicación local no conlleva riesgos de transmisión de enfermedades infecciosas ni de reacciones alérgicas.

Por todo lo anterior, la utilización de las plaquetas, fundamentalmente el PRP, ha demostrado tener efecto en diferentes tejidos y sus aplicaciones potenciales incluyen: regeneración ósea, estabilización de injertos, cierre de heridas (aproximación de colgajos), cicatrización de heridas (regeneración de tejidos blandos), osteointegración (útil en implantología) y mantienen parte de su acción en la hemostasia (detención del sangrado capilar y de potenciales hematomas).

5.2. Alicuotado

Tras la selección de la unidad de aféresis de plaquetas correspondiente, se procede a registrar en nuestra base de datos e-Delphyn el número de la unidad de aféresis a alicuotar para el paciente de modo que se pueda garantizar completamente la trazabilidad de dicha aféresis de plaquetas.

La aféresis se traslada a la sala de criopreservación y en la campana de flujo laminar se procede al alicuotado.

El hecho de trabajar bajo la campana de flujo laminar (Telstar®), crea un ambiente libre de partículas, tomando aire a través de un sistema de filtración y expulsándolo a

través de la superficie de trabajo mediante una corriente de aire laminar unidireccional. La campana de flujo laminar está sellada por los lados y se mantiene bajo presión positiva constante para evitar la filtración del aire contaminado del ambiente (Filtro HEPA).

Además, mensualmente se procede al cultivo de superficies de la campana (suelo, pared y techo), lo que nos garantiza un ambiente de asepsia antes de cada procedimiento de alicuotado.

Dependiendo de la extensión de la lesión a tratar, se alicuotará el total la aféresis en jeringas de 2,5cc o de 5 cc. Posteriormente se identificarán las alícuotas (jeringas) con nombre, cantidad, fecha de preparación y de caducidad y se almacenarán en bolsas de 7 alícuotas cada una para garantizar la entrega semanal al paciente.

5.3. Criopreservado

Todo el producto alicuotado perfectamente identificado, es guardado en el ultracongelador de -40º o de -80 ºC; en nuestro caso -80º C (Thermo Scientific®) que es el que se dispone en nuestro Servicio de Transfusión del CAULE y que garantiza estabilidad del producto durante 6 meses.

6. Tratamiento

La primera cura se hace en el Servicio de Transfusión dónde se registra el tamaño de la lesión, se verifica que no está infectada y se le explica al paciente y/o familiar el procedimiento. Semanalmente el paciente debe pasar por el servicio de Transfusión a recoger la dosis diaria semanal (7 alícuotas). El paciente procederá a almacenar las alícuotas de la semana en el congelador de su casa hasta el momento de la administración.

Diariamente, y tras descongelación en pocos minutos con el empleo de un baño María el paciente administrará directamente el producto sobre la zona a tratar que debe estar limpia antes de añadir el producto alicuotado.

En el caso de las úlceras en extremidades inferiores, es recomendable hacer el tratamiento cuando el paciente se vaya a acostar para evitar la movilización y la pérdida del producto consiguiendo un mayor tiempo de contacto del PRP con la herida a tratar.

En el caso de las lesiones de ONM, se recomienda mantener una posición que permita el máximo tiempo de contacto con la zona a tratar afectada, recomendándose también durante la noche para evitar las comidas.

Se procederá a instilación de la jeringa alicuotada repartiendo bien por toda la herida y posteriormente se tatará la herida con una gasa limpia en el caso de heridas cutáneas y con un Spongostan-Film® en el caso de las osteonecrosis mandibulares o si el paciente es portador de prótesis dental, debe colocársela para fijar el producto en el lugar de la osteonecrosis. Se dejará así hasta el día siguiente. Cuanto más tiempo esté en contacto el PRP con la lesión a tratar mejor será el resultado. Cada 2-3 semanas se valorará presencialmente en consulta la evolución de las lesiones tratadas.

El estudio se llevó a cabo en el Complejo Asistencial Universitario de León. Para su realización el Hospital colaboró proporcionando el espacio adecuado y todos los medios necesarios. La doctoranda es Facultativo especialista en Hematología, Servicio de Hematología y Hemoterapia y actualmente trabaja en el Servicio de Transfusión del CAULE, y será la responsable de llevar a cabo los tratamientos. El personal cualificado de enfermería, del propio servicio, llevó a cabo los procedimientos accesorios propios de su competencia profesional, y se siguió escrupulosamente el protocolo 1040 P., establecido en el Manual de Cuidados de Enfermería para la preparación de plasma rico en plaquetas (PRP) para tratamiento local (ver **Anexo 2**).

Se dispuso además de una consulta completamente dotada de camilla, sábanas, guantes, y todo el material fungible necesario, así como la instrumentación de laboratorio precisa; impresos necesarios para el registro de datos clínicos y consentimientos informados, y de ordenador personal para el registro de datos.

7. Otras valoraciones

Se llevaron a cabo otras valoraciones con objeto de valorar el estado de salud de los pacientes a incluir en el estudio. Para ello se llevaron a cabo mediante entrevista clínica (facultativo y paciente) una serie de cuestionarios, anamnesis y pruebas:

- 1.- Anamnesis clínica (historia clínica, etc.): sexo, edad, peso, talla, antecedentes, etc.
- 2.- Inspección y exploración física, etc.
- 3.- Pruebas complementarias (auscultación cardíaca, determinación de la presión arterial, electrocardiografía, etc.).
- 4.- Análisis sanguíneo (hematimetría, serie blanca, plaquetas, creatinina, colesterol, etc.).

Las determinaciones se realizaron según protocolo habitual, estandarizado y normalizado (ver **Anexo 3**).

Para la realización de las pruebas complementarias se utilizaron los siguientes dispositivos, entre otros:

- Esfigmomanómetro Diplomat Presameter Riester mod. 01-2h.
- Analizador Beckman Coulter ACT 5 Diff AL Analizador Hematológico.

8. Análisis estadístico

El procedimiento estadístico utilizado, fue el habitual en estos trabajos de investigación: valoración de la normalidad de la muestra y en función de ello, pruebas paramétricas o no. Igualmente se realizará un análisis bivalente y multivalente mediante regresión lineal.

De modo previo al análisis, se aplica la prueba de **Kolmogorov-Smirnov**, y **Shapiro-Wilk**, que nos determina si en la muestra, las variables determinadas provienen de una población cuyos valores siguen una curva de distribución normal, en cuyo caso aplicaremos pruebas paramétricas, o no normal, por lo que utilizaríamos pruebas no paramétricas en adelante.

En primer lugar, se realizará un análisis descriptivo de las diferentes variables estudiadas.

Las variables cualitativas se describieron como porcentaje y las cuantitativas se resumieron con media, desviación estándar y rango total (máximo y mínimo).

La descriptiva de variables cualitativas con tablas de frecuencias y porcentajes. Para el cruce de dos de estas variables se han empleado tablas de contingencia.

Se utilizó el Test no-paramétrico de Mann-Whitney para el contraste entre los valores promedio de las variables numéricas.

Se utilizó el Test Chi-cuadrado de independencia para el cruce entre dos variables categóricas que es un test para determinar la existencia/ausencia de relación entre este tipo de variables, de la existencia de la misma se puede inferir la existencia de diferencias significativas en la variable de respuesta entre las categorías del factor utilizando los valores de los residuos estandarizados corregidos (valores similares a las Z de la normal, donde el indicativo de significación es que los residuos sean ≥ 2). Para analizar si existe relación entre las variables cualitativas se utilizó el **Test del Chi Cuadrado de Pearson** en el cual, para un nivel de confianza del 95%; si p es menor de 0,05 (existen diferencias significativas) rechazamos la H₀; y esas variables presentadas en las tablas de contingencia serían variables dependientes.

Se calculó el **tamaño del efecto** para expresar la magnitud de las diferencias entre unas y otras muestras. Este tamaño del efecto se expresó en R² (escala: 0-1) para que pueda ser comparado entre distintos tipos de datos en las variables y entre distintos tipos de test estadísticos. Cuando se compararon medias, R² se calculó desde el valor “d” de Cohen. Cuando las variables fueron categóricas, R² se calculó desde el coeficiente V de Cramer, similar al de Pearson pero específico para este tipo de datos.

Al respecto de este análisis, hemos de puntualizar que el tamaño del efecto es un indicador de la magnitud de los cambios observados en las variables que se miden (VD) debidos a la influencia (el efecto) de la variable independiente explicativa o que se manipula. Es un valor que se expresa en escala d de Cohen (diferencia tipificada) o en escala R-cuadrado (proporción de varianza explicada; por 100 = %) (Cohen, 1988; Hinkle et al., 2003).

Aunque la interpretación es algo subjetiva y puede variar según el área de la Ciencia, se puede usar esta valoración:

T.E. PEQUEÑO			T.E. MODERADO			T.E. GRANDE			T.E. MUY GRANDE		
<i>d</i>	R ²	<i>r</i>	<i>d</i>	R ²	<i>r</i>	<i>d</i>	R ²	<i>r</i>	<i>d</i>	R ²	<i>r</i>
<	<	<	0.40	.038	.196	0.80	.138	.371	1.20	.265	.514
0.10	.002	.050	0.50	.059	.243	0.90	.168	.410	1.30	.267	.545
0.20	.010	.100	0.60	.083	.287	1.00	.200	.447	1.40	.329	.573
0.30	.022	.148	0.65	.096	.309	1.10	.232	.482	1.50	.360	.600
0.35	.030	.172	0.70	.109	.330	1.15	.250	.500	>	>	>

Cuadro 1. Relación de los valores de la *d* de Cohen, con R² y el coeficiente R de correlación.

En los Test Chi-cuadrado el tamaño del efecto R² se ha estimado como el cuadrado del Índice W de Cramer, estadístico especialmente descrito para este tipo de cruces y similar al coeficiente de Pearson (<http://revistas.ucn.cl/index.php/saludysociedad/article/viewFile/899/729>).

Al respecto del número de casos, hemos de advertir lo siguiente:

- El tamaño del efecto moderado expresa diferencias que son reales y que se pueden detectar hasta con muestras tan pequeñas como 50<N<100.
- El tamaño del efecto pequeño es indicativo de que puede haber algo, pero para detectarlas con cierta seguridad se necesitarían muestras de alrededor de N=500.
- El tamaño grande, o muy grande, evidentemente son diferencias que existen con elevado grado de confianza y que se detectan casi a “simple vista” y hasta con muestras muy pequeñas.

El N por sí solo ayuda a la presencia o ausencia de significación. Con N muy elevados (de 800-1000-3000-5000-etc...) aparecen significaciones que pueden NO ser reales (y no tengan sentido teórico).

Con N pequeños (de <100 o <120) es difícil encontrar significaciones, salvo que las relaciones/diferencias, sean muy potentes (muy evidentes) y ya se ven como digo arriba “a simple vista”

Ahí es donde el tamaño del efecto es de ayuda:

1) Tamaños del efecto **pequeños** (<2% o <3%) con significaciones (al menos $p < .05$) (a) en N pequeño: indican diferencias que existen, pero son pequeñas/leves – (b) en N grande indican que son diferencias o relaciones que son despreciables.

2) Efectos **moderados** (>4%; >5%) o ya **elevados** (>10%) y **que acompañan a una significación** (de al menos $p < .05$) indican diferencias o relaciones que existen y que ya son de magnitud/intensidad moderadas o altas; con independencia del N.

3) Efectos **moderados o elevados, pero que se aparecen en test sin significación** ($p > .05$) son indicios de relación/diferencia; y entonces lo que ocurre es que la significación no se alcanzó porque no había N suficiente para llegar hasta ella.

Posteriormente se realizará un análisis bivariante cruzando todas las variables entre sí. En aquellos casos en que la variable sea dicotómica se expresará la razón de prevalencia con su correspondiente intervalo de confianza al 95%.

Así mismo para el análisis de las relaciones entre las variables cuantitativas y las escalas, utilizaremos el **coeficiente de Correlación de Spearman**; que sólo estudia la relación entre dos variables de tipo cuantitativo, observando la correlación por un coeficiente numérico, en muestras que no son normales (prueba no paramétrica).

El coeficiente de correlación de Spearman se encuentra entre los valores 1 y -1; pudiendo establecerse una relación directa o inversa; además en función de los valores obtenidos en dicho coeficiente podemos indicar la potencia de esa correlación.

No debemos olvidar que la correlación nunca indica causalidad, aunque $r=1$, y que siempre debemos tener en cuenta la significación estadística: $p < 0,05$ (significativa); $p < 0,005$ y $p < 0,001$ (muy significativa).

Se trataron de construir modelos multivariantes mediante: (a) Regresión logística binaria y (b) Segmentación con CHAID.

Se identificaron diversos perfiles a través de modelos de regresión logística binaria, con el **método “hacia atrás” de Wald**, utilizando como variables dependientes aquellas que tengan interés para su estudio. Este método, llamado en realidad **“Eliminación hacia atrás”** y conocido como Wald-hacia atrás, consiste en la selección por pasos sucesivos hacia atrás. El contraste para la eliminación se basa en la probabilidad del estadístico de Wald. Los valores de significación de los resultados se basan en el ajuste de un único modelo. Por ello, estos valores de significación no suelen ser válidos cuando se emplea un método por pasos.

Para ello, hemos realizado igualmente, una **selección hacia adelante (Condicional)** o **método de selección por pasos** que contrasta la entrada basándose en la significación del estadístico de puntuación y contrasta la eliminación basándose en la probabilidad de un estadístico de la razón de verosimilitud que se basa en estimaciones condicionales de los parámetros. Éste es un procedimiento de selección de variables por pasos en el que las variables se introducen secuencialmente en el modelo. La primera variable que se considerará introducir en la ecuación será la que tenga mayor correlación, positiva o negativa, con la variable dependiente. Dicha variable se introducirá en la ecuación sólo si cumple el criterio de entrada. Si se introduce la primera variable, a continuación, se considerará la variable independiente cuya correlación parcial sea la mayor y que no esté en la ecuación. El procedimiento termina cuando ya no quedan variables que cumplan el criterio de entrada.

Además, aplicaremos la regresión logística múltiple, un modelo probabilístico en el que en función de variables cualitativas o cuantitativas (variables independientes), averiguamos la probabilidad de que ocurra un determinado evento (variable dependiente dicotómica). El objetivo es intentar establecer un modelo o perfil de variable para determinar cuál o cuáles es la que más influye en que el tratamiento mediante aféresis al-PRP sea eficaz en la curación de las úlceras o lesiones mucocutáneas.

En las regresiones lineales, la colinealidad se valora mediante el test de **Durbin Watson**. Debe ser entre 0.7 y 2.6. Si no es así, las variables independientes interaccionan entre sí y el modelo es menos fiable. Lo importante es la **ANOVA** con p menor de 0.05 y

que haya un **coeficiente R cuadrado** (R^2 de *Nagelkerke*) por encima de 40, aunque puede ser menor. Los coeficientes B nos dan la ecuación.

En las regresiones logísticas, el **test de bondad de ajuste de Hosmer Lemeshow** es algo parecido. Debe ser entre 0 y 1. Si no es así, el modelo es menos fiable. Las pruebas *ómnibus* deben dar una p menor de 0.05. El coeficiente de fiabilidad R cuadrado (R^2 de *Nagelkerke*) debe ser mayor de 40, pero puede ser más bajo. Los coeficientes B nos dan la ecuación y nos señalan los factores de riesgo y los factores protectores. Los exponentes B son similares a una *odds ratio* y nos indican el riesgo que producen en un sujeto.

Se ha realizado un **Análisis de Supervivencia**, que se trata de la alternativa a la regresión standard cuando se tiene eventos censurados. Se comprueba que entre los tratamientos hay diferencias significativas en cuanto al tiempo de supervivencia, y se puede resumir esta diferencia con un modelo de **regresión de COX**, que plantea una relación para el riesgo entre el grupo alternativo.

Del mismo modo, se ha realizado una estimación de la función de supervivencia (**método de Kaplan-Meier**), que es un método no paramétrico (no asume ninguna función de probabilidad) y por máxima verosimilitud, es decir se basa en maximizar la función de verosimilitud de la muestra.

En todas estas pruebas estadísticas, se ha considerado significación cuando $p < 0.05$ (n.c. 5% habitual) y alta significación cuando $p < 0.01$ (n.c. 1%). El nivel de significación, por tanto, será al menos del 95% ($p < 0,05$). Los grados de significación se expresan en las tablas mediante asteriscos con los siguientes rangos:

$= p < 0.05^*$; $= p < 0.01^{**}$; $= p < 0.001^{***}$.

Para el análisis estadístico se ha utilizado el programa IBM-SPSS Statistics® versión 25 (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics v 25.0 for Windows; Armonk, NY, USA), y GraphPad Prism® v. 5.0 para Windows (GraphPad Software, Inc.), además de Statgraphics Plus 5.0® (Statistical Corporation S.A., USA).

9. Aspectos éticos y legales

Este estudio se acoge a la ley 15/1999 de Protección de datos de Carácter Personal y a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, así como al Reglamento UE2016/679.

Todo participante en el estudio fue incluido, tras firmar los modelos de consentimiento informado entregados (**Anexo 4**).

Se procedió a dar de alta un fichero encriptado de recogida de datos, como resulta de obligado cumplimiento conforme a la LO 15/1999. La Universidad de León cuenta con un Delegado de Protección de Datos, encargado de informar, asesorar y supervisar el cumplimiento de las obligaciones legales relativas al tratamiento de datos.

- Identificación del Delegado de Protección de Datos: Start Up, S.L.

- Contacto Delegado de Protección de Datos: dpd.unileon@seguridadinformacion.com

Este estudio se acoge a la ley 15/1999 de Protección de datos de Carácter Personal y a la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales, así como al Reglamento UE2016/679.

Se determinó que exclusivamente podría acceder a los datos de los sujetos incluidos en el estudio, la doctoranda, doña Julia Vidán Estévez.

Se estableció un protocolo de confidencialidad suscrito por la persona que accede a los datos sobre la salud de las personas (**Anexo 5**).

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios considera, que el PRP es un medicamento de uso humano que se puede utilizar al amparo del artículo 5 de la Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, y las disposiciones legales que transponen dicha Directiva en nuestro país, según se desprende de la “Resolución por la que se establece la clasificación del uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, como medicamento de uso humano para atender necesidades especiales” fechada en Madrid, a23 de mayo de 2013

<https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/medSituacionesEspeciales/docs/PRP-AEMPS-DEF-mayo13.pdf>) (ver **Anexo 6**).

A este respecto, la doctoranda es médico, Facultativo especialista en Hematología, Servicio de Hematología y Hemoterapia y actualmente trabaja, con plaza asistencial activa, en el Servicio de Transfusión del CAULE, y será la responsable de llevar a cabo los procedimientos.

Este uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados se realizará de acuerdo con las particularidades señaladas en la resolución de fecha 23 de mayo de 2013 (**Anexo 7**) y con el contenido del informe sobre el uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados publicado en la página web de la Agencia Española de Medicamentos y productos Sanitarios.

Este proyecto, se realizará cumpliendo exquisitamente todos los requisitos exigidos por la normativa vigente, así como todas las Garantías de calidad, Garantías de eficacia, Garantías de trazabilidad Garantías de información y Garantías de farmacovigilancia, recogidas en el Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas (INFORME/V1/23052013).

La investigación no incluye la obtención y tratamiento de tejidos. Tampoco es preciso prever el régimen de obtención, tratamiento, conservación y destrucción de tales tejidos.

La investigación propuesta respeta los principios fundamentales de la declaración de Helsinki, del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina, de la declaración Universal de la UNESCO, sobre el genoma humano y los derechos humanos, y el Consejo de Oviedo relativo a los derechos humanos y a la biomedicina.

Finalmente, y visto todo lo cual, se solicitó al CEIC de la Universidad de León, y se obtiene, el informe favorable del Comité de Ética nº **COD: ETICA-ULE-004-201** (**Anexo 8**).

RESULTADOS

RESULTADOS

A continuación, se presentan los resultados de nuestro estudio (ver codificación de las variables en **Anexo 9**), y para facilitar su explicación, los hemos redactado estructurándolos en tres análisis, en función de la procedencia de los pacientes, según mostraran lesiones vasculares o secundarias a osteonecrosis mandibular:

1º.- Estudio con el total de casos (n=31).

2º.- Estudio sólo con los casos de úlceras vasculares (n=23).

3º Estudio sólo con los casos de osteonecrosis mandibular (n=8).

1º Análisis con la serie completa (N=31)

1.- Análisis descriptivo de la muestra

Han sido tratados en el Servicio de transfusiones del CAULE, un total de **22 pacientes (n=22)**, de los que 13 se corresponden con úlceras crónicas (UC) y 9 con osteonecrosis (ON), de ellos sean obtenido un total de **33 casos (N=33)** de los que 22 se corresponden a UC y 11 a ON. En este primer análisis se han analizado finalmente 31 (**N=31**).

Las edades de los casos de esta serie están comprendidas entre los 52 y los 89 años con mediana en 77 años. La distribución (**fig. 1**) tiene una cierta asimetría negativa, es decir con más casos en edades avanzadas, por encima de la media que es de casi 76 años (75.8; IC al 95%: 71.9 – 79.7; desviación estándar: ± 10.7 años). La mayor concentración de casos se encuentra entre los 75-79 años (9; 29%) y entre los 80-89 años (12; 38.7%). La mayoría de estos pacientes son hombres (22; el 71%). La edad media de estos 22 varones es algo inferior a la edad media de las 9 mujeres (74.2 vs 79.7) (**fig. 2**), pero sin que esta diferencia llegue a la significación estadística, $p > .05$ (Mann-Whitney: $Z_U = 1.31$; $p\text{-valor} = .203$).

Figura 1. Histograma. Composición de la muestra según EDAD. (N=31).

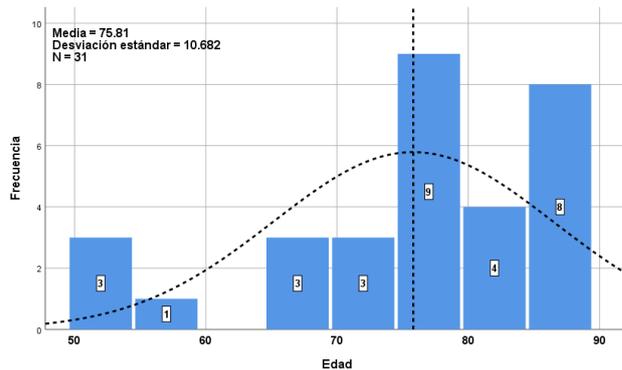
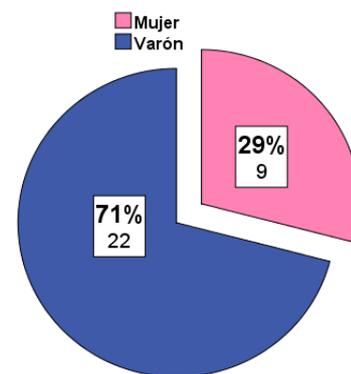


Figura 2. Diagrama de sectores. Composición de la muestra según GÉNERO. (N=31).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Se han comparado estas características sociodemográficas entre los dos grupos de pacientes en función del diagnóstico observándose: edades similares y un reparto por género también similar. Estas diferencias no alcanzan significación estadística con $p > .05$ (tabla 1).

Tabla 1. Análisis descriptivo y comparativo. Características sociodemográficas de la muestra, según Diagnóstico. (N=31).

VARIABLES	Muestra total (N=31)	GRUPO		Test de Contraste	
		Osteonecr. (n=8)	Úlceras C. (n=23)	Valor	P valor
EDAD					
Media (D.E.)	75.8 (± 10.7)	77.2 (12.8)	75.3 (10.1)	$Z_U = 0.82$ NS	.437
Mediana (Rango)	77 (52-89)	83 (52-87)	77 (53-89)		
intervalos				$Chi^2 = 3.52$ NS	.172
50-69 años	22.6 % (7)	25.0 % (2)	21.7 % (5)		
70-79 años	38.7 % (12)	12.5 % (1)	47.8 % (11)		
89-89 años	38.7 % (12)	62.5 % (5)	30.4 % (7)		
SEXO				$Chi^2 = 0.08$ NS	.771
Varón	71.0 % (22)	75.0 % (6)	69.6 % (16)		
Mujer	29.0 % (9)	25.0 % (2)	31.4 % (7)		

N.S. = NO significativo

Al respecto de los antecedentes (figs. 3 y 4):

- Tiene patologías asociadas (fig. 3) el 64.5% de esta muestra, siendo las afecciones cardiovasculares lo más frecuente, bien por sí solas (25.8%) o bien en combinación con la DM (22.6%).
- Presenta HTA cerca de la mitad de esta serie de casos: 48.4%.

- Aunque todos los pacientes con PV y TE recibieron quimioterapia (QT previa), además del paciente del Linfoma (8 pacientes 13 casos), en la figura 20 se muestra al paciente con LNH que la había recibido (4.3%).
- Tuvieron “Tratamiento con lesión a tratar”, los 2/3 de la muestra: un 38.7% con Hydrea® y un 29% con Zometa®.

Se compararon estos resultados entre los dos grupos diagnósticos, resultando que (**tabla 2**):

- Hay diferencias significativas en la presencia de patologías asociadas ($p < .05$) que es bastante más frecuente entre los casos del grupo UC (78.3% vs 25%). Y en concreto, las afecciones CV, sean solas (34.8% vs 0%) o en combinación con la DM (30.4% vs 0%).
- También se encuentra significación ($p \leq .01$) en la HTA, que aparece solo en los casos del grupo UC (65.2% vs 0%). Y se podría hablar de una casi-significación ($p < .10$) en la DM que de nuevo solo aparece entre los casos UC (30.4% vs 0%); diferencia que con un N mayor sería significativa.
- Finalmente, en cuanto al ‘tratamiento con lesión a tratar’, se ha encontrado una alta significación ($p < .001$) debida a que todos los casos de ON se han tratado con Zometa®, mientras que los de UC se reparten entre tratados con Hydrea® (52.2%) y los que no tenían tratamiento (43.5%).

Tabla 2. Análisis descriptivo y comparativo. Antecedentes, según Diagnóstico. (N=31).

VARIABLES	Muestra total (N=31)	GRUPO		Test de Contraste	
		Osteonecr. (n=8)	Úlceras C. (n=23)	Valor	P valor
PATOLOGÍAS ASOCIADAS				Chi ² =10.49 *	.015
Sin patologías asociadas	35.5 % (11)	75.0 % (6)	21.7 % (5)		
DM + Afecç. Cardiovasculares	22.6 % (7)	0.0 % (0)	30.4 % (7)		
Solo afecç. Cardiovasculares	25.8 % (8)	0.0 % (0)	34.8 % (8)		
Otras	16.1 % (5)	25.0 % (2)	13.0 % (3)		
HIPERTENSIÓN ARTERIAL	48.4 % (15)	0.0 % (0)	65.2 % (15)	Chi ² =10.11**	.001
DIABETES MELITUS	22.6 % (7)	0.0 % (0)	30.4 % (7)	Chi ² =3.14 †	.076
QUIMIOTERAPIA PREVIA*	3.2 % (1)	0.0 % (0)	4.3 % (1)*	----	----
TTO. CON LESIÓN A TRATAR				Chi ² =26.36**	.000
No	32.3 % (10)	0.0 % (0)	43.5 % (10)		
Hydrea®	38.7 % (12)	0.0 % (0)	52.2 % (12)		
Zometa®	29.0 % (9)	100 % (8)	4.3 % (1)		

† = Casi significativo * = Significativo ** = Altamente significativo

* Aunque todos los pacientes con PV y TE recibieron quimioterapia (QT previa), además del paciente del Linfoma (8 pacientes 13 casos), en la figura 20 se muestra al paciente con LNH que la había recibido (4.3%).

Figura 3. Diagrama de barras. Patologías asociadas. (N=31).

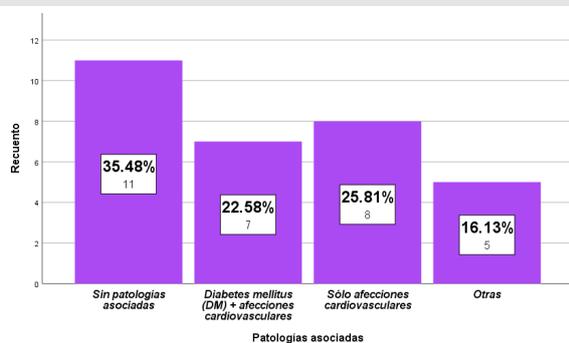
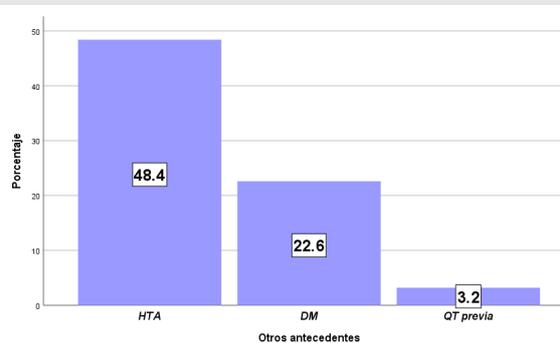


Figura 4. Diagrama de barras. Otros antecedentes. (N=31).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

La analítica de sangre reveló (**tabla 3**) que algo más de la mitad de la muestra tiene grupo 0 sanguíneo (54.8%) junto a la escasa presencia de caso del tipo B (6.5%). Comparando entre los dos tipos diagnósticos: el reparto de los 0 es similar y aunque hay más tipo A en el ON y todos los del B están en el de UC, las diferencias no llegan a la significación estadística ($p > .05$). En cuanto al Rh, la mayoría son tipo + (77.4%), algo superior en el grupo con UC (82.6% vs 62.5%) aunque sin llegar a la significación estadística ($p > .05$) posiblemente por lo reducido del N.

Todos los casos tienen AEI negativo y serología negativa (**tabla 3**).

En el estudio de la analítica clínica, se ha obtenido (**tabla 3**):

- **Hemoglobina.** Para la muestra total valores en el rango 9.5 g/dL – 17.2 g/dL con media en 13.5 g/dL (± 1.5). Al comparar las medias, se observan valores algo inferiores en el grupo ON (12.2 vs 13.9) diferencia que alcanza significación estadística ($p < .05$). Categorizando la variable, un 71% del total tiene valores normales: solo 50% en el grupo ON vs 78.3% en el UC. Con respecto al resto de casos, presentan mayoritariamente valores bajos (25.8%): 50% en el grupo ON vs 17.4% en el UC. El contraste de las variables categorizadas no es capaz de detectar la significación ($p > .05$) que antes encontrábamos entre las medias. Los N reducidos, sobre todo de uno de los grupos, a buen seguro será por el motivo siguiente: la patología de base que tiene cada paciente con lesiones de ON frente a úlceras crónicas lleva consigo implícito un valor de hemoglobina tanto por la enfermedad de base en sí como por los tratamientos que ha recibido.
- **Leucocitos.** En el grupo total se encuentran valores entre $2.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ y $16.2 \times 10^3/\mu\text{L}$, siendo la media de $8.8 \times 10^3/\mu\text{L}$ (± 4.1). De nuevo el valor medio es algo inferior en los casos con ON (7.0 vs 9.4) pero sin que en esta variable se logre probar la significación estadística ($p > .05$). Por categorías, un 67.7% tienen valores normales; y al contrario de lo esperado, se reparten: 75% en ON y 65.2% en UC. El motivo de que la media sea más alta entre los de UC es que entre ellos hay un 34.8% con los leucocitos altos (vs 12.5% en el grupo ON). No obstante, las diferencias tampoco llegan a demostrar su significación estadística ($p > .05$).
- **Plaquetas.** Se observan valores dentro del rango $98 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $848 \times 10^3/\mu\text{L}$, con media en $247 \times 10^3/\mu\text{L}$ (± 178). La media es inferior en los casos ON frente a los UC (181 vs 270) pero sin que esta diferencia sea estadísticamente significativa ($p > .05$). Por categorías, se aprecia mejor la similitud entre muestras, con $p > .05$: (a) en total hay un 58.1% con valores normales, 62.5% en ON y 56.5% en UC; (b) y del resto la mayor parte tienen valores bajos: 32.3% en total, 37.5% en OB y 30.4% en UC.
- **Linfocitos.** El rango observado es $0.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $3.3 \times 10^3/\mu\text{L}$ con valor medio en $1.8 \times 10^3/\mu\text{L}$ (± 0.7), y aunque la media es algo superior entre los casos ON (1.9 vs 1.7) la diferencia no es significativa ($p > .05$). Tienen valores normales el 74.2% de la serie

total; mientras que el 25.8% tiene linfopenia: 25.0% y 26.1% en cada grupo; por lo que se mantiene la ausencia de diferencias entre los dos grupos diagnósticos ($p>.05$).

- **Colesterol.** El rango de valores está entre 102 mg/dL y 217 mg/dL, con media en 158 mg/dL (± 37). Las medias de los dos grupos son muy semejantes (162 y 156) por lo que no hay significación estadística ($p>.05$), que se manifiesta también al comparar por categorías: (a) un 64.5% en valores normales en el total y muy similar en los dos grupos, con (b) un 19.4% con el colesterol alto: algo menos dentro del grupo de casos con ON (12.5% vs 21.7%)
- **Albúmina.** Se han encontrado valores en el rango 2.5 g/dL a 4.8 g/dL, con media en 4.1 g/dL (± 0.5); siendo algo inferior en los casos ON (3.9 vs 4.1) pero sin que llegue a la significación estadística. Tienen valores normales, el 90.3% del total: claramente menos entre los ON (75% vs 95.7%) aunque no se llega a encontrar significación estadística ($p>.05$). El resto de pacientes, tienen valores bajos en albúmina. La albumina es una proteína producida por el hígado y es el parámetro bioquímico más frecuentemente utilizado en la valoración nutricional. Sin embargo, en los pacientes con mieloma múltiple las hormonas producidas por el propio mieloma suprimen la producción de dicha proteína.

Al respecto de los valores de estas variables correspondientes a la analítica clínica, se ha de aclarar que si bien en el **Anexo 3**, se muestran las determinaciones, realizadas según protocolo habitual, estandarizado y normalizado, y los valores de referencia que se encuentran en la bibliografía, en general; los valores de referencia utilizados en nuestro estudio son los considerados habituales en nuestro centro, y se muestran en el **Anexo 10**.

Tabla 3. Análisis descriptivo y comparativo. Resultados analíticos, según Diagnóstico. (N=31).

VARIABLES	Muestra total (N=31)	GRUPO		Test de Contraste	
		Osteonecr. (n=8)	Úlceras C. (n=23)	Valor	P valor
GRUPO SANGUÍNEO				Chi ² =1.10 ^{NS}	.578
<i>O</i>	54.8 % (17)	50.0 % (4)	56.5 % (13)		
<i>A</i>	38.7 % (12)	50.0 % (4)	34.8 % (8)		
<i>B</i>	6.5 % (2)	0.0 % (--)	8.7 % (2)		
RH				Chi ² =1.37 ^{NS}	.241
<i>Positivo</i>	77.4 % (24)	62.5 % (5)	82.6 % (19)		
<i>Negativo</i>	22.6 % (7)	37.5 % (3)	17.4 % (4)		
AEI NEGATIVO	100 % (31)	100 % (8)	100 % (23)	----	----
SEROLOGÍA NEGATIVA	100 % (31)	100 % (8)	100 % (23)	----	----
HEMOGLOBINA				Z _U =2.43 *	.013
<i>Media (D.E.)</i>	13.47 (1.52)	12.24 (1.75)	13.90 (1.19)		
<i>Mediana (Rango)</i>	13.8 (9.5-17.2)	12.4 (9.5-14.5)	13.8 (10.1-17.2)		
Categorías				Chi ² =3.46 ^{NS}	.177
<i>Normal</i>	71.0 % (22)	50.0 % (4)	78.3 % (18)		
<i>Elevada</i>	3.2 % (1)	0.0 % (--)	4.3 % (1)		
<i>Baja</i>	25.8 % (8)	50.0 % (4)	17.4 % (4)		
LEUCOCITOS				Z _U =1.18 ^{NS}	.240
<i>Media (D.E.)</i>	8.78 (4.07)	7.01 (3.51)	9.40 (4.14)		
<i>Mediana (Rango)</i>	7.1 (2.7-16.2)	6.6 (2.7-14.8)	7.6 (4.4-16.2)		
Categorías				Chi ² =3.97 ^{NS}	.137
<i>Normal</i>	67.7 % (21)	75.0 % (6)	65.2 % (15)		
<i>Elevados</i>	29.0 % (9)	12.5 % (1)	34.8 % (8)		
<i>Bajos</i>	3.2 % (1)	12.5 % (1)	0.0 % (--)		
PLAQUETAS				Z _U =1.36 ^{NS}	.175
<i>Media (D.E.)</i>	247 (178)	181 (55)	270 (200)		
<i>Mediana (Rango)</i>	207 (98-848)	180 (98-289)	213 (120-848)		
Categorías				Chi ² =1.17 ^{NS}	.557
<i>Normal</i>	58.1 % (18)	62.5 % (5)	56.5 % (13)		
<i>Elevadas</i>	9.7 % (3)	0.0 % (--)	13.0 % (3)		
<i>Bajas</i>	32.3 % (10)	37.5 % (3)	30.4 % (7)		
LINFOCITOS				Z _U =0.61 ^{NS}	.541
<i>Media (D.E.)</i>	1.81 (0.69)	1.95 (0.94)	1.75 (0.59)		
<i>Mediana (Rango)</i>	1.7 (0.7-3.3)	2.0 (0.7-3.30)	1.7 (0.9-2.9)		
Categorías				Chi ² =0.00 ^{NS}	.952
<i>Normal</i>	74.2 % (23)	75.0 % (6)	73.9 % (17)		
<i>Linfopenia</i>	25.8 % (8)	25.0 % (2)	26.1 % (6)		
COLESTEROL				Z _U =0.04 ^{NS}	.964
<i>Media (D.E.)</i>	158 (37)	162 (40)	156 (37)		
<i>Mediana (Rango)</i>	154 (102-217)	175 (102-203)	154 (108-217)		
Categorías				Chi ² =0.80 ^{NS}	.672
<i>Normal</i>	64.5 % (20)	62.5 % (5)	65.2 % (15)		
<i>Elevado</i>	19.4 % (6)	12.5 % (1)	21.7 % (5)		
<i>Bajo</i>	16.1 % (5)	25.0 % (2)	13.0 % (3)		
ALBÚMINA				Z _U =0.74 ^{NS}	.456
<i>Media (D.E.)</i>	4.06 (0.51)	3.86 (0.78)	4.12 (0.37)		
<i>Mediana (Rango)</i>	4.2 (2.5-4.8)	4.1 (2.5-4.6)	4.2 (3.3-4.8)		
Categorías				Chi ² =2.90 †	.089
<i>Normal</i>	90.3 % (28)	75.0 % (6)	95.7 % (22)		
<i>Baja</i>	9.7 % (3)	25.0 % (2)	4.3 % (1)		

N.S. = NO significativo † = Casi significativo * = Significativo

En cuanto a las variables recogidas en relación con la lesión (tabla 4) hemos encontrado que:

- La mayor parte de ellas se localizan en la zona de las extremidades inferiores (pierna, tobillo, pie o dedos), pero si se comparan los grupos, éstas solo se dan en el que pacientes con UC, en tanto que los casos con ON todos tienen lesión mandibular o en la arcada dental. Estas diferencias, por tanto, son altamente significativas ($p < .001$).
- En cuanto al tamaño de la lesión, observamos valores en el rango 0.5 – 8 cms, con media cercana a los 3 cms (2.9 ± 1.8). El valor medio es algo inferior entre los casos ON (2.2 vs 3.1) pero sin que esta diferencia llegue a la significación estadística ($p > .05$). Al comparar las categorías generadas, cerca de la mitad (45.2%) tiene tamaños entre 2-3 cms, pero esto es así con bastante más frecuencia en el grupo ON (62.5% vs 39.1%). En el grupo de casos con UC, los tamaños se reparten de forma casi homogénea en las tres categorías establecidas. A pesar de estas diferencias, no se logra probar la significación ($p > .05$).
- Al respecto el grado, solo un 12.9% son leves frente a un 22.6% de grado severo. El resto se reparte entre moderado y moderado-grave. No hay grandes diferencias entre los dos grupos diagnósticos ($p > .05$).
- Un 64.5% del grupo en estudio ha tenido tratamiento previo de estas lesiones: el 38.7% con cura local más un 25.8% con cirugía. Comparando los grupos, mientras que en el de ON hay más pacientes sin tratamiento previo (50% vs 30.4%), en el de casos con UC ha sido más frecuente la utilización de curas locales (43.5% vs 25%). Aun así, no se logra demostrar la significación de estas diferencias ($p > .05$).
- El tiempo en tratamientos previos varía en el rango entre 1 y 10 meses con media en 3.1 meses (± 1.1), similar entre los grupos (2.9 vs 3.3; no significativo: $p > .05$). Prácticamente la mitad de la muestra total, y de ambos grupos, tienen tiempos inferiores a los 3 meses.
- De toda la serie, sólo un paciente utiliza prótesis dental.

Tabla 4. Análisis descriptivo y comparativo. Factores relativos a la lesión, según Diagnóstico. (N=31).

VARIABLES	Muestra total (N=31)	GRUPO		Test de Contraste	
		Osteonecr. (n=8)	Úlceras C. (n=23)	Valor	P valor
LOCALIZACIÓN LESIÓN				Chi ² =26.36**	.000
<i>Pierna+Tobillo+Pie+Dedos</i>	71.0 % (22)	0.0 % (-)	95.7 % (22)		
<i>Mandib.+Arcada D.</i>	29.0 % (9)	100 % (8)	4.3 % (1)		
TAMAÑO (cms)				Z _U =1.19 _{NS}	.255
<i>Media (D.E.)</i>	2.87 (1.75)	2.25 (1.39)	3.09 (1.83)		
<i>Mediana (Rango)</i>	2.50 (0.5-8.0)	2.00 (1.0-5.0)	3.00 (0.5-8.0)		
Categorías				Chi ² =1.51 _{NS}	.468
<i><2 cms</i>	29.0 % (9)	25.0 % (2)	30.4 % (7)		
<i>2-3 cms</i>	45.2 % (14)	62.5 % (5)	39.1 % (9)		
<i>>3 cms</i>	25.8 % (8)	12.5 % (1)	30.4 % (7)		
GRADO				Chi ² =2.28 _{NS}	.517
<i>Leve</i>	12.9 % (4)	25.0 % (2)	8.7 % (2)		
<i>Moderado</i>	35.5 % (11)	37.5 % (3)	34.8 % (8)		
<i>Mod-grave</i>	29.0 % (9)	12.5 % (1)	34.8 % (8)		
<i>Severo</i>	22.6 % (7)	25.0 % (2)	21.7 % (5)		
Ttos. PREVIOS				Chi ² =1.17 _{NS}	.558
<i>Sin Tto previo</i>	35.5 % (11)	50.0 % (4)	30.4 % (7)		
<i>Cirugía</i>	25.8 % (8)	25.0 % (2)	26.1 % (6)		
<i>Cura local</i>	38.7 % (12)	25.0 % (2)	43.5 % (10)		
MESES Tto.P.				Z _U =0.47 _{NS}	.674
<i>Media (D.E.)</i>	3.13 (1.08)	2.75 (1.28)	3.26 (1.96)		
<i>Mediana (Rango)</i>	3.0 (1-10)	2.5 (1-5)	3.0 (1-10)		
Categorías				Chi ² =0.09 _{NS}	.954
<i><=2 meses</i>	48.4 % (15)	50.0 % (4)	47.8 % (11)		
<i>3 meses</i>	22.6 % (7)	25.0 % (2)	21.7 % (5)		
<i>>3 meses</i>	29.0 % (9)	25.0 % (2)	30.4 % (7)		

N.S. = NO significativo ** = Altamente significativo

Por último, de los factores relacionados con el tratamiento con PRP realizado (tabla 5) se ha extraído la siguiente información:

- Al revisar la situación actual de paciente encontramos que está en remisión total un 41.9% que junto a otro 22.6% en remisión parcial, suma un 64.5% de éxitos (cerca de los 2/3) empleando el nuevo tratamiento con PRP (figs. 5 y 6), lo cual resulta muy relevante. Presentan mala evolución con procesos infecciosos el 25.8% de la serie (sobre 1/4) y se ha suspendido el tratamiento, por distintos motivos, en el 9.7% restante. Comparando entre grupos, vemos que la remisión, total o parcial, es bastante más superior entre los pacientes con ON (7 de 8; 87.5%) que entre los casos con UC (56.5%). Pero, lo reducido de los N una vez más, nos impide probar la significación estadística de esta diferencia.

Figura 5. Diagrama de barras. Situación actual. (N=31).

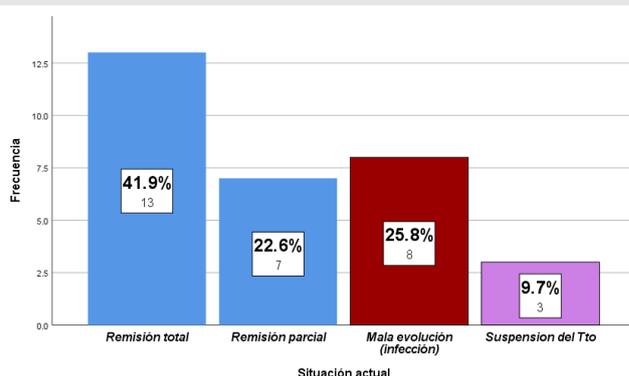
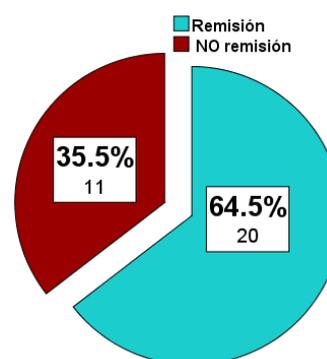


Figura 6. Diagrama de sectores. Remisión. (N=31).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

- El número de semanas con tratamiento PRP tiene un muy amplio rango de entre 4 y 40, con valor medio en casi 12 semanas (11.9 ± 8.7); siendo inferior el tiempo en los casos ON (9.1 vs 12.9) pero sin que llegemos a alcanzar la significación estadística ($p > .05$). Al generar categorías en este factor, observa que parece haber más remisiones en menor tiempo en el grupo con ON (hasta 7 semanas: 62.5% vs 30.4%); pero se mantiene la ausencia de significación estadística ($p > .05$).

Tabla 5. Análisis descriptivo y comparativo. Factores relativos al Tto. PRP, según diagnóstico. (N=31).

VARIABLES	Muestra total (N=31)	GRUPO		Test de Contraste	
		Osteonecr. (n=8)	Úlceras C. (n=23)	Valor	P valor
SITUACIÓN ACTUAL				Chi ² =3.99 ^{NS}	.263
Remisión total	41.9 % (13)	62.5 % (5)	34.8 % (8)		
Remisión parcial	22.6 % (7)	25.0 % (2)	21.7 % (5)		
Mala evolución	25.8 % (8)	0.0 % (--)	34.8 % (8)		
Suspensión del Tto	9.7 % (3)	12.5 % (1)	8.7 % (2)		
REMISIÓN	64.5 % (20)	87.5 % (7)	56.5 % (13)	Chi ² =2.49 ^{NS}	.115
Nº SEMANAS Tto PRP Media (D.E.)	11.9 (8.7)	9.1 (4.4)	12.9 (9.6)	Z ₀ =1.05 ^{NS}	.317
Mediana (Rango)	8.0 (4-40)	7.0 (6-18)	8.0 (4-40)		
Categorías				Chi ² =2.94 ^{NS}	.230
Hasta 7 semanas	38.7 % (12)	62.5 % (5)	30.4 % (7)		
8-12 semanas	32.3 % (10)	12.5 % (1)	39.1 % (9)		
>=13 semanas	29.0 % (9)	25.0 % (2)	30.4 % (7)		

N.S. = NO significativo

2.- Factores relacionados con la remisión

A continuación, se ha procedido a tratar de encontrar qué variables de las que se han recogido son factores explicativos/predictivos y están asociados a la remisión de las lesiones tratadas con PRP. En primer lugar, se ha realizado un estudio de los efectos

univariantes de cada una de estos posibles factores. Se ha empleado el test de contraste adecuado a cada tipo de datos y se completa el análisis con el cálculo del tamaño del efecto que se ha expresado en forma del coeficiente R^2 (escala: 0-1) para que sean comparables los resultados de test distintos. Puesto que la serie de estudio consta de solo 31 pacientes, va a ser complicado alcanzar significaciones estadísticas salvo que los efectos de los factores sobre la remisión sean muy fuertes. Por ello el valor de R^2 cobra mayor importancia y debemos de tener en cuenta aquellos indicios de posibles relaciones que vengan señalados por tamaños del efecto moderados de al menos un 6%.

2.1.- *Análisis univariante*

Para una mayor claridad expositiva de estos resultados, se han agrupado las variables en distintas tablas siguiendo el mismo criterio de la descriptiva anterior.

2.1.1- *Factores sociodemográficos*

Al comparar la edad (**tabla 6**) se ha observado que en promedio son algo más jóvenes los casos en los que se logra la remisión de la lesión (73.4 vs 80.3) y aunque la diferencia no llega a la significación, el tamaño del efecto (moderado: 9.9%) es un buen indicio de relación en el sentido indicado. Al usar como factor la variable cortada en décadas, se puede observar un 100% de remisión en los casos más jóvenes (menores a 70 años) que apoya el resultado anterior con un efecto más elevado (22.3%) y que ya es estadísticamente significativo ($p < .05$). Pero el problema lo encontramos en que no se puede hablar de una tendencia lineal, por cuanto que mientras en el intervalo central de edad, el porcentaje se reduce (41.7%), posteriormente vuelve a aumentar entre los casos de más edad (66.7%). Por tanto, este resultado pensamos que no es muy concluyente. En cuanto al género del paciente (tabla 6) se ha encontrado una significación ($p < .05$) acompañada de un efecto ya elevado (17.3%) debido a que hay más remisiones entre los hombres que entre las mujeres (77.3% vs 33.3%).

Tabla 6. Análisis univariante. Factores sociodemográficos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

FACTOR	VD - Resultado del Tto PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²	
	REMISIÓN (n=20)	NO remisión (n=11)	Valor	P valor		
EDAD	Media (D.E.)	73.4 (12.3)	80.3 (4.5)	Z _U =1.45 ^{NS}	.157	.099
	Mediana (Rango)	75 (52-87)	79 (77-89)			
intervalos				Chi ² =6.61*	.037	.213
	50-69 años	100 % (7)	0.0 % (--)			
	70-79 años	41.7 % (5)	58.3 % (7)			
	89-89 años	66.7 % (8)	33.3 % (4)			
SEXO				Chi ² =5.39*	.020	.173
	Varón	77.3 % (17)	22.7 % (5)			
	Mujer	33.3 % (3)	66.7 % (6)			

N.S. = NO significativo * = Significativo

2.1.2- Antecedentes

En el estudio de los antecedentes (**tabla 7**) ni la HTA ni la DM son factores que se relacionen con la remisión, puesto que ni hay significación ni hay tamaño el efecto que lo pueda justificar.

Sí parece que la ausencia de patologías podría ser un factor favorecedor de la remisión (81.8% vs 55.0%; **tabla 7**) aunque sin llegar a la significación estadística (p>.05) pero con un tamaño del efecto moderado (8.2%).

Por último, en el análisis del factor “causa que lleva a la lesión” se observa una relación casi significativa (p<.10) junto a un tamaño el efecto elevado (16.8%) que se debe a que remiten menos aquellos pacientes tratados con Hydrea® (41.7% vs 70% y 88.9%).

Tabla 7. Análisis univariante. Factores de los antecedentes relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

FACTOR	VD - Resultado del Tto PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²
	REMISIÓN (n=20)	NO remisión (n=11)	Valor	P valor	
PATOLOGÍAS ASOCIADAS					
<i>Sin patologías asociadas</i>	81.8 % (9)	18.2 % (2)	Chi ² =3.63 ^{NS}	.304	.117
<i>DM + Afec.</i>	71.4 % (5)	28.6 % (2)			
<i>Cardiovasculares</i>	50.0 % (4)	50.0 % (4)			
<i>Solo afec. Cardiovasculares</i>	40.0 % (2)	60.0 % (2)			
<i>Otras</i>					
PATOLOGÍAS ASOCIADAS					
<i>No</i>	81.8 % (9)	18.2 % (2)	Chi ² =2.30 ^{NS}	.135	.082
<i>Sí</i>	55.0 % (11)	45.0 % (9)			
HIPERTENSIÓN ARTERIAL					
<i>Sí</i>	60.0 % (9)	40.0 % (6)	Chi ² =0.26 ^{NS}	.611	.008
<i>No</i>	68.8 % (11)	31.3 % (5)			
DIABETES MELITUS					
<i>Sí</i>	71.4 % (5)	28.6 % (2)	Chi ² =0.19 ^{NS}	.664	.006
<i>No</i>	62.5 % (15)	37.5 % (9)			
CAUSA QUE LLEVA A LA LESIÓN					
<i>No</i>	70.0 % (7)	30.0 % (3)	Chi ² =5.20 [†]	.074	.168
<i>Hydrea®</i>	41.7 % (5)	58.3 % (7)			
<i>Zometa®</i>	88.9 % (8)	11.1 % (1)			

N.S. = NO significativo † = Casi significativo

2.1.3.- Factores analíticos

En el estudio de las variables analíticas, como posibles factores que favorezcan la remisión se ha observado (**tabla 8**) que:

- Ni el grupo sanguíneo ni el Rh parecen tener relación alguna ($p > .05$). Si bien es cierto que hay mayor remisión en los pacientes con grupo sanguíneo B (100%) debemos de tener en cuenta que se dispone solo de 2 pacientes en este grupo.
- Parece haber una tendencia a que valores menores en Hb estén favoreciendo la remisión frente a aquellos que tienen este factor en un nivel normal (87.5% vs 54.5%). Esta tendencia no llega a la significación ($p > .05$) pero se corresponde con un tamaño del efecto moderado (10.8%).
- Sí que alcanza significación estadística ($p < .05$) que valores normales en leucocitos frente a los elevados (81.0% vs 33.3%); asociación que se acompaña de un tamaño del efecto ya muy grande (26.2%), por lo que estos resultados son un indicio bastante sólido de esta variable como un factor facilitador para la remisión.
- También se ha observado que sorprendentemente los pacientes con valores de colesterol alterados tanto por alto como por bajo son otro factor que actúa en el

mismo sentido que el anterior frente a los casos con el colesterol normal (100% y 100% vs 45.5%). Relación que además se apoya también en un tamaño del efecto muy elevado (30.2%).

- Por último, ni las plaquetas ni los linfocitos ni la albúmina, se presentan como factores asociados a la remisión ($p > .05$ y efectos muy bajos o casi nulos).

Tabla 8. *Análisis univariante.* Factores de los resultados analíticos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

FACTOR	VD - Resultado del Tio PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²	
	REMISIÓN (n=20)	NO remisión (n=11)	Valor	P valor		
GRUPO SANGUÍNEO			Chi ² =2.67 ^{NS}	.263	.086	
<i>O</i>	52.9 % (9)	47.1 % (8)				
<i>A</i>	75.0 % (9)	25.0 % (3)				
<i>B</i>	100 % (2)	0.0 % (--)				
RH			Chi ² =0.22 ^{NS}	.643	.007	
<i>Positivo</i>	66.7 % (16)	33.3 % (8)				
<i>Negativo</i>	57.1 % (4)	42.9 % (3)				
HEMOGLOBINA	<i>Media (D.E.)</i>	13.16 (1.80)	14.04 (0.47)	Z _U =1.57 ^{NS}	.126	.079
	<i>Mediana (Rango)</i>	13.6 (9.5-17.2)	14.2 (13.2-14.5)			
	Categorías			Chi ² =3.35 ^{NS}	.187	.108
	<i>Normal</i>	54.5 % (12)	45.5 % (10)			
	<i>Elevada</i>	100 % (1)	0.0 % (--)			
	<i>Baja</i>	87.5 % (7)	12.5 % (1)			
LEUCOCITOS	<i>Media (D.E.)</i>	7.77 (3.03)	10.62 (5.14)	Z _U =1.43 ^{NS}	.154	.116
	<i>Mediana (Rango)</i>	7.0 (4.4-14.8)	14.1 (2.7-16.2)			
	Categorías			Chi ² =8.12 *	.017	.262
	<i>Normal</i>	81.0 % (17)	19.0 % (4)			
	<i>Elevados</i>	33.3 % (6)	66.7 % (6)			
	<i>Bajos</i>	0.0 % (--)	100 % (1)			
PLAQUETAS	<i>Media (D.E.)</i>	245 (165)	252 (210)	Z _U =0.23 ^{NS}	.820	.000
	<i>Mediana (Rango)</i>	204 (98-848)	213 (120-848)			
	Categorías			Chi ² =0.13 ^{NS}	.936	.004
	<i>Normal</i>	66.7 % (12)	33.3 % (6)			
	<i>Elevadas</i>	66.7 % (2)	33.3 % (1)			
	<i>Bajas</i>	60.0 % (6)	40.0 % (4)			
LINFOCITOS	<i>Media (D.E.)</i>	1.74 (0.68)	1.94 (0.71)	Z _U =0.75 ^{NS}	.456	.021
	<i>Mediana (Rango)</i>	1.7 (0.8-3.3)	1.7 (0.7-2.9)			
	Categorías			Chi ² =0.52 ^{NS}	.472	.017
	<i>Normal</i>	60.9 % (14)	39.1 % (9)			
	<i>Linfopenia</i>	75.0 % (6)	25.0 % (2)			
COLESTEROL	<i>Media (D.E.)</i>	162 (42)	151 (26)	Z _U =1.03 ^{NS}	.301	.019
	<i>Mediana (Rango)</i>	172 (102-217)	154 (108-188)			
	Categorías			Chi ² =9.38**	.009	.302
	<i>Normal</i>	45.0 % (9)	55.0 % (11)			
	<i>Elevado</i>	100 % (6)	0.0 % (--)			
	<i>Bajo</i>	100 % (5)	0.0 % (--)			
ALBÚMINA	<i>Media (D.E.)</i>	4.02 (0.59)	4.13 (0.32)	Z _U =0.70 ^{NS}	.483	.012
	<i>Mediana (Rango)</i>	4.1 (2.5-4.8)	4.2 (3.3-4.6)			
	Categorías			Chi ² =0.01 ^{NS}	.935	.002
	<i>Normal</i>	64.3 % (18)	35.7 % (10)			
	<i>Baja</i>	66.7 % (2)	33.3 % (1)			

N.S. = NO significativo * = Significativo ** = Altamente significativo

2.1.4.- Factores relativos a la lesión

En este último bloque de variables que hemos cruzado con la remisión hemos encontrado (**tabla 9**) que:

- La localización de la lesión puede ser un factor explicativo, puesto que aparece una casi significación ($p < .10$) junto a un tamaño del efecto moderado (11%). Los datos sugieren que la remisión es más frecuente cuando la lesión se sitúa a nivel de las extremidades inferiores (88.9% vs 54.5) que en la mandíbula o en la arcada dental.
- También parece que el grado leve (100% de remisión) podría ser un factor favorecedor frente al resto de grados (entre un 55.6% y un 63.6%), ya que, aunque no hay significación ($p > .05$) sí que se observa un tamaño del efecto moderado (8.6%).
- Así mismo la ausencia de tratamientos precios parece ayudar a la remisión (81.8% vs 55.0%) aunque no se llegue a la significación ($p > .05$) y en especial cuando el tratamiento que se había empleado era quirúrgico (37.5%; $p > .05$; efecto del 13%). Pero el tiempo de estos tratamientos previos no es un factor a tener en cuenta.

Por último, el que sí presenta resultados estadísticos que suponen una relación con la remisión es el tiempo del tratamiento PRP (**tabla 9**). Con una alta significación estadística ($p < .001$) y un tamaño del efecto muy grande (más del 87%) se observa que hasta la semana 7 remiten todos los casos (12), de la 8 a la 12 no remite ninguno (10) y desde la 13 hacia adelante remiten todos menos 1 (9 de 10). Este efecto, dado la tendencia curvilínea de esta relación, no aparece cuando se trata de comprobar la significación entre las medias; es decir el efecto del factor considerado como variable cuantitativa.

Tabla 9. Análisis univariante. Factores relativos a la lesión relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=31).

FACTOR	VD - Resultado del Tto PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²
	REMISIÓN (n=20)	NO remisión (n=11)	Valor	P valor	
LOCALIZACIÓN LESIÓN					
<i>Pierna+Tobillo+Pie+Dedos</i>	88.9 % (8)	11.1 % (1)	Chi ² =3.29 †	.070	.110
<i>Mandib.+Arcada D.</i>	54.5 % (12)	45.5 % (10)			
TAMAÑO (cms)					
<i>Media (D.E.)</i>	2.85 (1.86)	2.91 (1.59)	Z _U =0.36 _{NS}	.723	.000
<i>Mediana (Rango)</i>	2.50 (5.0-8.0)	3.00 (1.0-8.0)			
Categorías			Chi ² =2.36 ^{NS}	.307	.076
<i><2 cms</i>	77.8 % (7)	22.2 % (2)			
<i>2-3 cms</i>	50.0 % (7)	50.0 % (7)			
<i>>3 cms</i>	75.0 % (6)	25.0 % (2)			
GRADO			Chi ² =2.69 ^{NS}	.443	.086
<i>Leve</i>	100 % (4)	0.0 % (--)			
<i>Moderado</i>	63.6 % (7)	36.4 % (4)			
<i>Mod-grave</i>	55.6 % (5)	44.4 % (4)			
<i>Severo</i>	57.1 % (4)	42.9 % (3)			
Ttos. PREVIOS			Chi ² =4.01 ^{NS}	.134	.130
<i>Sin Tto previo</i>	81.8 % (9)	18.2 % (2)			
<i>Cirugía</i>	37.5 % (3)	62.5 % (5)			
<i>Cura local</i>	66.7 % (8)	33.3 % (4)			
Ttos. PREVIOS			Chi ² =2.23 ^{NS}	.135	.072
<i>Sin Tto previo</i>	81.8 % (9)	18.2 % (2)			
<i>Con Tto previo</i>	55.0 % (11)	45.0 % (9)			
MESES Ttos. Prev.			Z _U =0.58 _{NS}	.583	.003
<i>Media (D.E.)</i>	3.20 (2.17)	3.00 (0.89)			
<i>Mediana (Rango)</i>	2.0 (1-10)	3.0 (2-4)			
Categorías			Chi ² =0.99 ^{NS}	.609	.032
<i><=2 meses</i>	73.3 % (11)	26.7 % (4)			
<i>3 meses</i>	57.1 % (4)	42.9 % (3)			
<i>>3 meses</i>	55.6 % (5)	44.4 % (4)			
TIEMPO Tto. PRP			Z _U =1.00 _{NS}	.338	.033
<i>Media (D.E.)</i>	13.05 (10.60)	9.82 (2.27)			
<i>Mediana (Rango)</i>	7.0 (4-40)	8.0 (8-14)			
Categorías			Chi ² =27.12**	.000	.874
<i><=7 semanas</i>	100 % (12)	0.0 % (--)			
<i>8-12 semanas</i>	0.0 % (--)	100 % (10)			
<i>>=13 semanas</i>	88.9 % (9)	11.1 % (1)			

N.S. = NO significativo † = Casi significativo ** = Altamente significativo

2.2.- Análisis multivariante

Del análisis univariante se derivan 6 factores que o bien presentan una asociación con la remisión significativa ($p < .05$) o cercana a ella ($p < .10$): edad, sexo, causa que lleva a la lesión, leucocitos, colesterol y localización de la sesión, sin contar con el Tiempo con el Tto PRP. Junto a estas hay alguna otra variable (4) que por su tamaño del efecto (aunque con $p > .10$) podríamos decir que tenemos indicios de una posible relación con la remisión: ausencia de patologías asociadas, Hb, grado de la lesión y ausencia de tratamientos previos.

En este estudio es muy complicado construir un modelo multivariante debido a lo reducido del tamaño muestral. Normalmente se requiere que el N sea de unas 10 veces superior al número de factores explicativos/predictores que se van a incluir en el mismo: en el menor de los casos los 7 antes citados y sería conveniente probar añadiendo los otros 4. Es evidente que el tamaño de muestra del que se dispone no cumple con este requisito, pero aun así se han intentado construir algún tipo de modelo multivariante. En primer lugar, se intentó encontrar un modelo por la vía de la regresión logística múltiple, introduciendo todos los factores con tamaños del efecto de al menos un 8-10% para ir sacando, con el procedimiento de pasos hacia atrás por Wald, aquellos que menos aportan; pero fue imposible alcanzar un modelo múltiple que incluya más de un factor. Después se probó a emplear el método de pasos hacia adelante, introduciendo una a una las variables significativas (al menos $p < .05$) desde la que más efecto había demostrado en el estudio univariante, en adelante (Colesterol: $R^2 = .302$; Leucocitos: $R^2 = .262$; Edad: $R^2 = .213$; etc.) pero no fue imposible llegar a un modelo multivariante con al menos 2 factores.

Se realizó, un árbol de decisiones en formato CHAID (**Tabla 10**; **fig. 7**) [Estimación ($.258$); Error estándar ($.079$)], el cual sólo indica que la variable de salida (mejoría) depende del sexo, y en los hombres del tratamiento local previo.

Clasificación			
Observado	Pronosticado		Porcentaje correcto
	No	Sí	
No	6	5	54,5%
Sí	3	17	85,0%
Porcentaje global	29,0%	71,0%	74,2%

Tabla 10. Árbol CHAID (N=31), variable dependiente: Mejoría (curación total o parcial).

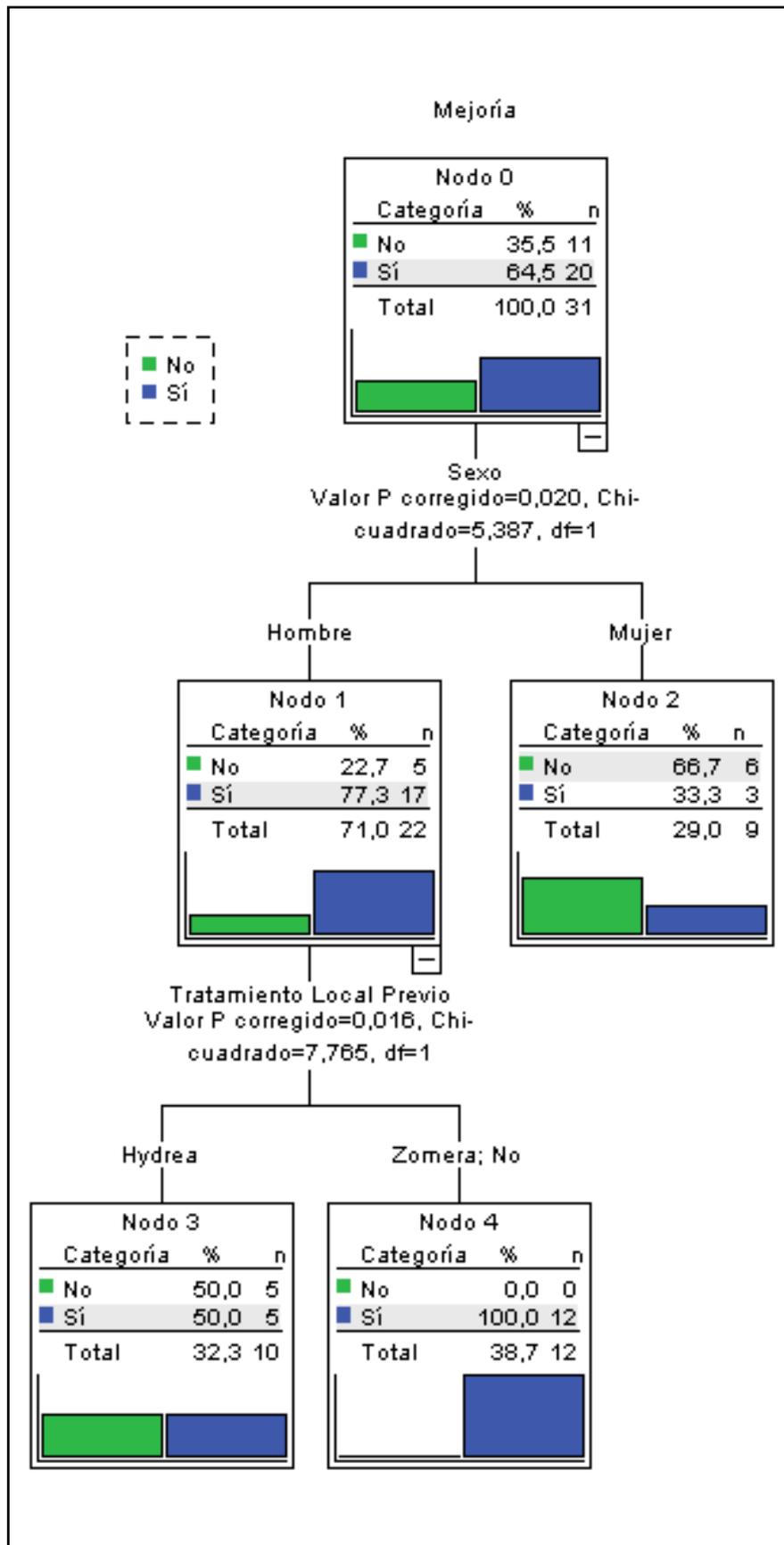


Figura 7. Árbol CHAID (N=31), variable dependiente: Mejoría (curación total o parcial).

Del análisis de supervivencia realizado, se muestran a continuación las Curvas de Kaplan-Meier que han salido estadísticamente significativas (Figs. 8-15), por lo que se podría sugerir que sólo influyen en la supervivencia las siguientes variables:

- Diagnóstico indicativo de tratamiento mediante PRP (p,031). (Fig. 8; Tabla 11).
- Tratamiento previo (p,009). (Fig. 9; Tabla 12).
- Tratamiento local previo (p,069). (Fig. 10; Tabla 13).
- Duración del tratamiento previo (p,077). (Fig. 11; Tabla 14).
- Localización de la lesión (p,044). (Fig. 12; Tabla 15).
- Sexo (p,0053). (Fig. 13; Tabla 16).
- Edad [en rangos etáreos habituales (p,073) o en décadas (p,014)]. (Figs. 14 y 15; Tablas 17 y 18).

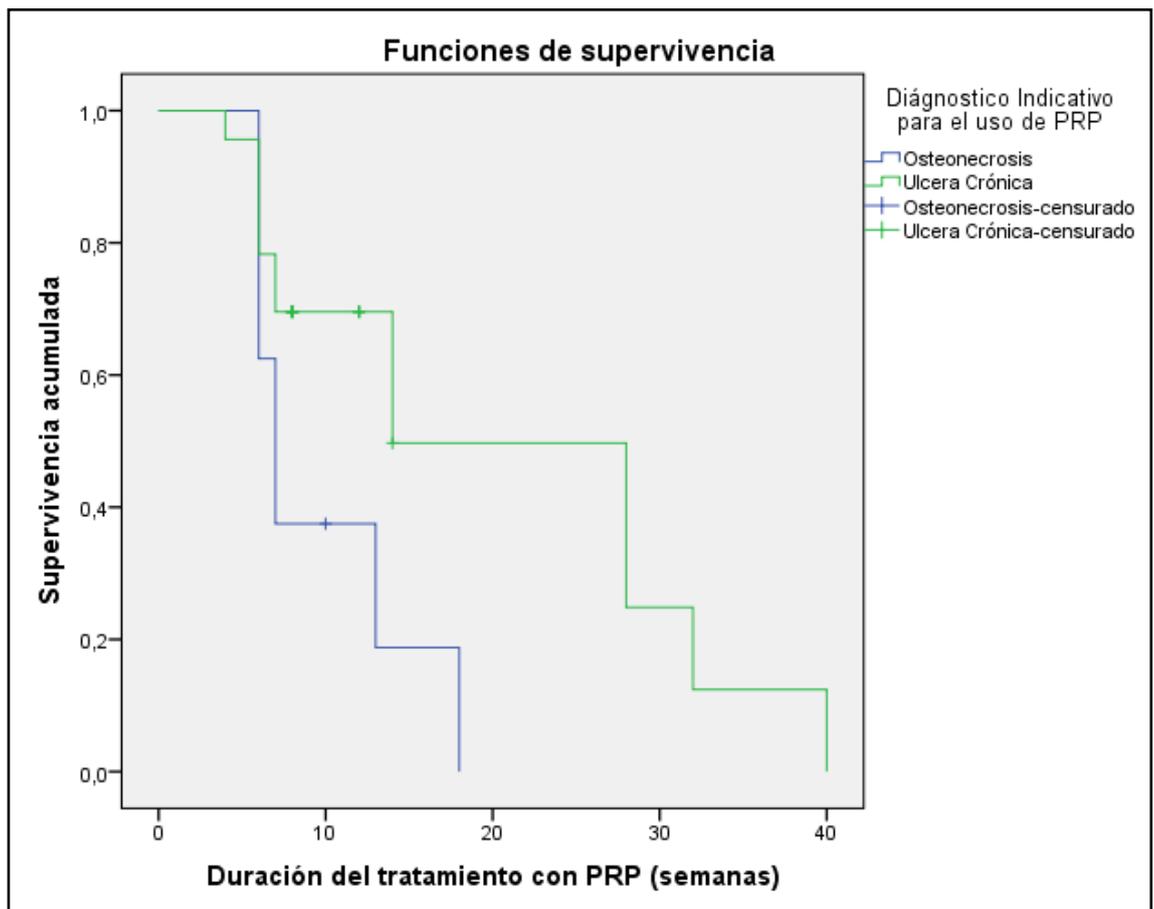


Figura 8. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable. Diagnóstico Indicativo para el uso de PRP (en semanas).

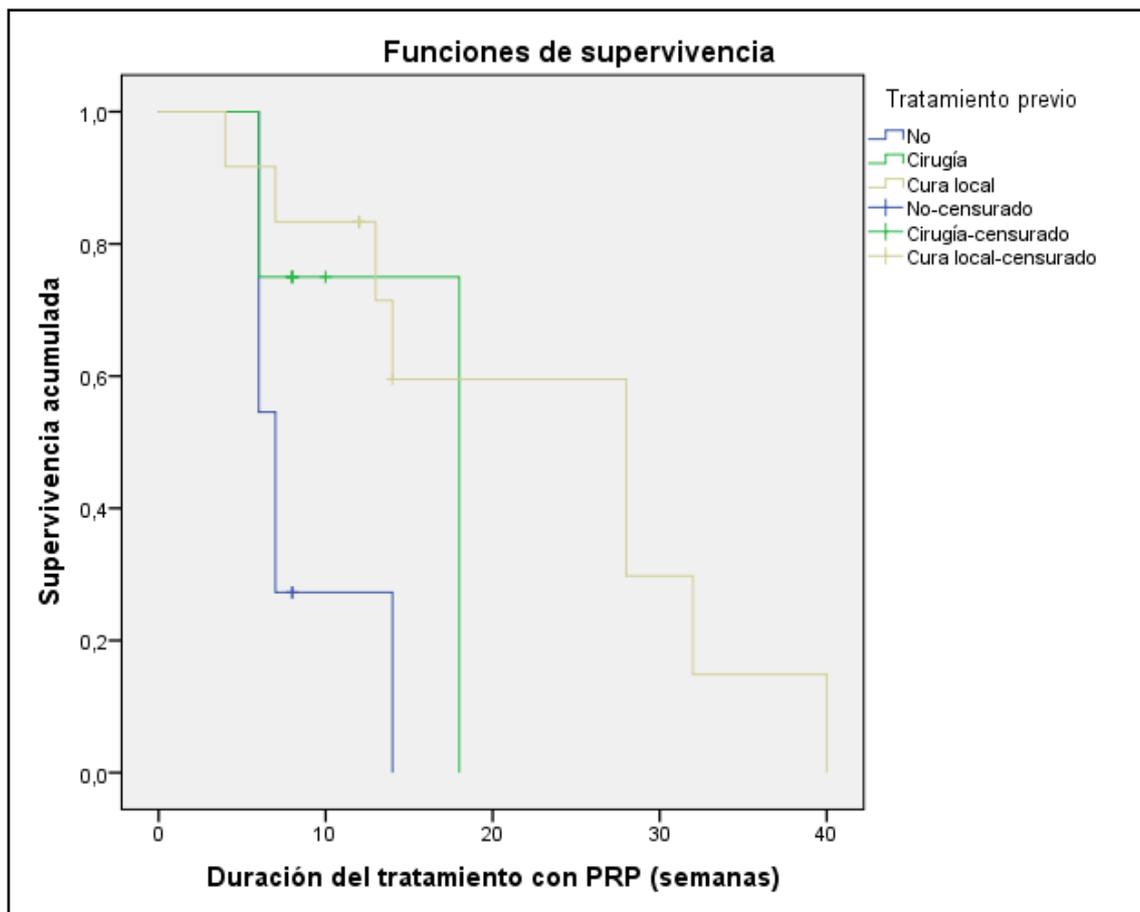


Figura 9. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: tratamiento previo del sujeto (Hydrea®/Zometa®).

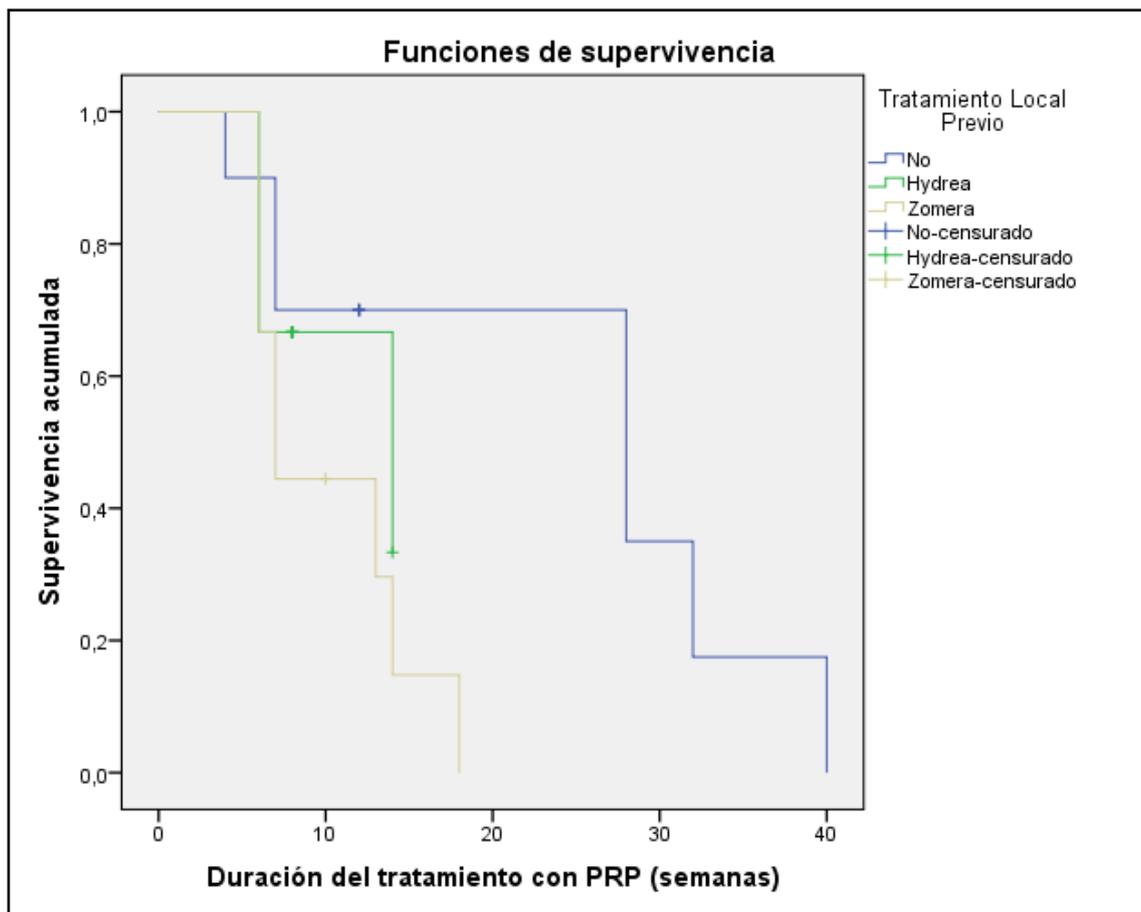


Figura 10. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: tratamiento local previo al uso de PRP.

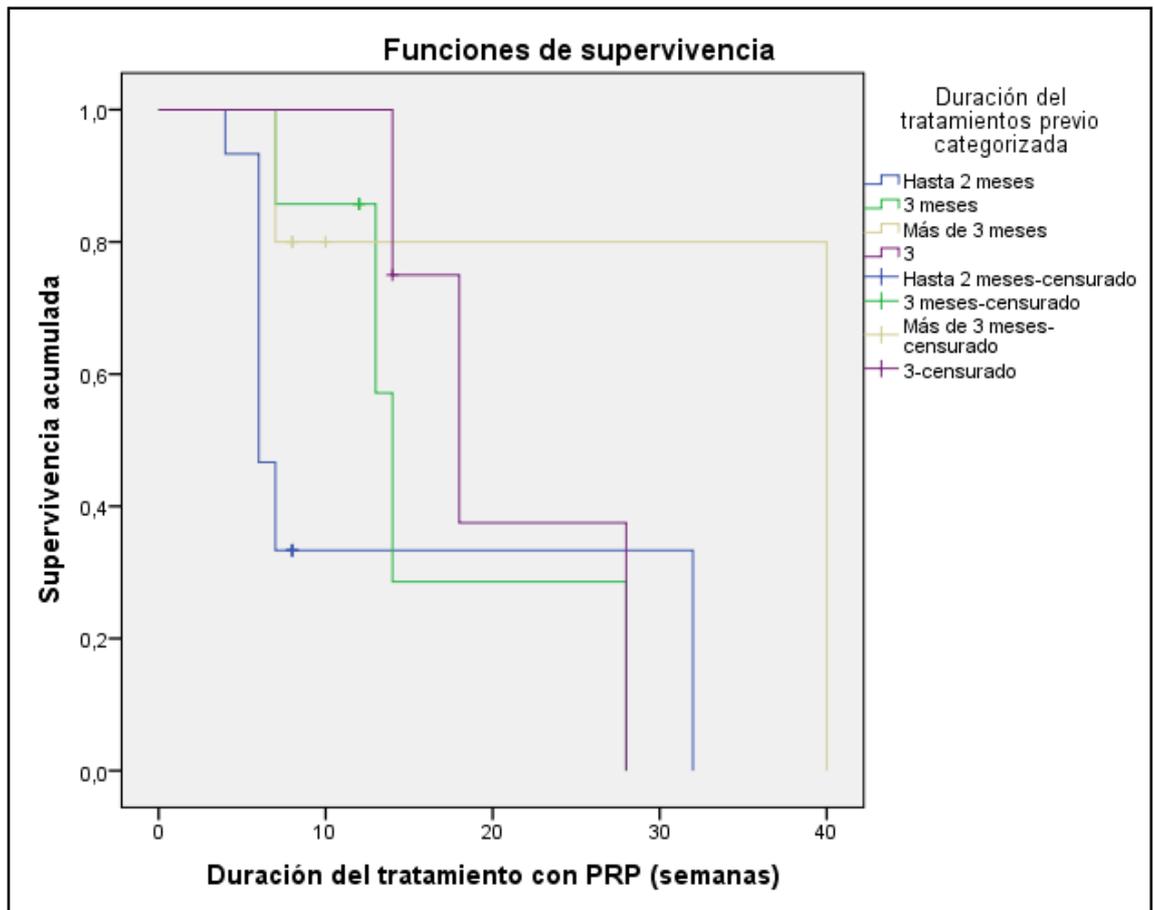


Figura 11. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: duración del tratamiento previo al uso de PRP.

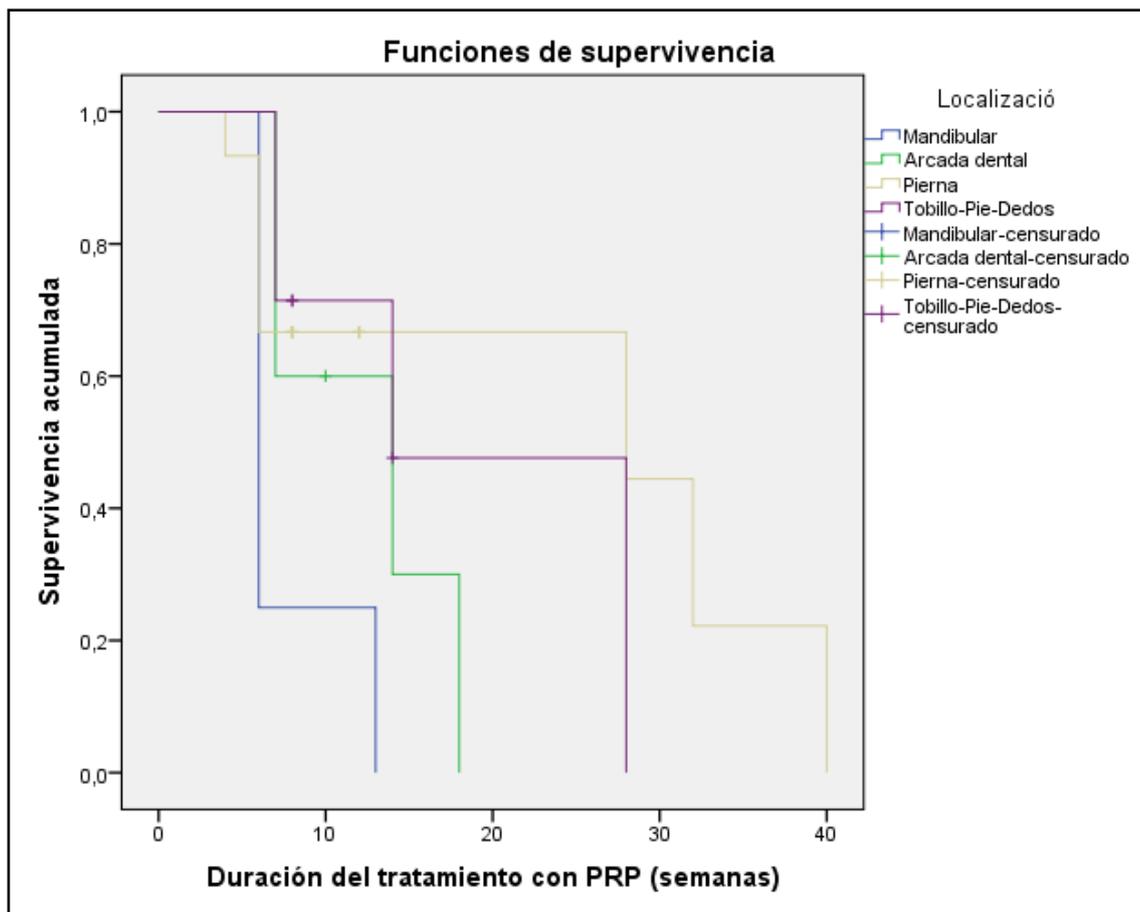


Figura 12. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: localización de la lesión.

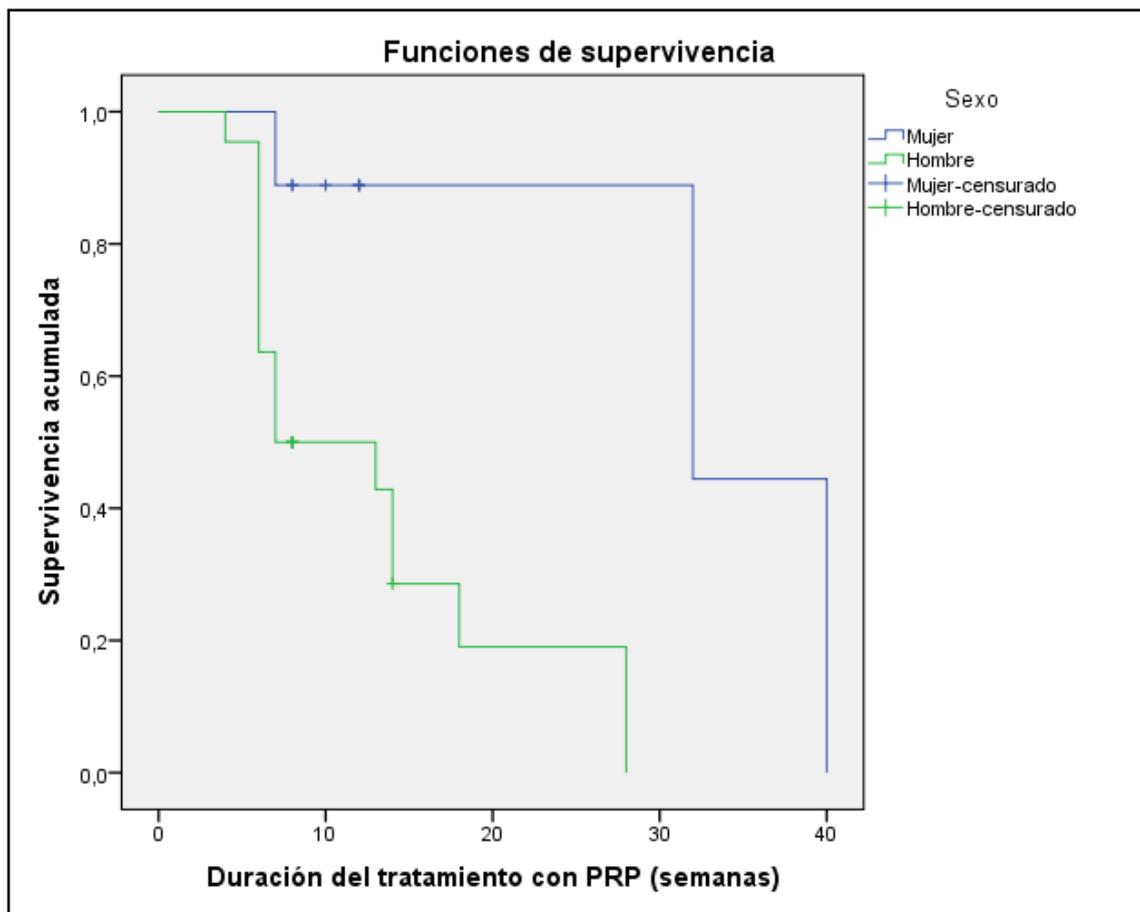


Figura 13. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: sexo del sujeto (mujer/varón).

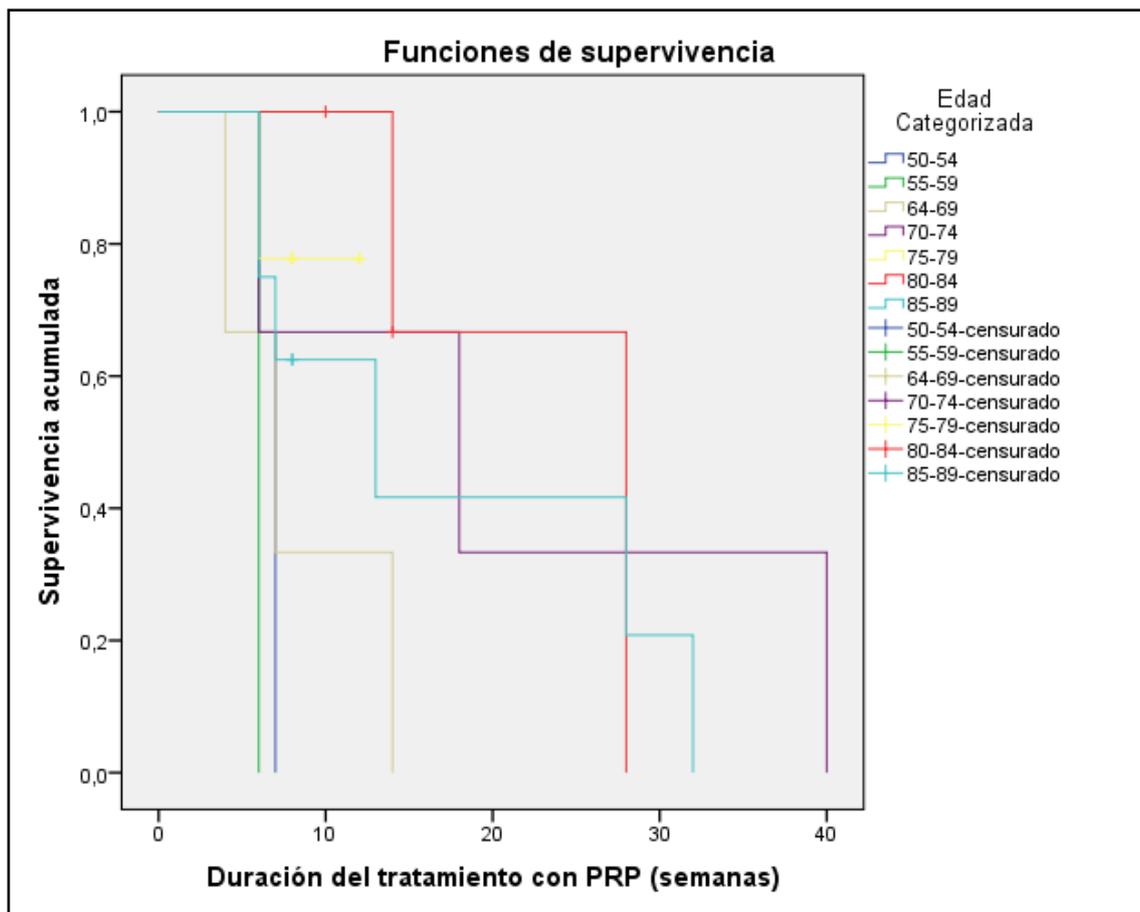


Figura 14. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: edad (categorizada en rango etáreo habitual).

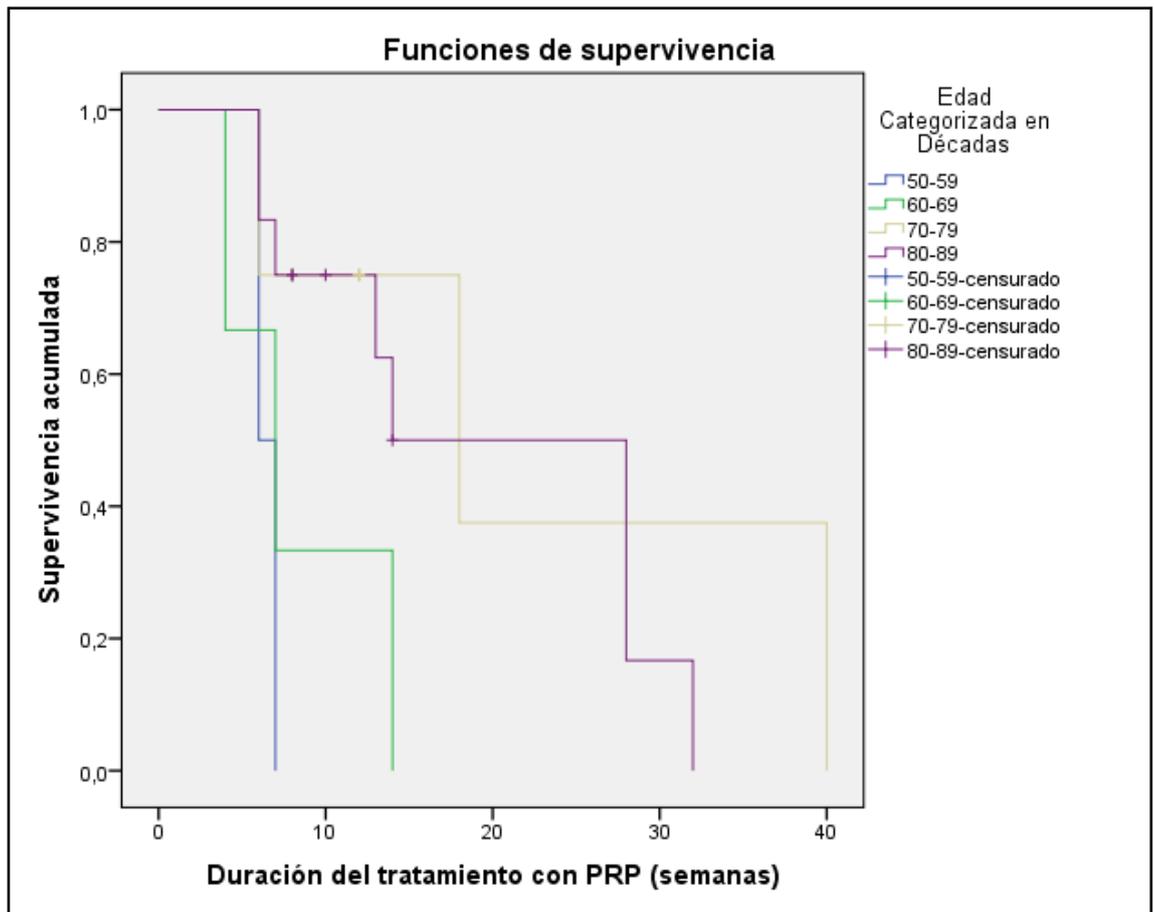


Figura 15. Curva de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: edad (categorizada en rango etéreo por décadas).

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Diagnóstico Indicativo para el uso de PRP (ver Figura 8)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
Osteonecrosis	9,813	1,834	6,217	13,408	7,000	,685	5,658	8,342
Úlcera Crónica	20,509	3,303	14,036	26,983	14,000	6,440	1,379	26,621
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	4,659	1	,031

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Diagnóstico Indicativo para el uso de PRP.

Tabla 11. Análisis de supervivencia, Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: Diagnóstico Indicativo para el uso de PRP (en semanas). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Tratamiento previo (ver Figura 9)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
No	8,455	1,094	6,310	10,599	7,000	.	.	.
Cirugía	15,000	2,250	10,590	19,410	18,000	,000	.	.
Cura local	23,179	4,043	15,254	31,103	28,000	7,967	12,385	43,615
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	9,319	2	,009

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Tratamiento previo.

Tabla 12. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: tratamiento previo del sujeto (Hydrea®/Zometa®). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Tratamiento Local Previo (ver Figura 10)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
No	24,200	4,479	15,421	32,979	28,000	11,364	5,726	50,274
Hydrea®	11,333	1,217	8,948	13,719	14,000	5,888	2,460	25,540
Zometa®	10,222	1,639	7,009	13,435	7,000	,745	5,539	8,461
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	5,348	2	,069

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Tratamiento Local Previo.

Tabla 13. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: tratamiento local previo al uso de PRP. [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Duración del tratamiento previo (ver Figura 11)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
Hasta 2 meses	14,667	3,323	8,153	21,181	6,000	,644	4,738	7,262
3 meses	16,714	4,279	8,328	25,100	14,000	,831	12,371	15,629
Más de 3 meses	33,400	8,348	17,037	49,763	40,000	,000	.	.
3	20,750	4,030	12,851	28,649	18,000	3,055	12,012	23,988
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	6,846	3	,077

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Duración de los tratamientos previos categorizada.

Tabla 14. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: duración del tratamiento previo al uso de PRP. [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Localización (ver Figura 12)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
Mandibular	7,750	1,750	4,320	11,180	6,000	.	.	.
Arcada dental	12,400	2,479	7,542	17,258	14,000	5,571	3,081	24,919
Pierna	24,089	4,154	15,948	32,230	28,000	19,677	,000	66,568
Tobillo-Pie-Dedos	18,667	4,500	9,847	27,486	14,000	6,623	1,019	26,981
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	8,092	3	,044

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Localización.

Tabla 15. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: localización de la lesión. [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Sexo (ver Figura 13)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
Mujer	32,778	4,830	23,312	42,244	32,000	17,922	,000	67,126
Hombre	13,022	2,026	9,050	16,993	7,000	3,591	,000	14,039
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	7,903	1	,005

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Sexo.

Tabla 16. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: sexo del sujeto (mujer/varón). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Edad [rangos etáreo habitual] (ver Figura 14)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
50-54	6,667	,333	6,013	7,320	7,000	,000	.	.
55-59	6,000	,000	6,000	6,000	6,000	.	.	.
64-69	8,333	2,963	2,526	14,140	7,000	2,449	2,199	11,801
70-74	21,333	9,955	1,821	40,846	18,000	9,798	,000	37,204
75-79	10,667	,831	9,037	12,296
80-84	23,333	5,389	12,772	33,895	28,000	,000	.	.
85-89	17,583	4,675	8,421	26,746	13,000	5,899	1,438	24,562
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	11,533	6	,073

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Edad Categorizada.

Medias y medianas para el tiempo de supervivencia

Tabla 17. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: edad (categorizada en rango etáreo habitual). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Edad Categorizada en Décadas (ver Figura 9)	Media ^a				Mediana			
	Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %		Estimación	Error estándar	Intervalo de confianza de 95 %	
			Límite inferior	Límite superior			Límite inferior	Límite superior
50-59	6,500	,289	5,934	7,066	6,000	.	.	.
60-69	8,333	2,963	2,526	14,140	7,000	2,449	2,199	11,801
70-79	23,250	7,271	8,998	37,502	18,000	8,718	,913	35,087
80-89	19,625	3,454	12,855	26,395	14,000	5,455	3,309	24,691
Global	17,110	2,591	12,032	22,189	14,000	3,858	6,439	21,561

a. La estimación está limitada al tiempo de supervivencia más largo, si está censurado.

Comparaciones globales

	Chi-cuadrado	gl	Sig.
Log Rank (Mantel-Cox)	10,613	3	,014

Prueba de igualdad de distribuciones de supervivencia para los distintos niveles de Edad Categorizada en Décadas.

Tabla 18. Análisis de Kaplan-Meier. Análisis de supervivencia para la variable: edad (categorizada en rango etáreo por décadas). [Medias y medianas para el tiempo de supervivencia/Comparaciones globales].

Finalmente, tras el análisis realizado mediante la regresión de Cox, hemos de señalar honestamente que no sale bien, seguramente porque las variables son multicategorías, y ello requiere disponer de gran número de casos. Además, las variables de nuestro estudio están categorizadas aleatoriamente, esto es, sin criterio de progresividad y de orden; dicho de otro modo, no van de poco a mucho, no son ni ascendentes ni descendentes. Esto implica que al realizar el análisis tengamos dificultades. Es posible que si realizáramos una codificación diferente (ver en **Anexo 9** la codificación aplicada), convirtiéndolas en binarias y dándoles una gradación uniforme a las categorías, se podría inferir alguna conclusión más sólida.

Se ha usado la técnica "adelante condicional", y tras la cual, se eliminan todas las variables excepto el sexo. La **tabla 19** es una estimación proporcional orientativa del posible 'peso' de la influencia de cada variable.

Las variables no están en la ecuación^a

		Puntuación	gl	Sig.
Paso 1	TratamientoLocalPrevio	2,501	2	,286
	TratamientoLocalPrevio(1)	,457	1	,499
	TratamientoLocalPrevio(2)	2,428	1	,119
	TamañoCat	1,276	3	,735
	TamañoCat(1)	,784	1	,376
	TamañoCat(2)	,859	1	,354
	TamañoCat(3)	,137	1	,712
	DiagnosticoIndicativo	2,992	1	,084
	TratamientoPrevio	5,352	2	,069
	TratamientoPrevio(1)	,904	1	,342
	TratamientoPrevio(2)	1,732	1	,188
	DuraciónTratamientoPrevio Cat	6,518	3	,089
	DuraciónTratamientoPrevio Cat(1)	,284	1	,594
	DuraciónTratamientoPrevio Cat(2)	,322	1	,570
	DuraciónTratamientoPrevio Cat(3)	2,513	1	,113
	Localización	3,663	3	,300
	Localización(1)	,220	1	,639
	Localización(2)	,262	1	,609
	Localización(3)	,931	1	,335
	EdadCat	7,464	6	,280
	EdadCat(1)	1,181	1	,277
	EdadCat(2)	2,989	1	,084
	EdadCat(3)	,137	1	,711
	EdadCat(4)	,852	1	,356
	EdadCat(5)	2,134	1	,144
	EdadCat(6)	,131	1	,718
	EdadDécada	6,046	3	,109
	EdadDécada(1)	2,989	1	,084
	EdadDécada(2)	1,020	1	,313
	EdadDécada(3)	,844	1	,358

a. Chi cuadrado de residuo = 50,964 con 19 Sig. de gl = ,000

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo^a

Escalón	Logaritmo de la verosimilitud -2	Global (puntuación)			Cambio respecto a bloque anterior		
		Chi-cuadrado	gl	Sig.	Chi-cuadrado	gl	Sig.
1	93,792	6,583	1	,010	8,640	1	,003

a. Número de bloque de inicio 1. Método = Avanzar por paso (LR condicional)

Variables en la ecuación

	B	SE	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95,0% CI para Exp(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 Sexo	2,197	1,033	4,524	1	,033	8,995	1,188	68,092

Tabla 19. Análisis mediante Regresión de Cox.

Por tanto, aunque no se dan las condiciones estadísticas suficientes para intentar llegar a un modelo multivariante sólido que explique suficientemente los factores que favorecen la remisión de la lesión en pacientes tratados con PRP, sí hemos podido realizar ANOVA, con correcciones post hoc de Bonferroni, para la variable ‘duración del tratamiento en semanas’ (en las **tablas 20-24**, se muestran sólo aquellas que ofrecen resultados estadísticamente significativos, que son: ‘diagnóstico hematológico’, ‘tratamiento previo’ y ‘tratamiento local previo’), y regresión logística binaria para ver de qué variables depende principalmente la **mejoría** (nueva variable dicotómica para aglutinar la curación parcial/total en una sola variable) (**Tabla 20**), así como un nuevo árbol CHAID para ver de qué depende la variable ‘duración del tratamiento en semanas’, y parece confirmar que depende esencialmente de dos variables: ‘tratamiento previo’ y ‘diagnóstico hematológico’ (**Fig. 16**).

Así, en la **tabla 20**, se muestra una regresión logística binaria para ver de qué variables depende principalmente la **mejoría** (nueva variable dicotómica). El problema es que todo son variables cualitativas y multicategóricas. Parece que influyen esencialmente dos: Sexo (ser hombre es factor de riesgo, muy potente (ExpB: 16,234) y nivel de leucocitos (leucocitos elevados es factor de riesgo, poco potente). Es un modelo válido, con buena bondad de ajuste. [R² 52,5%].

Y en la **tabla 24**, se puede observar una regresión lineal, en la que se muestra de qué variables depende principalmente la variable ‘duración del tratamiento en semanas’;

y parece que depende esencialmente de dos variables: 'diagnóstico hematológico' y 'tratamiento previo'. El modelo es válido, sin colinealidad [R² 32,9%].

Variables en la ecuación

	B	Error estándar	Wald	gl	Sig.	Exp(B)	95% C.I. para EXP(B)	
							Inferior	Superior
Paso 1 ^a								
DiagHematológico			,000	2	1,000			
DiagHematológico(1)	18,437	49451,634	,000	1	1,000	101674540,4	,000	.
DiagHematológico(2)	-19,349	11991,697	,000	1	,999	,000	,000	.
TratamientoLocalPrevio			,000	1	1,000			
TratamientoLocalPrevio (2)	-17,070	46521,037	,000	1	1,000	,000	,000	.
Sexo(1)	20,116	11991,697	,000	1	,999	544591240,8	,000	.
LeucocitosCat			,236	2	,889			
LeucocitosCat(1)	-,895	1,842	,236	1	,627	,409	,011	15,098
LeucocitosCat(2)	-22,772	46736,856	,000	1	1,000	,000	,000	.
EdadDécada			,205	3	,977			
EdadDécada(1)	-,589	37193,741	,000	1	1,000	,555	,000	.
EdadDécada(2)	-19,617	20122,904	,000	1	,999	,000	,000	.
EdadDécada(3)	-18,851	20122,904	,000	1	,999	,000	,000	.
Constante	19,052	20122,904	,000	1	,999	188098821,7		
Paso 4 ^a								
Sexo(1)	2,789	1,267	4,849	1	,028	16,264	1,359	194,690
LeucocitosCat			6,104	2	,047			
LeucocitosCat(1)	-3,070	1,243	6,104	1	,013	,046	,004	,530
LeucocitosCat(2)	-21,147	40192,970	,000	1	1,000	,000	,000	.
Constante	-,056	,798	,005	1	,944	,945		

a. Variables especificadas en el paso 1: DiagHematológico, TratamientoLocalPrevio, Sexo, LeucocitosCat, EdadDécada.

Pruebas ómnibus de coeficientes de modelo

		Chi-cuadrado	gl	Sig.
Paso 1	Escalón	29,913	13	,005
	Bloque	29,913	13	,005
	Modelo	29,913	13	,005
Paso 5 ^a	Escalón	-2,750	1	,097
	Bloque	14,909	3	,002
	Modelo	14,909	3	,002

a. Un valor negativo de chi-cuadrados indica que el valor de chi-cuadrados ha disminuido del paso anterior.

Resumen del modelo

	Logaritmo de la verosimilitud -2	R cuadrado de Cox y Snell	R cuadrado de Nagelkerke
Escalón			
1	10,411 ^a	,619	,851
5	25,415 ^a	,382	,525

a. La estimación ha terminado en el número de iteración 20 porque se ha alcanzado el máximo de iteraciones. La solución final no se puede encontrar.

Prueba de Hosmer y Lemeshow

Escalón	Chi-cuadrado	gl	Sig.
1	,000	7	1,000
5	,104	2	,950

Tabla 20. Regresión logística binaria. Muestra de qué variables depende principalmente la **mejoría** (nueva variable dicotómica para aglutinar curación parcial/ total).

Descriptivos

Duración del tratamiento con PRP (semanas)

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
					0	11		
No	8	10,13	4,454	1,575	6,40	13,85	6	18
Mieloma	12	8,33	2,807	,810	6,55	10,12	6	14
Total	31	11,90	8,681	1,559	8,72	15,09	4	40

ANOVA

Duración del tratamiento con PRP (semanas)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	474,259	2	237,129	3,717	,037
Dentro de grupos	1786,451	28	63,802		
Total	2260,710	30			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Duración del tratamiento con PRP (semanas)

Bonferroni

(I) Diagnóstico Hematológico	(J) Diagnóstico Hematológico	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
0	No	6,966	3,712	,213	-2,49	16,42
	Mieloma	8,758*	3,334	,041	,27	17,25
No	0	-6,966	3,712	,213	-16,42	2,49
	Mieloma	1,792	3,646	1,000	-7,49	11,08
Mieloma	0	-8,758*	3,334	,041	-17,25	-,27
	No	-1,792	3,646	1,000	-11,08	7,49

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Tabla 21. ANOVA para la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Variable de selección: 'diagnóstico hematológico'. Sí hay diferencias entre grupos (p ,037).

Descriptivos

Duración del tratamiento con PRP (semanas)

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
No	11	7,36	2,335	,704	5,79	8,93	6	14
Cirugía	8	9,00	3,854	1,363	5,78	12,22	6	18
Cura local	12	18,00	11,127	3,212	10,93	25,07	4	40
Total	31	11,90	8,681	1,559	8,72	15,09	4	40

ANOVA

Duración del tratamiento con PRP (semanas)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	740,164	2	370,082	6,815	,004
Dentro de grupos	1520,545	28	54,305		
Total	2260,710	30			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Duración del tratamiento con PRP (semanas)

Bonferroni

(I) Tratamiento previo	(J) Tratamiento previo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
No	Cirugía	-1,636	3,424	1,000	-10,36	7,08
	Cura local	-10,636*	3,076	,005	-18,47	-2,80
Cirugía	No	1,636	3,424	1,000	-7,08	10,36
	Cura local	-9,000*	3,364	,037	-17,57	-,43
Cura local	No	10,636*	3,076	,005	2,80	18,47
	Cirugía	9,000*	3,364	,037	,43	17,57

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Tabla 22. ANOVA para la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Variable de selección: 'tratamiento previo'. Sí hay diferencias entre grupos (p ,004).

Descriptivos

Duración del tratamiento con PRP (semanas)

	N	Media	Desviación estándar	Error estándar	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
					No	10		
Hydrea	12	8,33	2,807	,810	6,55	10,12	6	14
Zomera	9	9,67	4,387	1,462	6,29	13,04	6	18
Total	31	11,90	8,681	1,559	8,72	15,09	4	40

ANOVA

Duración del tratamiento con PRP (semanas)

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	594,443	2	297,222	4,995	,014
Dentro de grupos	1666,267	28	59,510		
Total	2260,710	30			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Duración del tratamiento con PRP (semanas)

Bonferroni

(I) Tratamiento Local Previo	(J) Tratamiento Local Previo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
No	Hydrea	9,867*	3,303	,017	1,46	18,28
	Zomera	8,533	3,544	,069	-,49	17,56
Hydrea	No	-9,867*	3,303	,017	-18,28	-1,46
	Zomera	-1,333	3,402	1,000	-10,00	7,33
Zomera	No	-8,533	3,544	,069	-17,56	,49
	Hydrea	1,333	3,402	1,000	-7,33	10,00

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Tabla 23. ANOVA para la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Variable de selección: 'tratamiento local previo'. Sí hay diferencias entre grupos (**p ,014**).

Resumen del modelo^d

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado ajustado	Error estándar de la estimación	Durbin-Watson
1	,650 ^a	,423	,334	7,085	
2	,639 ^b	,408	,342	7,039	
3	,612 ^c	,374	,329	7,109	2,336

a. Predictores: (Constante), Tratamiento Local Previo, Edad, Diagnóstico Hematológico, Tratamiento previo

b. Predictores: (Constante), Edad, Diagnóstico Hematológico, Tratamiento previo

c. Predictores: (Constante), Diagnóstico Hematológico, Tratamiento previo

d. Variable dependiente: Duración del tratamiento con PRP (semanas)

ANOVA^a

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	955,662	4	238,916	4,760	,005 ^b
	Residuo	1305,047	26	50,194		
	Total	2260,710	30			
2	Regresión	922,775	3	307,592	6,207	,002 ^c
	Residuo	1337,935	27	49,553		
	Total	2260,710	30			
3	Regresión	845,695	2	422,848	8,367	,001 ^d
	Residuo	1415,014	28	50,536		
	Total	2260,710	30			

a. Variable dependiente: Duración del tratamiento con PRP (semanas)

b. Predictores: (Constante), Tratamiento Local Previo, Edad, Diagnóstico Hematológico, Tratamiento previo

c. Predictores: (Constante), Edad, Diagnóstico Hematológico, Tratamiento previo

d. Predictores: (Constante), Diagnóstico Hematológico, Tratamiento previo

Coefficientes^a

Modelo		Coefficients no estandarizados		Coefficients estandarizados	t	Sig.
		B	Error estándar	Beta		
1	(Constante)	-,177	9,385		-,019	,985
	Edad	,181	,135	,222	1,343	,191
	Diagnóstico Hematológico	-3,266	1,725	-,329	-1,893	,069
	Tratamiento previo	3,169	1,791	,319	1,770	,089
	Tratamiento Local Previo	-1,573	1,944	-,144	-,809	,426
2	(Constante)	-,643	9,308		-,069	,945
	Edad	,165	,132	,203	1,247	,223
	Diagnóstico Hematológico	-3,676	1,638	-,370	-2,244	,033
	Tratamiento previo	3,708	1,652	,374	2,245	,033
3	(Constante)	10,401	2,896		3,591	,001
	Diagnóstico Hematológico	-2,989	1,558	-,301	-1,918	,065
	Tratamiento previo	4,444	1,558	,448	2,852	,008

a. Variable dependiente: Duración del tratamiento con PRP (semanas)

Tabla 24. Regresión lineal. Muestra de qué variables depende principalmente la variable 'duración del tratamiento en semanas'.

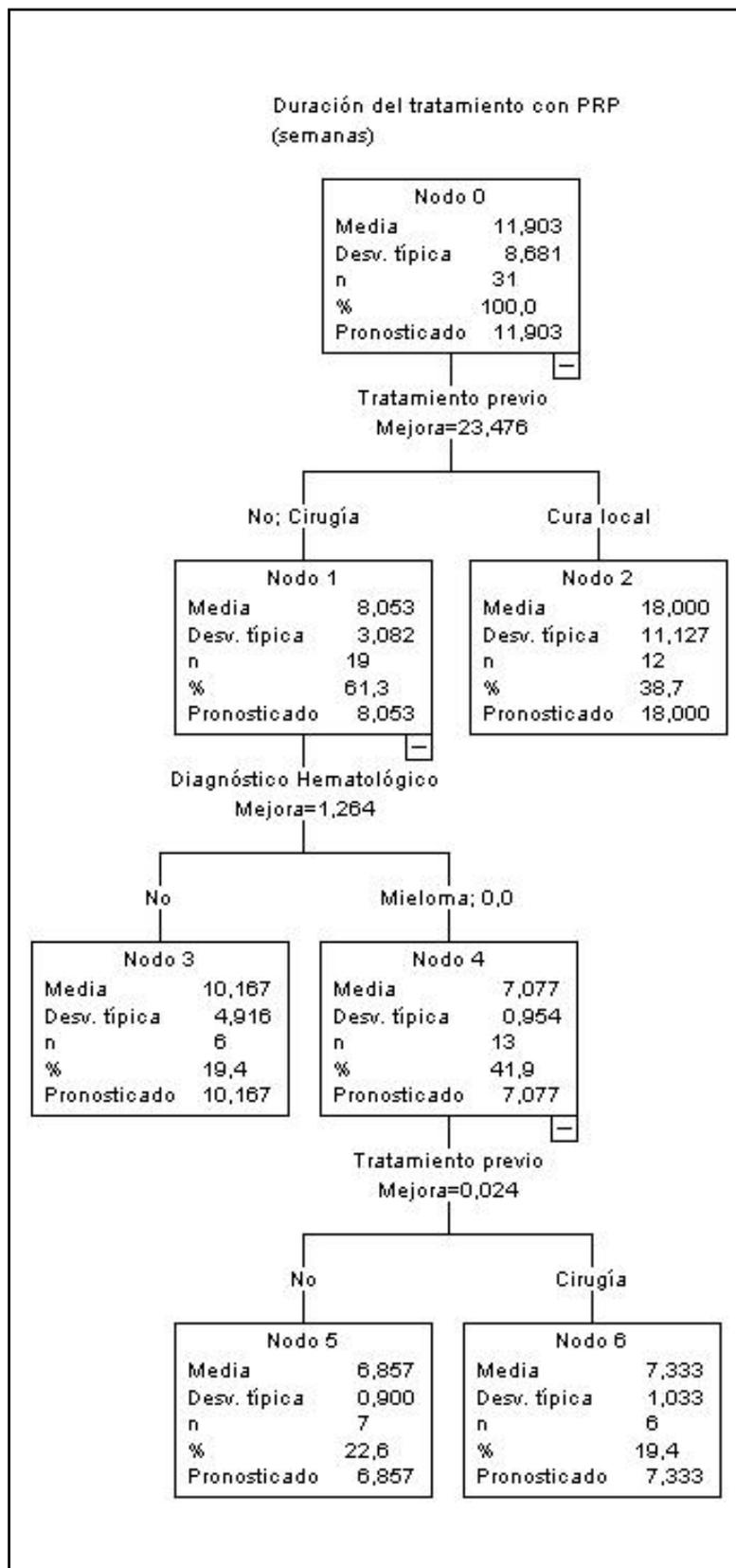


Figura 16. Árbol de decisión CRT o CHAID (N=31) que muestra de qué depende la variable 'duración del tratamiento en semanas'. Nótese: podría confirmarse que depende esencialmente de dos variables: 'tratamiento previo' y 'diagnóstico hematológico'.

Se necesitan futuras estudios de investigación con un tamaño muestral mayor, y con un grupo control propiamente dicho, para poder inferir resultados concluyentes a este respecto.

2º Análisis con la serie de casos de pacientes con úlceras vasculares (N=23)

1.- Análisis descriptivo de la muestra

Se dispone de 23 pacientes con úlceras crónicas (UC) de los cuales: 10 no tienen Dx hematológico y 12 suman entre SMPc asociado (PV y TE) y 1 es otro paciente con Linfoma no Hodgkin (LNH).

Las edades de los casos de esta serie están comprendidas entre los 53 y los 89 años con mediana en 77 años. La distribución (**fig. 17**) presenta asimetría negativa con más casos en edades avanzadas por encima de la media, que es de 75 años (75.3; IC al 95%: 70.9 – 79.7; desviación estándar: ± 10.1 años). La mayor concentración de casos se encuentra entre los 75-79 años (9; 39.1%).

La mayoría de estos pacientes son hombres (16; casi el 70%; **fig. 2**). La edad media de estos varones es notablemente menor a la edad media de las mujeres: prácticamente 10 años (72.8 vs 81.6) (**fig.18**), diferencia que a pesar de los reducido del N alcanza significación estadística, con $p < .05$ (Mann-Whitney: $Z_u = 2.20$; $p\text{-valor} = .028$).

Figura 17. Histograma. Composición de la muestra según EDAD. (N=23 casos con UC).

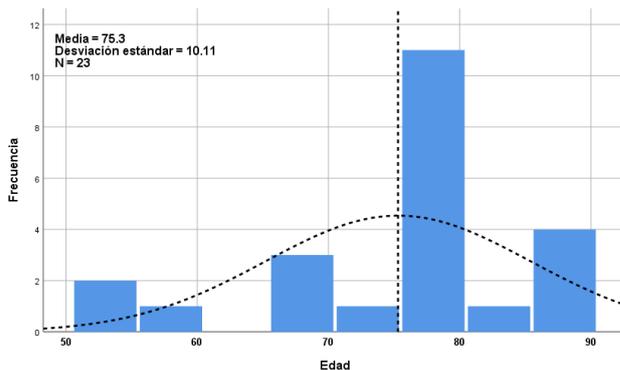
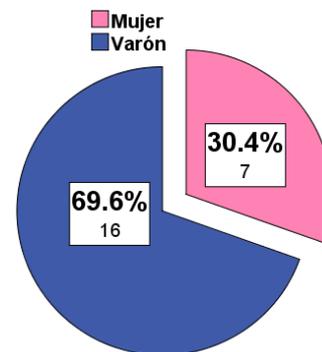


Figura 18. Diagrama de sectores. Composición de la muestra según GÉNERO. (N=23).

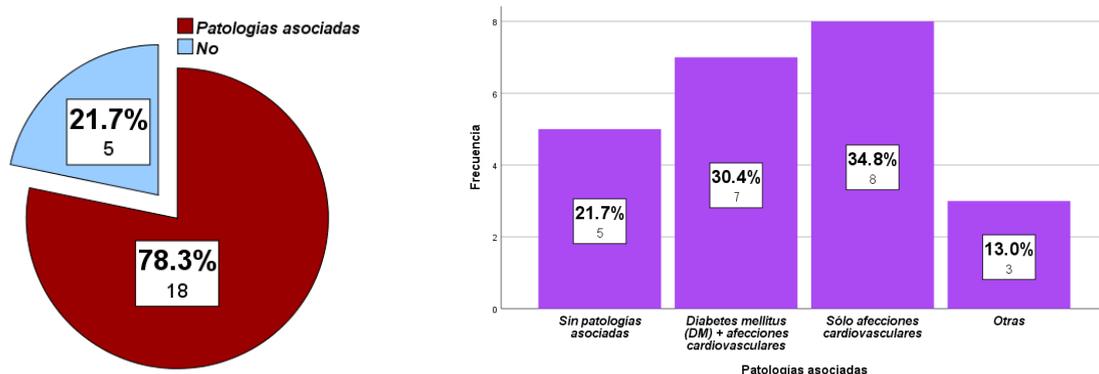


Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Al respecto de los antecedentes:

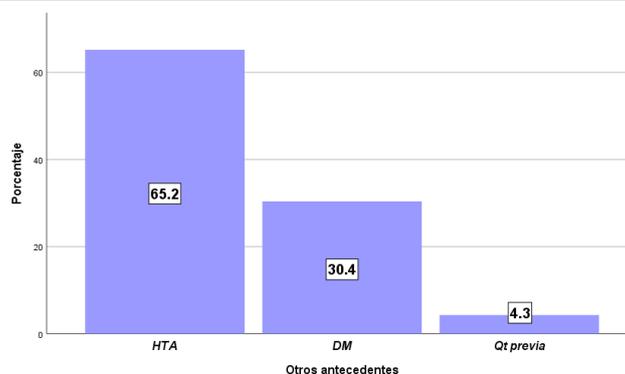
- Tiene patologías asociadas (**fig. 19**) el 78.3% de los casos de esta serie: siendo las afecciones cardiovasculares lo más habitual, bien ellas solas (34.8%) o bien en combinación con la DM (30.4%).
- Presenta HTA casi los 2/3 de esta muestra (**fig. 20**): 65.2%.
- En concordancia con la indicado ya arriba, hay 7 pacientes (un 30.4%) con DM.
- Aunque todos los pacientes con PV y TE recibieron quimioterapia (QT previa), además del paciente del Linfoma (8 pacientes 13 casos), en la figura 20 se muestra al paciente con LNH que la había recibido (4.3%).
- Tuvo 'tratamiento con lesión a tratar', algo más de la mitad de la serie: un 52.2% con Hydrea® y solamente 1 caso (4.3%) con Zometa®.

Figura 19. Diagrama de barras. Patologías asociadas. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Figura 20. Diagrama de barras. Otros antecedentes. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

* Se señala que, aunque todos los pacientes recibieron 'QT previa', aparece destacado, para diferenciarlo del resto que presentaron SMPc, el paciente que presentaba Linfoma.

La analítica de sangre reveló (**tabla 25**) que poco más de la mitad de la muestra tiene grupo 0 sanguíneo (56.5%) junto a la escasa presencia de caso del tipo B (2 casos). Por su parte, el tipo + es mucho más frecuente (82.6%). Por tanto, los tipos más frecuentes son: 0+ (10 casos; 43.5%) y el A+ (8 casos; 34.8%). Todos los casos tienen AEI negativo y serología negativa.

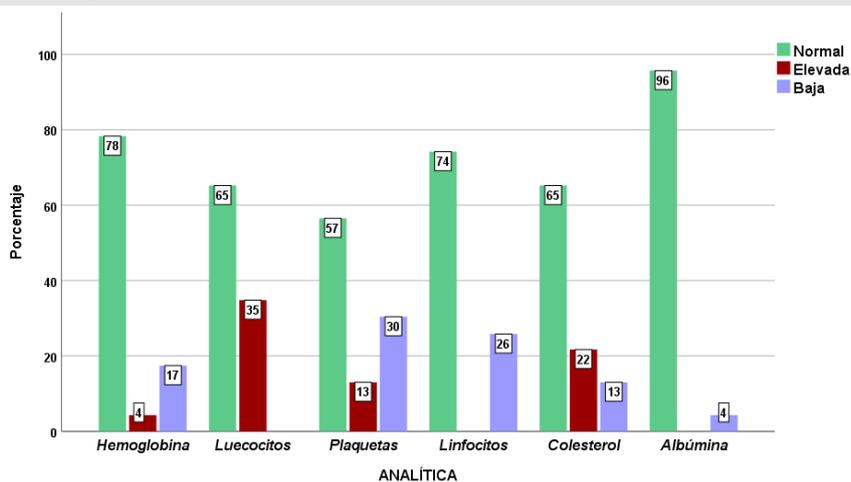
En cuanto a la analítica clínica (**fig. 21; también en tabla 25**):

- **Hemoglobina.** El rango de valores observados está entre 10.1 g/dL y 17.2 g/dL, con media de 13.90 g/dL. Un 78.3% de estos valores son normales. Entre los alterados, hay más casos con Hb baja (17.4%).
- **Leucocitos.** Se han encontrado dentro del rango: $4.4 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $16.2 \times 10^3/\mu\text{L}$ con media en $9.40 \times 10^3/\mu\text{L}$. Cerca de los 2/3 de la muestra, el 65.2%, tiene valores normales. Los alterados tienen todos valores elevados (34.8%).
- **Plaquetas.** El rango observado es de $120 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $848 \times 10^3/\mu\text{L}$ con media en $270 \times 10^3/\mu\text{L}$. Poco más de la mitad de la muestra tienen valores normales (56.5%). Entre los alterados son más frecuentes los casos con valores bajos (30.4%).
- **Linfocitos.** Con un rango entre $0.9 \times 10^3/\mu\text{L}$ y $2.9 \times 10^3/\mu\text{L}$, el valor medio es de $1.75 \times 10^3/\mu\text{L}$. Tienen valores normales, un 74.2% de la muestra. Todos los alterados presentan linfopenia.
- **Colesterol.** Los valores recogidos varían en el rango entre 108 mg/dL y 217 mg/dL con media en 156 mg/dL. Son valores normales los del 65.2% de la serie de pacientes. Entre los alterados, son algo más frecuentes los casos con el colesterol elevado (21.7% vs 13%)
- **Albúmina.** Siendo el rango observado: 3.3 g/dL – 4.8 g/dL, el valor medio es 4.12 g/dL. Casi toda la muestra (22 de 23) tienen valores normales.

Tabla 25. Análisis descriptivo. Resultados analíticos.

VARIABLES		Muestra (N=23 casos con UC)	
GRUPO SANGUÍNEO	O	56.5 % (13)	
	A	34.8 % (8)	
	B	8.7 % (2)	
RH	Positivo	82.6 % (19)	
	Negativo	17.4 % (4)	
AEI NEGATIVO		100 % (23)	
SEROLOGÍA NEGATIVA		100 % (23)	
HEMOGLOBINA	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	13.90 (1.19)	13.8 (10.1-17.2)
	Normal	78.3 % (18)	
	Elevada	4.3 % (1)	
	Baja	17.4 % (4)	
LEUCOCITOS	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	9.40 (4.14)	7.6 (4.4-16.2)
	Normal	65.2 % (15)	
	Elevados	34.8 % (8)	
PLAQUETAS	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	270 (200)	213 (120-848)
	Normal	56.5 % (13)	
	Elevadas	13.0 % (3)	
	Bajas	30.4 % (7)	
LINFOCITOS	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	1.75 (0.59)	1.7 (0.9-2.9)
	Normal	74.2 % (23)	73.9 % (17)
	Linfopenia	25.8 % (8)	26.1 % (6)
COLESTEROL	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	156 (37)	154 (108-217)
	Normal	65.2 % (15)	
	Elevado	21.7 % (5)	
	Bajo	13.0 % (3)	
ALBÚMINA	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	4.12 (0.37)	4.2 (3.3-4.8)
	Normal	95.7 % (22)	
	Baja	4.3 % (1)	

Figura 21. Diagrama de barras agrupadas. Analíticas. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Por otro lado, de los datos registrados relativos a la lesión se deriva que:

- La mayor parte de las lesiones (**fig. 22**) se sitúan en la pierna (65.2%). Y juntas a ellas, la casi todas las demás se ubican en una zona asociada también a las extremidades inferiores (30.4%). Aclaramos que aparece 1 paciente con la lesión en la arcada dental, que se corresponde con el paciente que presenta metástasis ósea secundario a carcinoma renal, aunque es más apropiado incluirlo en el análisis tercero, por tratarse de una ON.
- En cuanto al tamaño, el rango observado es de entre 0.5 y 8.0 cms con una media de 3.1 cms (**ver fig. 23**).
- Y al respecto del grado (**fig. 24**) se observa un 21.7% de lesiones severas/graves, más un 34.8% que son moderadas-graves; es decir que entre ambas suman un 56.5% de pacientes con lesiones de consideración. Del resto, solo un 8.7% de casos son leves.

Figura 22. Diagrama de barras. Localización de la lesión. (N=23 casos con UC).

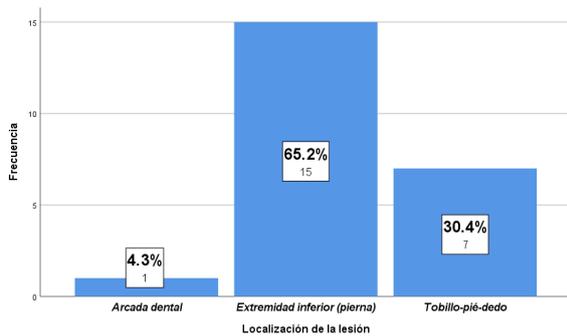
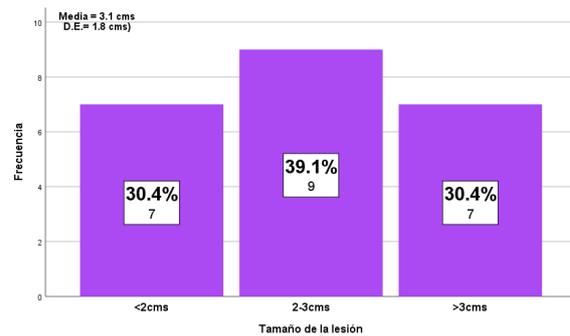
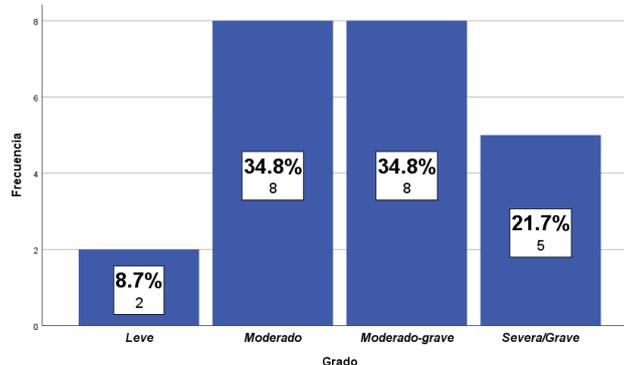


Figura 23. Diagrama de barras. Tamaño de la lesión. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Figura 24. Diagrama de barras. Grado de la lesión. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Un 30.4% de esta serie no ha recibido tratamientos previos. Entre los que sí lo hacen, lo más utilizado ha sido la cura local: 43.5% (fig. 25). El tiempo medio con tratamientos previos es de algo más de 3 meses, dentro de un rango de entre 1 y 10 meses; pero casi la mitad de la muestra, el 47.8%, fue tratado menos de 3 meses (fig. 26).

Figura 25. Diagrama de barras. Tratamientos previos. (N=23 casos con UC).

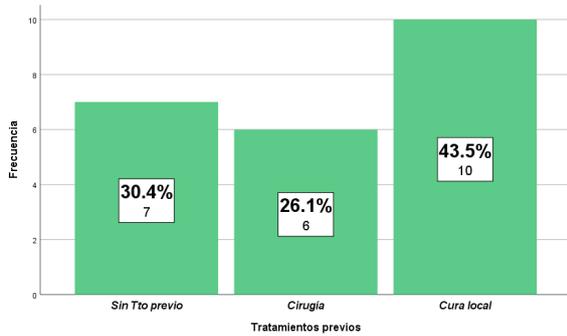
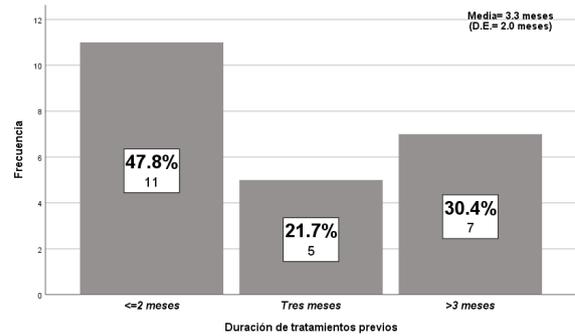


Figura 26. Diagrama de barras. Tiempo con Ttos. previos. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Finalmente, de los datos recogidos que valoran el tratamiento con PRP se extraen los siguientes resultados:

- Están en remisión total 8 pacientes (34.8%) y en remisión parcial 5 más (21.7%) (figs. 27 y 28); por lo que podemos valorar el éxito del tratamiento en un 56.5% de pacientes en estado de remisión de la lesión. Del resto, en un 34.8% (8 casos) aparecen infecciones.

Figura 27. Diagrama de barras. Situación actual. (N=23 casos con UC).

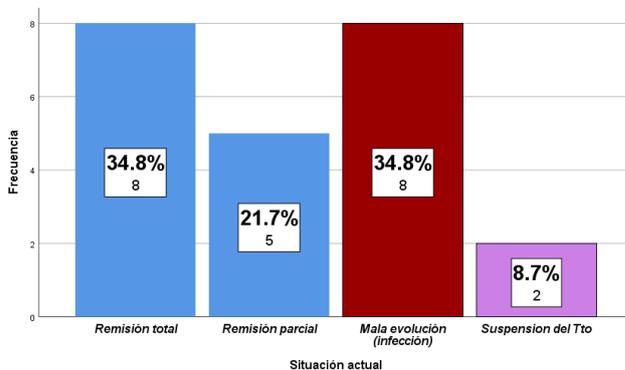
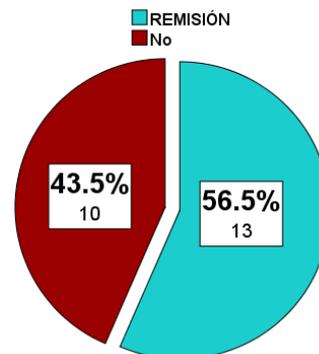


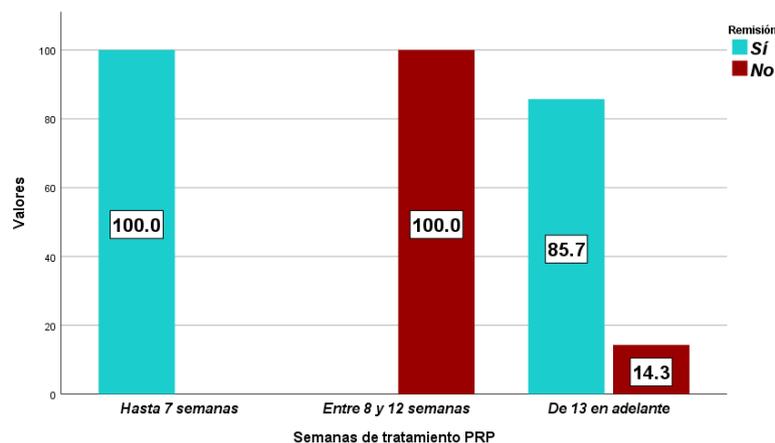
Figura 28. Diagrama de sectores. Remisión. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

- El tiempo que estos pacientes han estado recibiendo tratamiento con PRP varía en el rango entre 4 y 40 semanas, con una media de casi 13 semanas (**fig. 29**).
- Se observó que todos los pacientes tratados durante un máximo de 7 semanas, presentaban remisión (100%; 7 casos), mientras que todos los que estuvieron tratados durante un plazo de 8 y 12 semanas no llegaron a la remisión (0%; 9 casos), para volver a aparecer remisiones cuando se alarga el tratamiento por encima de las 13 semanas (6 de 7; el 85.7%). Esta relación se ha testado mediante Chi-cuadrado, encontrando una muy alta significación con $p < .001$ ($\chi^2 = 19.51$; $p\text{-valor} = .00006$). El coeficiente de correlación es muy elevado (Cramer = .921) que nos indica que el tamaño del efecto del tiempo de tratamiento con PRP sobre la remisión es muy elevado (84.8%).

Figura 29. Diagrama de barras agrupadas. Remisión en función del tiempo de Tto. con PRP. (N=23 casos con UC).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

2.- Factores relacionados con la remisión

A continuación, se ha procedido a tratar de encontrar qué variables de las que se han recogido son factores explicativos/predictivos y están asociados a la remisión de las lesiones tratadas con PRP. En primer lugar, se ha realizado un estudio de los efectos univariantes de cada una de estos posibles factores. Se ha empleado el test de contraste adecuado a cada tipo de datos y se completa el análisis con el cálculo del tamaño del efecto que se ha expresado en forma del coeficiente R^2 (escala: 0-1) para que sean comparables los resultados de test distintos. Puesto que la serie de estudio consta de solo 31 pacientes, va a ser complicado alcanzar significaciones estadísticas salvo que los

efectos de los factores sobre la remisión sean muy fuertes. Por ello el valor de R² cobra mayor importancia y debemos de tener en cuenta aquellos indicios de posibles relaciones que vengán señalados por tamaños del efecto moderados de al menos un 6%.

2.1.- Análisis univariante

Para una mayor claridad expositiva de estos resultados, se han agrupado las variables en distintas tablas siguiendo el mismo criterio de la descriptiva anterior.

2.1.1.- Factores sociodemográficos

Se observa que la edad media de los casos donde se logra la remisión es prácticamente 10 años inferior (71.5 vs 80.3) que la edad media de los casos donde no se logró el éxito de tratamiento PRP. Esta amplia diferencia, aunque no llega a la significación ($p > .05$) por lo reducido del N, tiende hacia ella ($p < .10$) y equivale a un tamaño del efecto elevado (casi del 20%). Si se comparan las edades por décadas (**tabla 26**) se observa que en todos los pacientes con menos de 70 años se logra la remisión, pero también que tras un descenso del éxito en el grupo de entre 70-79 años, se incrementa la remisión al pasar de los 80 años. Se mantiene la casi significación ($p < .10$) y aumenta aun el tamaño del efecto (cercano ya al 25%).

En la comparación entre sexos (**tabla 26 de nuevo**) se observa que se ha logrado mayor remisión entre los varones (68.8% vs 28.6%), diferencia que es casi significativa ($p < .10$) y establece una relación equivalente a un efecto muy notable (casi del 14%).

Tabla 26. Análisis univariante. Factores sociodemográficos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

FACTOR	VD - Resultado del Tto PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²	
	REMISIÓN (n=13)	NO remisión (n=10)	Valor	P valor		
EDAD	Media (D.E.)	71.5 (11.6)	80.3 (4.7)	Z _U =1.85 †	.064	.196
	Mediana (Rango)	71 (53-86)	79 (77-89)			
intervalos				Chi ² =5.67 †	.059	.246
	50-69 años	100 % (5)	0.0 % (--)			
	70-79 años	36.4 % (4)	63.6 % (7)			
	89-89 años	57.1 % (4)	42.9 % (3)			
SEXO				Chi ² =3.20 †	.074	.139
	Varón	68.8 % (11)	31.3 % (5)			
	Mujer	28.6 % (2)	71.4 % (5)			

† = Casi significativo

2.1.2.- Antecedentes

En el cruce de la presencia/ausencia de patologías asociadas como un posible factor predictor de la remisión encontramos (**tabla 27**) que hay mayor remisión entre los pacientes que no tienen patologías previas (80% vs 50%) diferencia, que debido a lo reducido del N, no alcanza la significación estadística ($p > .05$). Junto a los casos que no tienen patologías previas, sorprende que hay alta remisión dentro del subgrupo que combina afecciones CV con DM (71.4%). Por otro lado, ni la HTA ni la DM aparecen como factores relacionados con la remisión, ya que en los resultados ni hay significación ni hay tamaño el efecto que lo indique.

En cuanto a la causa que lleva a la lesión a tratar como posible factor que se asocie a la remisión (**tabla 3**), se ha podido que en los pacientes tratados con Hydrea® hay una menor remisión que en los no tratados (41.7% vs 70%). También en el único paciente tratado con Zometa® sí que se logró la remisión, aunque este paciente, como hemos aclarado anteriormente, con la lesión en la arcada dental, se corresponde con el paciente que presenta metástasis ósea secundario a carcinoma renal, aunque es más apropiado incluirlo en el análisis tercero, ya que se trata de una ON. La escasez en los N impide que haya significación, pero el valor moderado del tamaño del efecto (11.2%) puede ser considerado como un indicio de relación que se explicaría por el efecto negativo de la Hydrea®.

Tabla 27. Análisis univariante. Factores de los antecedentes relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

FACTOR	VD - Resultado del Tto PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²
	REMISIÓN (n=13)	NO remisión (n=10)	Valor	P valor	
PATOLOGÍAS ASOCIADAS					
<i>Sin patologías asociadas</i>	80.0 % (4)	20.0 % (1)	Chi ² =5.79 ^{NS}	.122	.252
<i>DM + Afec.</i>	71.4 % (5)	28.6 % (2)			
<i>Cardiovasculares</i>	50.0 % (4)	50.0 % (4)			
<i>Solo afec. Cardiovasculares</i>	0.0 % (--)	100 % (3)			
<i>Otras</i>					
PATOLOGÍAS ASOCIADAS					
<i>No</i>	80.0 % (4)	20.0 % (1)	Chi ² =1.43 ^{NS}	.231	.062
<i>Sí</i>	50.0 % (9)	50.0 % (9)			
HIPERTENSIÓN ARTERIAL					
<i>Sí</i>	60.0 % (9)	40.0 % (6)	Chi ² =0.21 ^{NS}	.645	.009
<i>No</i>	50.0 % (4)	50.0 % (4)			
DIABETES MELITUS					
<i>Sí</i>	71.4 % (5)	28.6 % (2)	Chi ² =0.91 ^{NS}	.340	.040
<i>No</i>	50.0 % (8)	50.0 % (8)			
CAUSA QUE LLEVA A LA LESION					
<i>No causa</i>	70.0 % (7)	30.0 % (3)	Chi ² =2.59 ^{NS}	.274	.112
<i>Hydrea®</i>	41.7 % (5)	58.3 % (7)			
<i>Zometa®*</i>	100 % (1)	0.0 % (--)			

N.S. = NO significativo

* Se corresponde con el paciente que presenta metástasis ósea secundario a carcinoma renal, aunque es más apropiado incluirlo en el análisis tercero, ya que se trata de una ON.

2.1.3.- Factores analíticos

Los resultados de los cruces realizados para analizar los posibles efectos de los parámetros analíticos en la remisión de las lesiones tratadas con PRP se ha obtenido (tabla 28):

- En primer lugar, los datos parecen indicar que es más fácil lograr la remisión en pacientes con Rh+ (63.2% vs 25%) y aunque no se llega a la significación estadística ($p < .05$) el tamaño del efecto (moderado: 8.5%) es un indicio de esta posible relación. Al estudiar los grupos, también parece que tanto los casos A como los B, tienen mayor grado de remisión que los pacientes de tipo 0. A falta de significación estadística, el indicio lo encontramos en un tamaño del efecto moderado (cercano al 10%).
- No parece que los valores de la Hb estén relacionados con la remisión, siendo las medias similares ($p > .05$ y con efecto pequeño). Aunque los datos puedan apuntar a que los pacientes con valores alterados (tanto bajos como elevados) tienen mayor remisión, realmente son pocos casos para concederle fiabilidad a este resultado.

- Sí que aparece significación estadística ($p < .05$) en los valores de los leucocitos ($p < .05$) tanto en forma cuantitativa como categorizada. La remisión está relacionada con menores valores en este factor (7.85 vs 11.41). Que se corrobora porque hay mayor frecuencia de remisión entre los pacientes con valores normales que entre los que los tienen elevados (73.3% vs 25%).
- No se ha encontrado ni significación ni tamaño del efecto que asocie la analítica de las plaquetas con la remisión.
- Pero sí parece que exista alguna relación con los linfocitos. Los datos están indicando una casi significación ($p < .01$) al contrastar los valores medios (1.52 vs 2.07) con tamaño del efecto elevado (21.4%) y que está indicando que hay mayor remisión entre los pacientes con linfopenia (83.3% vs 47.1%) que en casos con linfocitos normales.
- Al contrastar la variable colesterol como cuantitativa ni aparece significación ni efecto alguno. Pero al analizarla en forma categorizada, sorprende encontrar una muy alta significación ($p < .01$) junto a un tamaño del efecto muy elevado (del 41%) que se produce porque la remisión es menos en los casos con colesterol normal que entre aquellos con valores alterados, sean altos o bajos (33.3% vs 100%).
- Finalmente, en la albúmina, no hay datos que puedan hacernos pensar que este parámetro sea un factor asociado a la remisión.

Tabla 28. Análisis univariante. Factores de los resultados analíticos relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

FACTOR	VD - Resultado del Tio PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²	
	REMISIÓN (n=13)	NO remisión (n=10)	Valor	P valor		
GRUPO SANGUÍNEO			Chi ² =2.22 ^{NS}	.329	.097	
	O	46.2 % (6)	53.8 % (7)			
	A	62.5 % (5)	37.5 % (3)			
	B	100 % (2)	0.0 % (--)			
RH			Chi ² =1.96 ^{NS}	.162	.085	
	Positivo	63.2 % (12)	36.8 % (7)			
	Negativo	25.0 % (1)	75.0 % (3)			
HEMOGLOBINA	Media (D.E.)	13.73 (1.55)	14.12 (0.40)	Z _U =1.56 ^{NS}	.118	.027
	Mediana (Rango)	13.6 (10.1-17.2)	14.2 (13.4-14.5)			
	Categorías			Chi ² =1.64 ^{NS}	.441	.071
	Normal	50.0 % (9)	50.0 % (9)			
	Elevada	100 % (1)	0.0 % (--)			
	Baja	75.0 % (3)	25.0 % (1)			
LEUCOCITOS	Media (D.E.)	7.85 (3.01)	11.41 (4.66)	Z _U =1.97 [*]	.049	.191
	Mediana (Rango)	7.2 (4.4-13.6)	14.1 (4.4-16.2)			
	Categorías			Chi ² =4.96 [*]	.026	.215
	Normal	73.3 % (11)	26.7 % (4)			
	Elevados	25.0 % (2)	75.0 % (6)			
PLAQUETAS	Media (D.E.)	280 (193)	258 (218)	Z _U =0.66 ^{NS}	.513	.003
	Mediana (Rango)	218 (147-848)	213 (120-848)			
	Categorías			Chi ² =0.79 ^{NS}	.673	.034
	Normal	61.5 % (8)	38.5 % (5)			
	Elevadas	66.7 % (2)	33.3 % (1)			
	Bajas	42.9 % (3)	57.1 % (4)			
LINFOCITOS	Media (D.E.)	1.52 (0.48)	2.07 (0.61)	Z _U =1.93 [†]	.053	.214
	Mediana (Rango)	1.6 (0.9-2.7)	1.7 (1.3-2.9)			
	Categorías			Chi ² =2.38 ^{NS}	.123	.103
	Normal	47.1 % (8)	52.9 % (9)			
	Linfopenia	83.3 % (5)	16.7 % (1)			
COLESTEROL	Media (D.E.)	160 (43)	151 (27)	Z _U =0.84 ^{NS}	.401	.016
	Mediana (Rango)	169 (110-217)	154 (108-188)			
	Categorías			Chi ² =9.44 ^{**}	.009	.410
	Normal	33.3 % (5)	66.7 % (10)			
	Elevado	100 % (5)	0.0 % (--)			
	Bajo	100 % (3)	0.0 % (--)			
ALBÚMINA	Media (D.E.)	4.13 (0.41)	4.12 (0.34)	Z _U =0.25 ^{NS}	.804	.000
	Mediana (Rango)	4.1 (3.6-4.8)	4.2 (3.3-4.6)			
	Categorías			Chi ² =1.36 ^{NS}	.244	.059
	Normal	59.1 % (13)	40.9 % (9)			
	Baja	0.0 % (--)	100 % (1)			

N.S. = NO significativo † = Casi significativo * = Significativo ** = Altamente significativo

2.1.4.- Factores relativos a la lesión

Y para terminar los análisis univariantes, se han estudiado las variables que se han recogido relativas a la propia lesión. Los resultados (**tabla 29**) nos indican que:

- No se puede analizar el efecto de la localización de la lesión puesto que el factor es prácticamente una constante, al estar 12 de las 13 lesiones ubicadas en la misma zona.
- Al respecto del tamaño, aunque no aparece significación estadística ($p > .05$) el tamaño del efecto parece ser un indicio de una posible relación. No obstante, la revisión de los datos parece indicar que remiten mejor tanto las lesiones que son más pequeñas como las que son más grandes en comparación con la intermedias. Lo que nos deja dudas al respecto de este cruce.
- Parece haber una relación del grado con la remisión. Se observa que los casos de grado leve o moderado remiten más (100% y 62.5%, respectivamente) que el resto (50% o menos). No existe significación, pero sí un tamaño del efecto moderado (10.2%).
- Así mismo en el cruce del factor tratamientos previos, no hay significación estadística ($p > .05$), pero el efecto (moderado: cerca del 9%) puede ser un indicio de relación. Los datos apuntan a que la remisión es menos frecuente en pacientes que antes tuvieron un tratamiento quirúrgico. Lo que no está relacionado con la remisión es el tiempo de duración de esos tratamientos previos.

Tabla 29. Análisis univariante. Factores relativos a la lesión relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP. (N=23 casos con UC).

FACTOR	VD - Resultado del Tto PRP		Test de Contraste		Tamaño del efecto: R ²
	REMISIÓN (n=13)	NO remisión (n=10)	Valor	P valor	
LOCALIZACIÓN LESIÓN			----	----	----
<i>Pierna+Tobillo+Pie+Dedos</i>	54.5% (12)	45.5 % (10)			
<i>Mandib.+Arcada D.</i>	100 % (1)	0.0 % (--)			
TAMAÑO (cms)			Z _u =0.34 _{NS}	.730	.088
<i>Media (D.E.)</i>	3.23 (2.00)	2.90 (1.68)			
<i>Mediana (Rango)</i>	3.00 (0.5-8.0)	2.50 (1.0-6.5)			
Categorías			Chi ² =3.24 _{NS}	.198	.141
<i><2 cms</i>	71.4 % (5)	28.6 % (2)			
<i>2-3 cms</i>	33.3 % (3)	66.7 % (6)			
<i>>3 cms</i>	71.4 % (2)	28.6 % (2)			
GRADO			Chi ² =2.35 _{NS}	.503	.102
<i>Leve</i>	100 % (2)	0.0 % (--)			
<i>Moderado</i>	62.5 % (5)	37.5 % (3)			
<i>Mod-grave</i>	50.0 % (4)	50.0 % (4)			
<i>Severo</i>	40.0 % (2)	60.0 % (3)			
Ttos. PREVIOS			Chi ² =1.99 _{NS}	.369	.087
<i>Sin Tto previo</i>	71.4 % (5)	28.6 % (2)			
<i>Cirugía</i>	33.3 % (2)	66.7 % (4)			
<i>Cura local</i>	60.0 % (6)	40.0 % (4)			
MESES Ttos. Prev.			Z _u =0.33 _{NS}	.974	.027
<i>Media (D.E.)</i>	3.54 (2.50)	2.90 (0.88)			
<i>Mediana (Rango)</i>	2.0 (1-10)	3.0 (2-4)			
Categorías			Chi ² =0.78 _{NS}	.676	.034
<i><=2 meses</i>	63.6 % (7)	36.4 % (4)			
<i>3 meses</i>	40.0 % (2)	60.0 % (3)			
<i>>3 meses</i>	57.1 % (4)	42.9 % (3)			

N.S. = NO significativo

2.2.- Análisis multivariante

En resumen, del análisis univariante se deriva la existencia de 2 factores que presentan una asociación significativa ($p < .05$) con la remisión: el colesterol (normal/alterado) los valores de leucocitos. Junto a ellos hay otras variables (4) no significativas, pero cuyo tamaño del efecto puede ser considerado como un indicio de relación con la remisión: edad, sexo, la ausencia de patologías asociadas y los valores de los linfocitos.

Pero en nuestro estudio es muy complicado construir un modelo multivariante debido a lo reducido del tamaño muestral (N=23). Normalmente se requiere que el N sea de unas 10 veces superior al número de factores explicativos/predictores que se van a incluir en el mismo: en el menor de los casos los 6 (2+4) antes citados; lo que evidentemente en nuestro caso no se cumple.

A pesar de esta situación se ha tratado de construir un modelo por la vía de la regresión logística múltiple, introduciendo todos los factores con tamaños del efecto de

al menos un 8-10% e ir quitando con el procedimiento de pasos hacia atrás por Wald aquellos que menos aportan, pero fue imposible llegar a un modelo final. Posteriormente se probó a emplear el método paso a paso hacia adelante, introduciendo una a una las dos variables significativas por orden de mayor a menor efecto en el estudio univariante; no obstante, de nuevo fue imposible construir un modelo multivariante ni tan siquiera con estos 2 factores. Y aun menos cuando se intenta incluir a los que están cercanos a la significación. En conclusión, no se dan las condiciones estadísticas suficientes para intentar llegar a un modelo multivariante que explique los factores que favorecen la remisión de la lesión en pacientes tratados con PRP.

3º Análisis con la serie de casos de pacientes con úlceras secundarias a ON (N=8)

1.- Análisis descriptivo de la muestra

Aunque en la muestra total se indica la existencia de 9 pacientes y 11 casos de sujetos con osteonecrosis, para este tercer análisis, se ha dispuesto de 8 pacientes con osteonecrosis (ON) secundaria a MM, y se ha prescindido del caso secundario a carcinoma renal. Por lo tanto, se aclara que siempre que en este tercer análisis nos refiramos a ON se asume que son pacientes con MM.

Las edades de los casos de esta serie están comprendidas entre los 52 y los 87 años con mediana en 83 años. En la distribución (**fig. 30**) se observa una clara asimetría con más frecuencia de casos en edades avanzadas, siendo la media de 77 años (77.2, con desviación estándar: ± 12.8 años). La mayor cantidad de pacientes (5; 62.5%) se encuentra entre los 80 y los 89 años. Un 75% de estos pacientes son hombres (**fig. 31**). La edad media de estos hombres es algo superior a la edad media de las mujeres (78.7 vs 73.0), diferencia que no tiene significación estadística: $p > .05$ (Mann-Whitney: $Z_U = 1.02$; $p\text{-valor} = .429$).

Figura 30. Histograma. Composición de la muestra según EDAD. (N=8 casos con ON).

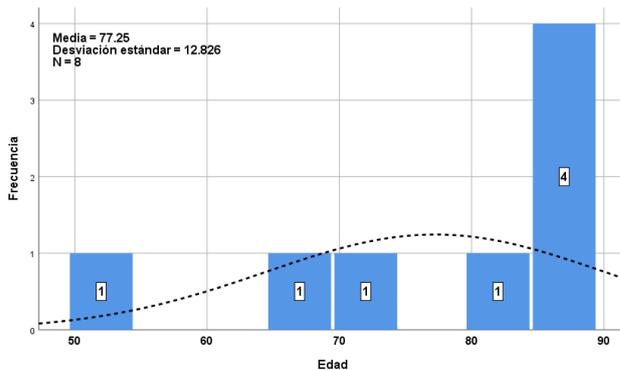
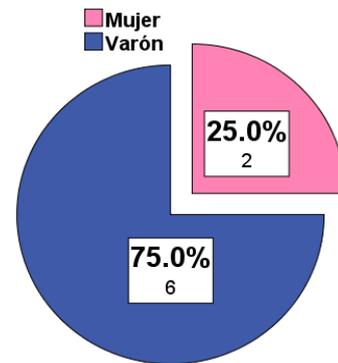


Figura 31. Diagrama de sectores. Composición de la muestra según GÉNERO. (N=8).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

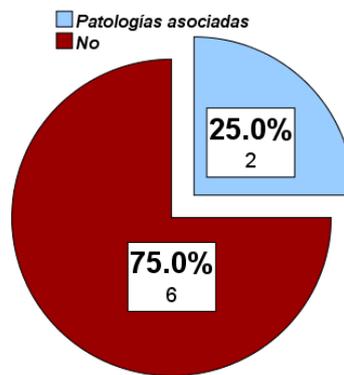
En cuanto a los antecedentes de estos 8 pacientes del grupo ON:

- Tiene patologías asociadas (**fig. 32**) solamente 2 casos: y están clasificadas como "otras", a saber: diabetes mellitus, afecciones cardiovasculares [hipertensión arterial (HTA), cardiopatía isquémica (CI), infarto agudo de miocardio (IAM), fibrilación auricular (FA), arritmia cardiaca por FA, ictus isquémico/accidente

cerebrovascular (ACV), estenosis fémoropoplitea, arteropatía distal, trombosis venosa profunda (TVP)]; y otras (prótesis de rodilla infectada, injertos cutáneos).

- Ningún caso tiene: HTA, DM, afecciones CV. 2 casos recibieron tratamiento para mieloma según el esquema VMP (Velcade®, Melfalan®, Prednisona); en otros 2 pacientes el tratamiento del mieloma fue según el protocolo Ciclofosfamida-Prednisona, 1 paciente solamente recibió Melfalan®- Prednisona y 2, los más jóvenes y candidatos a trasplante, recibieron tratamiento tipo VTD (Velcade®, Talidomida, Prednisona) y posteriormente trasplante autólogo de médula ósea con acondicionamiento con Melfalan®.

Figura 32. Diagrama de barras. Patologías asociadas. (N=8 casos con ON).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

- Todos ellos fueron tratados con Zometa®.

La analítica de sangre reveló (**tabla 30**) que la mitad de los casos son del grupo 0 y la otra mitad son del A; siendo el Rh+ más frecuente que el negativo (62.5% vs 37.5%). Según esto, el grupo más frecuentes entre estos 8 casos es el A+ (3 casos) seguido del 0+ y del 0- con 2 casos cada uno de ellos. El que queda, evidentemente es A-.

Por otro lado, la analítica clínica (**tabla 30; fig. 33**) nos aporta la siguiente información:

- **Hemoglobina.** El rango observado de valores es 9.5 g/dL – 14.5 g/dL, con media de 12.24 g/dL. Los pacientes de este grupo se reparten al 50% entre los que tienen la Hb

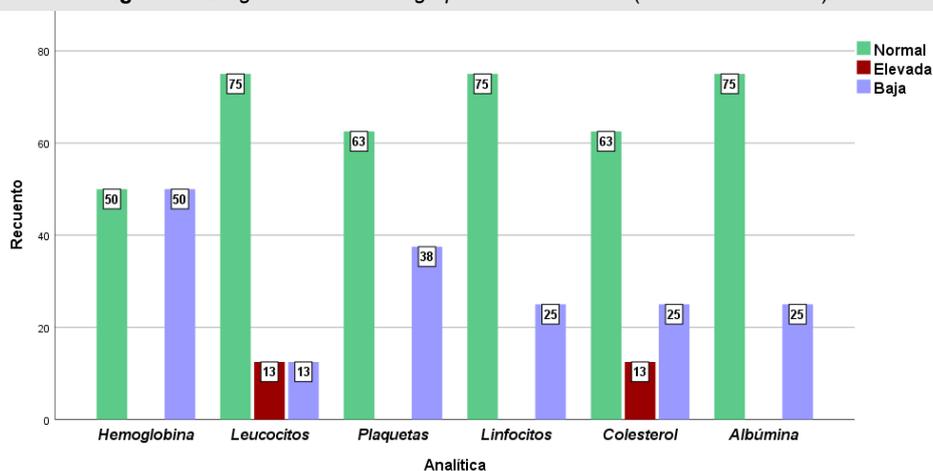
normal y los que tienen valores Hb bajos. La mayoría de los pacientes con mieloma tienen por definición anemia, lo que justifica esos valores bajos.

- **Leucocitos.** Se encuentran valores dentro del rango: $2.77 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $14.8 \times 10^3/\mu\text{L}$ con media en $7.01 \times 10^3/\mu\text{L}$. Un 75% de casos tiene valores normales. Los alterados se reparten: 1 caso con leucocitos altos y 1 caso con ellos bajos. El sujeto con leucocitos elevados es el paciente diagnosticado de tumor renal con metástasis óseas, lo que puede justificar la leucocitosis.
- **Plaquetas.** Siendo el rango observado: $98 \times 10^3/\mu\text{L}$ – $289 \times 10^3/\mu\text{L}$, la media es $181 \times 10^3/\mu\text{L}$. Un 62.5% del grupo tiene valores normales, en tanto que el resto los tiene bajos, alteraciones normales en pacientes con mieloma.
- **Linfocitos.** El rango varía entre $0.7 \times 10^3/\mu\text{L}$ y $3.3 \times 10^3/\mu\text{L}$, con media en $1.95 \times 10^3/\mu\text{L}$. Tienen valores normales el 75% de estos pacientes; el 25% restante presenta linfopenia.
- **Colesterol.** Se observan valores dentro del rango: 102 mg/dL y 203 mg/dL con media en 162 mg/dL. Tienen valores normales el 65.2% de esta serie. Entre los alterados: 1 marca colesterol elevado y 2 colesterol bajo.
- **Albúmina.** Con un rango observado entre 2.5 g/dL – 4.6 g/dL, la media es 3.86 g/dL. Un 75% de esta muestra tiene valores normales en este parámetro; el resto tiene valores bajos.

Tabla 30. Análisis descriptivo. Resultados analíticos.

VARIABLES		Muestra (N=8 casos con ON)	
GRUPO SANGUÍNEO	O	50.0 %	(4)
	A	50.0 %	(4)
RH	Positivo	62.5 %	(5)
	Negativo	37.5 %	(3)
HEMOGLOBINA	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	12.24 (1.75)	12.4 (9.5-14.5)
	Normal	50.0 %	(4)
	Baja	50.0 %	(4)
LEUCOCITOS	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	7.01 (3.51)	6.7 (2.7-14.8)
	Normal	75.0 %	(6)
	Elevados	12.5 %	(1)
	Bajos	12.5 %	(1)
PLAQUETAS	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	181 (55)	180 (98-289)
	Normal	62.5 %	(5)
	Bajas	37.5 %	(3)
LINFOCITOS	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	1.95 (0.94)	2.0 (0.7-3.3)
	Normal	75.0 %	(6)
	Linfopenia	25.0 %	(2)
COLESTEROL	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	162 (40)	175 (102-203)
	Normal	62.5 %	(5)
	Elevado	12.5 %	(1)
	Bajo	25.0 %	(2)
ALBÚMINA	Media (D.E.) / Mediana (Rango)	3.86 (0.78)	4.2 (2.5-4.6)
	Normal	75.0 %	(6)
	Baja	25.0 %	(2)

Figura 33. Diagrama de barras agrupadas. Analíticas. (N=8 casos con ON).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Al respecto de los datos recogidos acerca de la lesión:

- Todas las lesiones se ubican en dos zonas de la cara: la mitad en la mandíbula y la otra mitad en la arcada dental (**fig. 34**)
- El tamaño de estas lesiones varía dentro del rango entre 1 y 5 cms con una media de 2.25 cms; estando la mayoría en el intervalo de 2-cms (**fig. 35**).

- Por lo que respecta al grado de la lesión (**fig. 36**), se observa que un 25% (2) son leves junto a un 37.5% (3) que son solo moderadas. Del resto, un 12.5% (1) tiene un grado moderado-grave, y el 25% (2) restante alcanzan el grado severo.

Figura 5. Diagrama de barras. Localización de la lesión. (N=8 casos con ON).

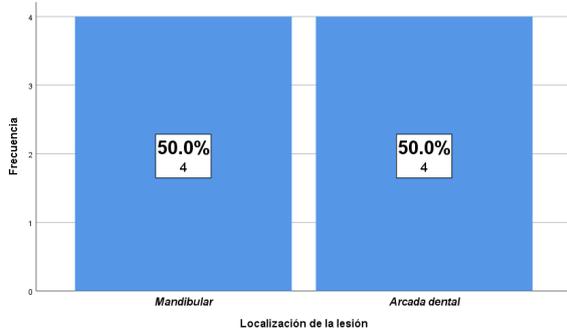
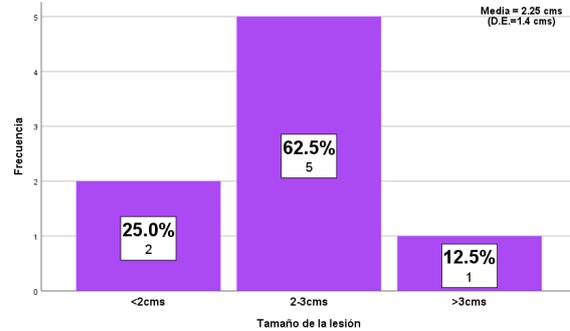
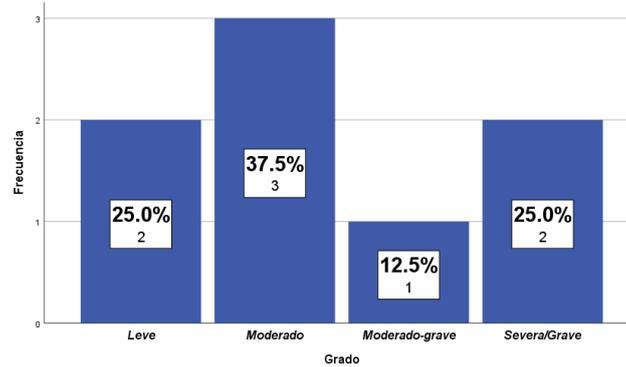


Figura 35. Diagrama de barras. Tamaño de la lesión. (N=8 casos con ON).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Figura 36. Diagrama de barras. Grado de la lesión. (N= N=8 casos con ON).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Un 50% de estos pacientes han recibido tratamientos previos (**fig. 37**): la mitad cura local (25%; 2) y la otra mitad cirugía (25%; 2). El tiempo medio de estos tratamientos previos es de menos de 3 meses (2.75) dentro de un rango de entre 1 y 5 meses; estando la mitad de los casos, con tiempos menos a 3 meses (**fig. 9**).

Figura 37. Diagrama de barras. Tratamientos previos.
(N=8 casos con ON).

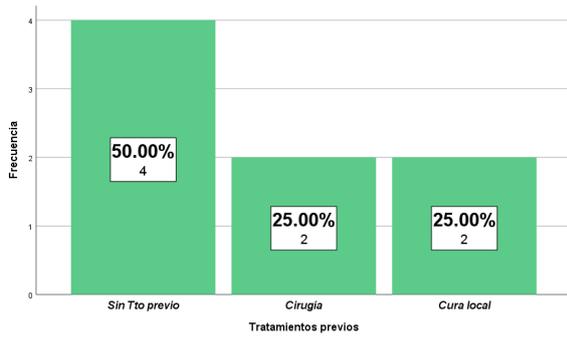
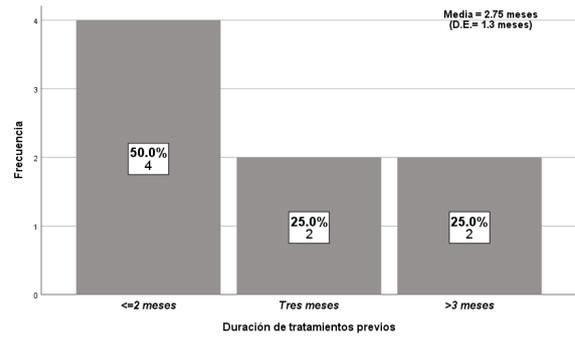


Figura 38. Diagrama de barras. Tiempo con Ttos. previos.
(N=8 casos con ON).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

Para terminar con la información registrada para valorar el tratamiento con PRP podemos decir que:

- Están en remisión total 5 de estos 8 pacientes (62.5%) y en remisión parcial otros 2 (25%); por lo que se puede considerar el éxito del Tto PRP en 7 de los 8 casos (87.5%) (figs. 39 y 40). Al caso restante se le suspendió el tratamiento.

Figura 39. Diagrama de barras. Situación actual. (N=8 casos con ON).

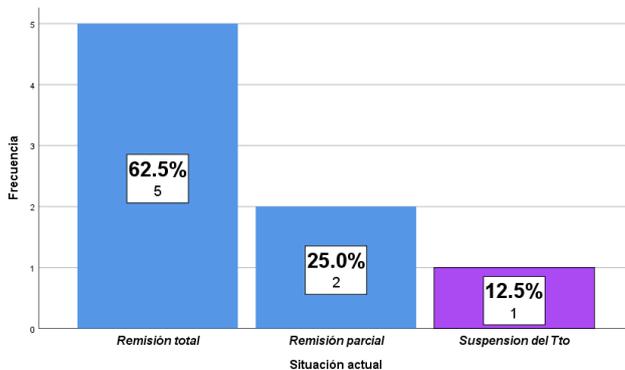
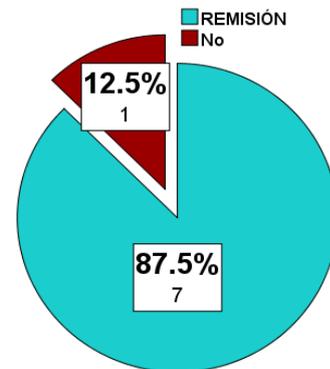


Figura 40. Diagrama de sectores. Remisión.
(N=8 casos con ON).



Elaboración propia mediante IBM SPSS Statistics 25

- Estos pacientes han estado recibiendo tratamiento con PRP durante un tiempo que varía entre 6 y 18 semanas, con una media de algo más de 9 semanas.
- Había 5 pacientes que fueron tratados durante un máximo de 7 semanas y todos ellos presentan remisión. El único caso que fue tratado por un tiempo entre 8 y 2 semanas no logra la remisión porque es el caso donde se suspende el Tto. En los

otros 2 pacientes restantes donde se alarga el tratamiento por encima de las 13 semanas también se consigue la remisión. Cruzando estas dos variables con el Test Chi-cuadrado, se encuentra una relación estadísticamente significativa con $p < .05$ ($\text{Chi}^2=8.00$; $p\text{-valor}=.018$). La intensidad de este coeficiente de correlación es máxima (Cramer=1) lo que confirma que la remisión está muy relacionada con el tiempo del tratamiento. (Ver resultados de los estudios anteriores).

DISCUSIÓN

1. Controversia según los tipos de PRP utilizados

Como se ha mencionado previamente en el apartado de introducción, se han establecido varios sistemas de clasificación para estandarizar el PRP, con el objetivo de facilitar mejor la interpretación de los estudios clínicos (Mautner et al., 2015; Xu et al., 2020). Dohan Ehrenfest et al. (2009), sugirieron que varios concentrados de plaquetas se pueden colocar en cuatro familias principales basadas en la separación de productos utilizando dos parámetros clave: contenido celular (principalmente leucocitos) y arquitectura de fibrina:

- (i) P - PRP,
- (ii) L - PRP,
- (iii) fibrina pura rica en plaquetas (P-PRF),
- (iv) fibrina rica en leucocitos y plaquetas (L - PRF) (Dohan Ehrenfest et al., 2009; 2014; Takami, 2018).

Esta clasificación define claramente las preparaciones basadas en la inclusión de leucocitos y la presencia de coágulos de fibrina, al tiempo que considera la facilidad y la relación entre costo y eficacia de cada sistema (Grambart et al., 2015). En 2012, DeLong et al., publicaron el sistema de clasificación "PAW" que recomendaba informar PRP en función de tres componentes:

- el número absoluto de plaquetas (P),
- la forma en que se produce la activación plaquetaria (A),
- la presencia o ausencia de glóbulos blancos (W).

Las plaquetas se clasificaron como P1 (\leq línea base [es decir, concentración en sangre completa]) a P4 ($> 1.2 \times 10^6$ plaquetas/ μ l), activación como exógena (X) o no, y glóbulos blancos y neutrófilos por encima o por debajo de la línea base. En general, los sistemas de clasificación permiten una categorización útil de los componentes importantes del PRP, lo que puede ayudar a dirigir los enfoques terapéuticos de los

médicos. Por lo tanto, tales clasificaciones deben ser cuidadosamente consideradas, para evitar sacar conclusiones incorrectas al comparar resultados entre estudios clínicos (Ornetti et al., 2016). En nuestro estudio se han utilizado PDGF.

2. Controversia según el procedimiento de obtención del PRP

Las plaquetas presentan la particularidad de poderse activar antes de la aplicación de PRP al tejido diana. Hasta el momento, no ha habido consenso con respecto a si las plaquetas deben activarse antes de su aplicación (Xu et al., 2020); tampoco existe consenso con respecto a la identidad del agonista activador (Kumaran et al., 2014). La trombina y el cloruro de calcio (CaCl_2), que son inductores de agregación, se utilizan con el objetivo de activar las plaquetas y estimular la desgranulación, desencadenando finalmente la liberación de factores de crecimiento (Anitua et al., 2011). En el estudio de Amable et al. (2013), la activación plaquetaria se indujo mediante la adición de 20 mM de CaCl_2 y trombina humana 25 UI/ml. Todas las muestras fueron incubadas a 37°C durante 1 hora, y a 4°C durante 16 h. Estos autores informaron que el producto plaquetario resultante demostró ser rico en factor de crecimiento derivado de plaquetas, factor de crecimiento endotelial y factor de crecimiento transformante, junto con interleucinas antiinflamatorias y proinflamatorias. Se informó que la descongelación de plaquetas congeladas como método mecánico activaba los factores de crecimiento de las plaquetas (Lacoste et al., 2003). Steller et al. (2019), compararon PRP no activado por Ca^{2+} , con PRP activado por Ca^{2+} , y el método de “descongelación de incubación congelado” sobre la liberación de factores de crecimiento, e investigaron los contenidos de VEGF, PDGF - BB y TGF - β 1. Concluyeron que el método de ‘descongelación congelada’ (o congelación-descongelación) es suficiente para liberar factores de crecimiento y no es necesaria la activación del calcio. Coincidiendo con estos autores, en nuestro estudio, no se activan las plaquetas mediante la agregación de cloruro de calcio o similar, sino que el simple procedimiento de congelación-descongelación es la que rompe la plaqueta y así se liberan los gránulos con el factor de crecimiento plaquetario, que es lo que producirá la *restauratio ad integrum*.

Además del paso de centrifugación y los métodos de activación, el volumen de sangre completa procesada y la distancia desde el eje del rotor centrífugo son otros

factores importantes involucrados en la variabilidad del PRP (López-Vidriero et al., 2010). En nuestro estudio, se procedió a alicuotar la aféresis de donante único isogrupo ABO en jeringas de 2.5 cc o 5cc y se congelaron a -80°C.

Pérez et al. (2014), utilizaron 3,5 ml de sangre para obtener una recuperación de plaquetas del 70-80% y una concentración de plaquetas cinco veces superior. Sin embargo, la recuperación de plaquetas se redujo para un mayor volumen de sangre (8,5 ml) procesado. Como las distancias entre la superficie de la sangre total y el rotor eran de 4,9 cm y 3,0 cm para los volúmenes procesados de 3,5 y 8,5 ml, respectivamente, la fuerza centrífuga media aplicada sobre los eritrocitos disminuyó con la distancia media más pequeña desde el rotor para el volumen mayor (8,5 mL), procesados a la misma velocidad angular. Para los sistemas comerciales de preparación de PRP que se aplican en campos clínicos, los dispositivos que incluyen Curasan, PCCS, Anitus, SmartPReP, GPS, PDGF - Endoret Kit y el sistema Symphony II están diseñados para producir alrededor de 6 ml de PRP de 36 a 60 ml de sangre entera (Weibrich et al., 2012; Liao et al., 2014; Kikuchi et al., 2019).

Según se ha informado, la concentración de plaquetas en el PRP recuperado oscila hasta $1900 \times 10^3/\mu\text{l}$. (Dhurat and Sukesh, 2014). Algunos protocolos están diseñados para concentrar plaquetas de 3 a 9 veces, produciendo así un producto final con concentraciones aún mayores de factores de crecimiento (Etulain, 2018). Las concentraciones de los componentes del PRP son de suma importancia, ya que el mecanismo de acción del PRP se basa principalmente en los factores de crecimiento y las citocinas presentes en los gránulos alfa de las plaquetas (Oudelaar et al., 2019). Sin embargo, ha habido algunas controversias con respecto a este tema porque las altas concentraciones de plaquetas en PRP se logran mediante una combinación de altas velocidades de centrifugación, bajas temperaturas y variaciones en los ciclos de centrifugación (De Pascale et al., 2015; Alsousou et al., 2013). Estas condiciones podrían inducir la activación prematura de las plaquetas durante la centrifugación, lo que afectaría las capacidades regenerativas del producto final derivado del PRP (Etulain, 2018). Por lo tanto, la investigación sobre las preparaciones de PRP debe centrarse en las concentraciones de los componentes de PRP, así como en las concentraciones óptimas

de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento para campos de aplicación específicos (Oudelaar et al., 2019).

Zheng et al. (2016), encontraron que sólo las concentraciones óptimas de PRP (<20%) producían los efectos más beneficiosos con respecto a estimular la proliferación celular, induciendo la síntesis de factores neurotróficos y aumentando significativamente la migración de las células de Schwann; además, tales efectos dependían de la dosis y los aumentos adicionales en la concentración de PRP produjeron efectos adversos. Giusti et al. (2009), determinaron que $1,5 \times 10^6$ plaquetas/ μL era la concentración óptima para la inducción de angiogénesis en células endoteliales, mientras que concentraciones más altas reducían el potencial angiogénico de las plaquetas con respecto a la angiogénesis folicular y perifolicular. Del mismo modo, Graziani et al. (2006), evaluaron el fundamento biológico para el uso de PRP mediante la evaluación de los efectos de varias concentraciones de PRP sobre la función de los osteoblastos y fibroblastos in vitro. Encontraron que el efecto máximo de la proliferación celular en osteoblastos y fibroblastos se logró a la concentración final del 16,5% (una concentración de plaquetas de 2,5 veces, en relación con la sangre total); concentraciones mayores redujeron la proliferación y tuvieron un efecto subóptimo sobre la función celular.

Como se ha podido comprobar, se han establecido numerosos protocolos para identificar las características óptimas de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento en una gran variedad de aplicaciones clínicas. Estos estudios demuestran que la técnica de preparación influye en gran medida en la concentración y viabilidad de las plaquetas. Tales variables afectan la concentración eventual de moléculas bioactivas liberadas de los gránulos de plaquetas; además, influyen en la eficacia clínica de las preparaciones de PRP individuales.

3. La problemática de la Hidroxiurea y el uso del PRP alogénico

En lo que respecta a los regímenes de tratamiento como el desbridamiento y el cuidado de heridas, requieren la interrupción de la HU. En pacientes para los que la interrupción de la HU no es adecuada, como aquellos que no pueden tolerar

tratamientos alternativos, no existe una cura eficaz para estas úlceras. Aquí, los investigadores describen a un paciente con CLEU asociados con la terapia ET y HU, que experimentó la curación completa de las úlceras después de cuatro rondas de terapia con plasma rico en plaquetas (PRP) alogénico.

Así, aunque nuestro grupo acumula experiencia desde enero del año 2012 en el manejo de PRP obtenido de donante (Vidán et al, 2013), con resultados prometedores, toda vez que hemos utilizado plaquetas alogénicas isogrupo ABO procedentes de donantes sanos, en el manejo de úlceras cutáneas y osteonecrosis mandibular secundarias, sólo lo comunicamos en reuniones científicas y está publicado en libros de actas (Vidán et al., 2013).

De hecho, el primer estudio publicado al respecto fue uno propósito de un caso (Zhao et al., 2019), en el que el diagnóstico clínico del paciente fue desconcertante. Le habían diagnosticado ET y estaba recibiendo tratamiento con HU. Los clínicos descartaron la hipertensión y la trombosis causadas por la ET como los principales contribuyentes a la formación de úlceras porque las úlceras anteriores del paciente se curaron después de la interrupción de la HU y se reformaron después de reiniciar la terapia con HU. Además, el índice de plaquetas y la PA del paciente estaban bien controlados durante la administración de HU, por lo que tampoco era probable que fueran la causa principal de las úlceras. Con base en estos hallazgos, el paciente fue finalmente diagnosticado con úlceras asociadas a HU, lo cual es consistente con la literatura. (Quattrone et al., 2013).

La hidroxurea puede inhibir las funciones de la ribonucleótido reductasa, que a su vez provoca una disminución en la producción de ADN celular e induce la muerte celular. Además de inhibir la síntesis de ADN, HU tiene importantes propiedades antiangiogénicas (Lopes et al., 2014). En muchos pacientes, las CLEU son una reacción adversa grave al tratamiento prolongado con HU a una dosis de al menos 1 g / día. Estas úlceras tienden a localizarse en la región maleolar y curan espontáneamente cuando se suspende la HU (Bader et al., 2000). Los métodos de tratamiento implican principalmente la suspensión de los fármacos, así como el desbridamiento estándar y el cuidado de las heridas. Sin embargo, cuando suspender la medicación no es una opción,

es posible que un simple desbridamiento y un apósito no curen estas úlceras, que pueden volverse cancerosas si persisten. (Lopes et al., 2014).

Según nuestro conocimiento, el estudio publicado por Zhao et al., 2019, es el **primer caso** reportado de aplicación exitosa de PRP alogénico de consanguinidad lineal en CLEU relacionadas con HU con un efecto favorable. Las úlceras vasculares a menudo se asocian con dolor, y los investigadores encontraron que, de acuerdo con estudios anteriores (Yotsu et al., 2015), la terapia PRP fue particularmente efectiva para el dolor de este paciente (Yotsu et al., 2015). Al promover una curación segura y natural, PRP ofrece una alternativa prometedora al estándar actual de atención. El PRP se deriva de la centrifugación en gradiente de densidad de sangre venosa periférica para obtener plasma rico en plaquetas. Contiene una variedad de factores de crecimiento, células madre mesenquimales, fibroblastos y leucocitos (Marx, 2001). Hay estudios han confirmado que puede promover la cicatrización de heridas, mejorar la angiogénesis, inhibir el crecimiento de ciertas bacterias y reducir el dolor posoperatorio (de Leon et al., 2011; Serra et al., 2013). Sin embargo, no existe un estándar uniforme para la preparación y calidad del PRP. A este respecto, se ha reportado la realización de un procedimiento modificado para la preparación de au-PRP (Li et al., 2015). Al contrario que en nuestro estudio, en el que no se activan las plaquetas mediante la agregación de cloruro de calcio o similar, sino que el simple procedimiento de congelación-descongelación es la que rompe la plaqueta y así se liberan los gránulos con el factor de crecimiento plaquetario.

El éxito de este caso (Zhao et al., 2019), puede atribuirse a algunos factores diferentes. Primero, el PRP contiene muchas moléculas bioactivas, como factores de crecimiento de fibroblastos, células madre mesenquimales y leucocitos que promueven la cicatrización de heridas y mejoran la angiogénesis y el alivio del dolor (Aggarwal et al., 2014). Además, el PRP alogénico ofrece todos los mismos factores funcionales que el PRP normal (Rebulla et al., 2016). En tercer lugar, la dermis artificial mejora las úlceras cutáneas que no cicatrizan, como las úlceras del pie diabético (Morimoto., et al. 2014).

Así, es sabido que el plasma rico en plaquetas (PRP) mejora la cicatrización de heridas refractarias y su aplicación está recibiendo más atención en el campo de la reparación de heridas. Sin embargo, cuando la condición de un paciente es muy mala,

puede ser difícil proporcionar sangre completa para recolectar PRP autólogo (Liao et al., 2020). Así, Liao et al., 2020, evaluaron la eficacia y seguridad del PRP alogénico en el campo de la reparación de heridas crónicas refractarias. Sesenta pacientes (39 hombres y 21 mujeres, 57 ± 10 años de edad) con heridas crónicas se inscribieron en este estudio prospectivo, aleatorizado y de un solo centro entre enero de 2014 y enero de 2018. Sus heridas fueron tratadas con atención estándar. Los pacientes con heridas crónicas refractarias se dividieron en tratamiento con PRP alogénico y grupos de control sobre la base de la presencia o ausencia de PRP alogénico en las heridas después del desbridamiento, respectivamente. El PRP alogénico se preparó recolectando sangre completa de individuos sanos y centrifugando en dos pasos. Sin embargo, en nuestro estudio, a diferencia de otros procedimientos, no se activan las plaquetas mediante la agregación de cloruro de calcio o similar, sino que el simple procedimiento de congelación-descongelación es la que rompe la plaqueta y así se liberan los gránulos con el factor de crecimiento plaquetario, que es lo que cura la úlcera al favorecer la granulación y reepitelización. En el estudio de Liao et al. (2020), los efectos clínicos se evaluaron observando visualmente las condiciones de la herida y evaluando objetivamente las superficies de la herida. Después de 30 días de tratamiento, el grupo tratado con PRP alogénico mostró una granulación de color rojo brillante que sangraba fácilmente con una exudación inflamatoria reducida. No se observaron reacciones de rechazo. La tasa de curación de heridas crónicas fue mucho más rápida en el grupo tratado con PRP alogénico que en el grupo de control. El estudio de Liao et al. (2020), muestra que el tratamiento combinado de heridas crónicas con atención estándar y PRP alogénico acorta significativamente el tiempo de curación, lo que sugiere que el PRP alogénico es un tratamiento adyuvante eficaz y seguro para las heridas crónicas.

4. Úlceras en extremidades inferiores. Tratamiento con al-PRP

Para superar las limitaciones clínicas del tratamiento con au-PRP, que han sido detalladas en el apartado de introducción, un reciente estudio de He et al., (2020), tuvo como objetivo explorar la viabilidad, eficacia y seguridad de al-PRP para su aplicación en el tratamiento de las UDD.

Los pacientes con DLEU tienen dificultades para cicatrizar debido a la pérdida de factores de crecimiento relacionados con la cicatrización de la herida y al desequilibrio inflamatorio en el lecho tópico de la herida (Xu et al., 2015; Zhang et al., 2018). Las nuevas terapias biológicas pueden regular y revertir el posible mecanismo de desequilibrio de la herida (Everts et al., 2006; Chen et al., 2018). Los factores de crecimiento y los péptidos antibacterianos liberados por au-PRP pueden aumentar los efectos antibacterianos y promover la reparación de heridas diabéticas, así como aliviar el dolor de las heridas (Miller et al., 2015; Deng et al., 2016; Fabbro et al., 2016; Piccin et al., 2017; Li et al., 2019). Una revisión sistemática y metaanálisis que incluyó a 431 participantes con úlceras diabéticas en ocho pruebas controladas aleatorias indicaron una proporción significativamente mayor de curación completa de la úlcera y áreas reducidas de úlceras bajo el tratamiento de au-PRP (Hu et al., 2019). Aunque la aplicación terapéutica de au-PRP en los últimos 20 años ha demostrado ser un tratamiento seguro y eficaz, la mayoría de los pacientes con heridas diabéticas son propensos a ser ancianos y tienen una diabetes de larga duración, desnutrición, infección, trombocitopenia, hipovolemia, anemia, problemas de la piel y disfunción inmunológica, además de tomar antiagregantes plaquetarios (Marques et al., 2015; Jones, 2016; Haughey et al., 2017). Tratar a pacientes con estas afecciones es difícil, especialmente cuando se usa au-PRP o injertos de piel. Según una revisión de la literatura anterior, el al-PRP se ha aplicado con éxito para la reparación de heridas en estudios con animales (Chung et al., 2015; Rajabi et al., 2015; Abouelnasr et al., 2017) y estudios clínicos en humanos (Smrke et al., 2007; Jeong et al., 2010; Scevola et al., 2010). En nuestra opinión, He et al. (2020), publicaron el primer estudio para verificar la viabilidad, eficacia y seguridad de al-PRP en el tratamiento de DLEU para reemplazar su contraparte autóloga.

En el estudio de He et al., (2020), al-PRP y au-PRP podrían enriquecerse mediante la separación de plaquetas autólogas y plaquetas alogénicas acumuladas. Lo más importante es que el al-PRP no mostró diferencias significativas en la concentración de plaquetas con au-PRP para alcanzar una concentración igualmente eficaz de aproximadamente seis veces por encima del nivel basal. Estudios anteriores indicaron que se lograría un resultado satisfactorio con una concentración adecuada de PRP

aproximadamente cinco veces por encima de la línea de base (Mazzucco et al., 2012; Rodriguez et al., 2014; Tambella, Attili, Dupré, et al., 2018).

A este respecto, un punto importante a tener en cuenta es que una mayor fuerza de centrifugación puede resultar en una mayor concentración de plaquetas; sin embargo, las fuerzas que son demasiado altas pueden inducir una activación temprana de las plaquetas, lo que resulta en la pérdida de factores de crecimiento y la eficacia terapéutica de PRP (Marques et al., 2015). Por otra parte, y como ya se ha mencionado, la diferencia con respecto a otros procedimientos es que en nuestro estudio no se activan las plaquetas mediante la agregación de cloruro de calcio o similar, sino que el simple procedimiento de congelación-descongelación es la que rompe la plaqueta y así se liberan los gránulos con el factor de crecimiento plaquetario, que es lo que favorece la granulación, reepiteliza la úlcera y acaba curándola.

Dado que el al-PRP se puede preparar bien y en una cantidad adecuada mediante centrifugación con plaquetas acumuladas, también existe la oportunidad de utilizar al-PRP para promover la cicatrización de heridas, incluso en pacientes diabéticos con malas condiciones físicas y mentales, debido a las dificultades de preparación de au-PRP e injertos de piel. En particular, la recolección repetitiva de sangre completa puede causar una carga adicional para la salud de los pacientes debido al daño de los glóbulos rojos y la pérdida de glóbulos blancos, lo que puede empeorar su enfermedad y retrasar la cicatrización de las heridas. Por lo tanto, el al-PRP de donantes bien caracterizados se ha considerado una solución lista para usar porque puede evitar recolectar grandes cantidades de sangre completa y puede utilizar por completo los valiosos recursos sanguíneos (Anitua et al., 2017). Además, debido a la gran variabilidad de problemas inducidos por diferentes protocolos, el au-PRP puede verse comprometido, lo que lleva a una eficacia clínica reducida (Anitua and Prado, 2019). En el estudio de Hen et al. (2020), al igual que en nuestro estudio, el al-PRP se preparó mediante un separador de componentes sanguíneos con sangre completa de un donante sano, almacenada en un banco de sangre. Por tanto, podría considerarse un producto terapéutico biológico utilizando un protocolo estándar de preparación. Los componentes sanguíneos restantes podrían utilizarse por completo en la clínica.

Los resultados de este estudio (Hen et al., 2020) sugirieron que tanto el au-PRP como el al-PRP podrían acelerar la cicatrización de la úlcera sobre la base del tratamiento convencional de heridas en el presente estudio. Sin embargo, no hubo diferencia significativa en el tiempo de curación entre los grupos au-PRP y al-PRP, lo que sugiere que al-PRP no fue superior a au-PRP. En este estudio (Hen et al., 2020), se excluyó la posible influencia sobre la eficacia inducida por la cantidad total de plaquetas porque los tiempos de tratamiento de PRP y la concentración promedio de plaquetas no fueron significativamente diferentes. Los resultados de Hen et al. (2020), con respecto al-PRP y au-PRP fueron consistentes con los de estudios previos sobre úlceras del pie diabético (Jeong et al., 2010; Asadi et al., 2014; Li et al., 2015). Un estudio comparativo que evaluó la eficacia y seguridad de las plaquetas de ABO y muestras de bancos de sangre emparejados con rhesus para las úlceras del pie diabético reveló una mejora significativa en la curación del grupo al-PRP a las 12 semanas (Jeong et al., 2010). En otro estudio de 10 pacientes con úlceras agresivas, potencialmente mortales y refractarias, un tratamiento combinado de al-PRP, pegamento de fibrina y matriz de colágeno también tuvo un resultado satisfactorio (Asadi et al., 2014). De manera similar, Li et al. (2015), llevaron a cabo un ensayo clínico aleatorizado de au-PRP para examinar la seguridad y eficacia, y la aplicación tópica de au-PRP facilitó la cicatrización de heridas de úlceras cutáneas refractarias crónicas diabéticas basadas en el tratamiento estándar (Li et al., 2015). En otro estudio, en comparación con los apósitos antisépticos locales, el au-PRP fue más eficaz en términos de tasa de curación y prevención de infecciones en úlceras diabéticas limpias (Ahmed et al., 2017). Este es el primer estudio que confirma que el al-PRP tiene una eficacia y seguridad equivalentes para acelerar la cicatrización de las heridas de las DLEU. Además, el presente estudio fue respaldado por un estudio básico de cultivo de cartílago, en el que los resultados sugirieron que el lisado de plaquetas liofilizado alogénico presentó efectos equivalentes en comparación con el lisado de plaquetas autólogo congelado (Camargo Garbin et al., 2019).

Tanto para el au-PRP como para el al-PRP, su función depende de la alta concentración de varios factores de crecimiento producidos por la desgranulación de plaquetas concentradas, incluido el factor de crecimiento de fibroblastos, el factor de crecimiento transformante, el factor de crecimiento similar a la insulina, el factor de

crecimiento endotelial vascular y las plaquetas. -factor de crecimiento derivado (Marques et al., 2015; Deng et al., 2016). Estos factores de crecimiento se liberan después de la activación por trombina o cloruro de calcio y juegan un papel importante en la reparación y regeneración de tejidos. Por otro lado, el PRP puede inhibir el crecimiento de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus faecalis* durante hasta 2 h de incubación a través del ligando 3 de quimiocinas [(motivo CC), ligando 5 de quimiocinas (motivo CC) y quimiocinas (CXC) motivo) ligando-1] (Mariani et al., 2014). Este es el motivo por el cual creemos que en dos de nuestros sujetos apareciera una infección, y la úlcera no se curara. El PRP activado por $CaCl_2$ mostró actividad antimicrobiana contra la infección por *S. Aureus* resistente a la metilina para mejorar la reepitelización de la cicatrización de heridas infectadas y la formación de tejido de granulación en perros (Farghali et al., 2019).

En términos de práctica clínica, el PRP proporciona un “agente antibacteriano biológico” para tratar las úlceras cutáneas diabéticas con infección severa o multirresistente (Drago et al., 2014; Deng et al., 2016; Sun et al., 2016; Zhang et al., 2019). Un estudio piloto anterior (Scevola et al., 2010) que comparó el uso de al-PRP con el enfoque actual de mejores prácticas de los protocolos de apósitos para heridas crónicas para las úlceras por presión informó que no hubo diferencias significativas en la reducción de volumen entre los dos grupos. Sin embargo, la tasa de proliferación del tejido de granulación en un grupo tratado con al-PRP fue significativamente más rápida que en el grupo de control durante las primeras 2 semanas de tratamiento, lo que sugiere que el tratamiento con al-PRP juega un papel importante en la proliferación del tejido de granulación en la primera etapa de iniciación (Scevola et al., 2010). Para la velocidad de curación del área por día, hubo una tendencia reducida pero no una diferencia significativa entre el tratamiento con al-PRP y au-PRP. Después de revisar cuidadosamente el tratamiento, dos pacientes se sometieron a un injerto de piel según la sugerencia del cirujano en el grupo au-PRP. Por lo tanto, los tiempos de curación de estos dos pacientes se acortaron, lo que resultó en un aumento en la tasa de curación (Scevola et al., 2010).

Actualmente, el al-PRP no se ha utilizado ampliamente en aplicaciones clínicas; el riesgo de reacciones inmunes y contaminación cruzada es el principal obstáculo. En el estudio de He et al. (2020), los pacientes tratados con al-PRP no mostraron inflamación local obvia, alergias u otras reacciones adversas, similar a los pacientes tratados con au-PRP. Especulamos las siguientes posibles razones. En primer lugar, se preparó al-PRP con ABO- y Rh emparejados mediante un concentrado de plaquetas del banco de sangre, que requirió un estricto proceso de esterilización y la exclusión de enfermedades infecciosas. En segundo lugar, el al-PRP se aplicó localmente a las úlceras de las extremidades inferiores, lo que puede ser la razón por la que no se observó una respuesta inmune, como una alergia cutánea. Se empleó un experimento animal para investigar la inmunogenicidad, lo que indica que no se desencadenó una respuesta inmune grave y crónica con una inyección intramuscular de al-PRP en conejos (Zhanget al., 2013). Finalmente, un posible mecanismo de "exención inmune" es el siguiente: el al-PRP, como un tipo de gel, puede degradarse y absorberse completamente en la herida tópica de modo que poco al-PRP ingrese al sistema circulatorio y evite la mayoría de los aloantígenos (antígenos leucocitarios humanos (HLA) y antígenos plaquetarios humanos (HPA)) (Tambella et al., 2014). La estructura y los niveles de expresión del antígeno de superficie plaquetario después de la activación pueden alterarse y pueden reducir la inmunogenicidad (Schaller et al., 2000).

5. Gel plaquetario alogénico o tratamiento con hidrogel en heridas crónicas

Respecto a la regeneración de heridas crónicas y la problemática de si utilizar gel plaquetario alogénico y/o tratamiento con hidrogel, debe discutirse diversos aspectos.

Así, la estrategia para promover la cicatrización de heridas es preparar PRP / gel de plaquetas y administrarlo en los sitios de intervenciones quirúrgicas, lesiones y heridas crónicas que no cicatrizan, entregando factores de crecimiento directamente al sitio de la herida (Piccin et al., 2017). Se cree que el mecanismo de acción es la inducción molecular y celular de respuestas normales de curación de heridas, similar a la desencadenada por la activación plaquetaria (Reese, 2010; Carter et al., 2011; Özgürtaş et al., 2016).

Además del dolor, las heridas crónicas en las extremidades inferiores también provocan una movilidad reducida del paciente y, como tal, afectan fuertemente la calidad de vida (Brtan Romić et al., 2015). Así, se ha utilizado gel de plaquetas para el tratamiento tópico de diferentes heridas crónicas (Semenič et al., 2018). Cuando se utilizaron plaquetas autólogas para las úlceras venosas crónicas de la pierna en un ensayo aleatorizado como terapia adyuvante, no se observó ningún efecto significativo sobre la cicatrización (Senet et al., 2003). De manera similar, no hubo influencia en la curación de la ulceración venosa crónica en otro estudio aleatorizado que utilizó la aplicación tópica de lisado plaquetario autólogo (Stacey et al., 2000). En una revisión sistemática sobre la eficacia y seguridad del PRP, los resultados no mostraron diferencias significativas en la epitelización completa de las úlceras cutáneas entre los grupos experimental y de control (Martínez-Zapata et al., 2009).

Se ha logrado más éxito en el tratamiento de las úlceras neuropáticas del pie diabético (Margolis et al., 2001), donde CT-102 APST (*activated platelet supernatant topical*; Curative Technologies®, Setauket, NY) aplicado tópicamente aceleró significativamente el cierre de heridas en las úlceras diabéticas de la pierna (Steed et al., 1992). Esto es de gran importancia porque los pacientes con diabetes mellitus tienen un mayor riesgo de desarrollar enfermedad arterial periférica. La diabetes en asociación con isquemia crítica de las extremidades se asocia de forma independiente con un mayor riesgo de mortalidad (Vrsalović et al., 2016). Sin embargo, en nuestro estudio no hemos encontrado relación entre la presencia de diabetes, hipertensión y recuento de linfocitos con la evolución clínica de las úlceras, lo que significa que no influyen sobre las variables "mejoría" o "duración del tratamiento".

Una revisión sistemática y un metaanálisis en heridas cutáneas agudas y crónicas de curación dura demostraron que la terapia con PRP mejoró la cicatrización completa y parcial de las heridas en comparación con el cuidado de heridas estándar (Carter et al., 2011; Cohn and Lockhart, 2015).

En el gel de plaquetas, las plaquetas autólogas se utilizan con mayor frecuencia. Sin embargo, el uso de plaquetas alogénicas tiene varias ventajas. Las unidades de plaquetas alogénicas del banco de sangre suelen estar disponibles en grandes

cantidades, son seguras, asequibles y altamente estandarizadas en términos de recuento de plaquetas, leucocitos residuales y contenido de glóbulos rojos. Además, las condiciones para su preparación están impuestas por estándares internacionales tanto en los EE.UU. como en Europa y en concreto España (las fuerzas centrífugas utilizadas para su aislamiento, la temperatura de centrifugación, las técnicas de separación y procesamiento y la composición de la solución conservante) (Brecher, 2005).

Dentro del gel de plaquetas, las plaquetas están ubicadas en la red de fibrina, donde excretan continuamente sustancias bioactivas y factores de crecimiento, que se difunden al área circundante (Rožman and Bolta, 2007). Para optimizar la activación y la estabilidad del gel, desarrollamos un nuevo método. Además de la activación de PRP comúnmente utilizada con trombina y calcio, también agregamos fibrinógeno (factor 1) y factor XIII. El primero se convirtió en fibrina por la trombina y el segundo fortaleció la reticulación de las moléculas de fibrina. También agregamos aprotinina, una molécula antifibrinolítica que inhibe las enzimas proteolíticas y por lo tanto ralentiza la fibrinólisis y aumenta la consistencia y estabilidad del gel plaquetario.

Las características de los productos de plaquetas para transfusión están bien especificadas, mientras que los requisitos mínimos para el PRP son menos claros (Dhurat et al., 2014). Aunque parece haber un consenso sobre el número mínimo de plaquetas en el producto final (Marx, 2004), hay mucha menos información sobre el número de otros tipos de células sanguíneas en el PRP que pueden tener un efecto sobre su eficacia. Los leucocitos contienen y producen citocinas que son catabólicamente activas y pueden influir en la fase inflamatoria del proceso de curación de heridas, pero también pueden tener un papel antimicrobiano importante en el PRP (Wasterlain et al., 2012). Así, en el estudio de Semenič et al. (2018) se quiso garantizar al menos una estandarización mínima de los PRP que utilizaron. Dado que las plaquetas de un solo donante son un producto estándar del banco de sangre, el contenido residual de glóbulos blancos y rojos está altamente estandarizado (Smrke et al., 2007). Por lo tanto, la cantidad máxima de glóbulos rojos y blancos en PRP se debe determinar según los estándares de las sociedades científicas internacionales (European Committee on Blood Transfusion, 2008).

Semenič et al. (2018) realizaron análisis de sangre de laboratorio (hemograma completo, electrolitos, urea, creatinina, albúminas, proteínas, hierro, proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, pruebas de función hepática, pruebas de hemostasia) para detectar posibles efectos sistémicos de plaquetas tratamiento de gel e hidrogel. Encontraron que los resultados fueron similares antes y después del tratamiento en todos los casos, lo que significa que el uso de hidrogel y gel de plaquetas alogénicas no tuvo efectos sistémicos.

Así, los resultados reportados por Semenič et al. (2018) sugieren que el nuevo método de activación de PRP que utiliza no solo una combinación de calcio y trombina, sino también aprotinina, fibrinógeno y factor de coagulación XIII, es más eficaz en el tratamiento de úlceras crónicas de diferentes etiologías. Estos autores (Semenič et al. 2018), actualizaron la fórmula de precursores y aumentaron la estabilidad del gel de plaquetas. Los modernos apósitos no adhesivos absorben la nueva fórmula más dura del gel de plaquetas menos que la forma líquida, por lo que permanece en la herida más tiempo en comparación con la consistencia líquida estándar. En consecuencia, sus efectos también duran más.

Por lo tanto, esta terapia es segura e indolora y se puede realizar un seguimiento del paciente en una clínica ambulatoria. El método mejorado podría ser una opción de tratamiento alternativa para las heridas crónicas que no cicatrizan cuando otros métodos han fallado.

Con la evidencia científica disponible actualmente, al igual que los resultados de nuestro estudio, podemos afirmar que el al-PRP en la cicatrización de heridas de diferente etiología, muestra resultados prometedores (Andia et al., 2012; Asadi et al., 2014; Biglari et al., 2015; Moghazy et al., 2015; Picard et al., 2015a; Picard et al., 2015b; Semenič et al., 2018; Zhao et al., 2019; Liao et al., 2020; He et al., 2020). Por lo que podría ser la opción *gold standard* de tratamiento.

6. Osteonecrosis mandibular secundaria al uso de Bifosfonatos

El principal desafío en el tratamiento de la osteonecrosis de la mandíbula relacionada con los bisfosfonatos (BRONJ) es la ausencia de un tratamiento establecido

eficaz. En la bibliografía revisada, las estrategias sobre cómo manejar el tratamiento de la BRONJ aún son objeto de un amplio debate, y queda por establecer un protocolo establecido con resultados predecibles. Considerando el fracaso del abordaje conservador, el abordaje quirúrgico ha sido ampliamente recomendado para el manejo de casos más avanzados; sin embargo, esto implica una mayor consideración del hueso y los síntomas asociados a las infecciones mayores (Etapas 2 y 3) provocadas por el riesgo de bacteriemia y sepsis en pacientes inmunodeprimidos, así como la reducción de la calidad de vida (Inchingolo et al., 2017; Valente et al., 2019).

Ante este escenario, se han utilizado una variedad de opciones de tratamiento quirúrgico para mejorar las tasas de resolución de los casos de BRONJ. Por ejemplo, Coviello et al. (2012), evaluaron los beneficios de cicatrización de heridas con plasma rico en plaquetas (PRP) en pacientes con mieloma múltiple (MM) que desarrollaron osteonecrosis de la mandíbula (ONM) después de la extracción quirúrgica del diente. El estudio incluyó a 7 pacientes, 2 hombres y 5 mujeres. Todas las personas habían estado recibiendo perfusión endovenosa de Zoledronato® o Pamidronato® seguido de Zoledronato® durante un promedio de 5 años. Cuatro sujetos solo tuvieron desbridamiento quirúrgico estándar y exéresis de los márgenes de la mucosa ulcerada y del borde óseo hasta encontrar un hueso compacto cubierto por periostio (*sequestrectomy*) para tratar la ONM y tres tuvieron PRP autólogo adicional. Los pacientes fueron seguidos durante 3 meses. Por tanto, el uso de PRP para mejorar la cicatrización de heridas y reducir la exposición ósea parecería ser un buen protocolo de tratamiento en sujetos con MM con ONM.

De estas terapias, el tratamiento en modelos animales mediante resección ósea combinado con el uso de factores de crecimiento ha arrojado resultados prometedores en la búsqueda de una cura satisfactoria para esta complicación (Barba-Recreo et al., 2015; Alonso-Rodríguez et al., 2019; Cardoso et al., 2019; Toro et al., 2019; Rodríguez-Lozano et al., 2020). El plasma rico en plaquetas (PRP) es una fuente autóloga de factores de crecimiento que se obtiene mediante centrifugación para producir concentraciones muy altas de plaquetas humanas que contienen diversos factores de crecimiento (factor de crecimiento derivado, factor de crecimiento transformante β , factor de crecimiento

epidérmico y factor de crecimiento endotelial vascular), que promueven la rápida curación de las heridas.

En este sentido, se ha demostrado que el Zolendronato® y Denosumav® son los medicamentos asociados con mayor frecuencia con el trastorno de la osteonecrosis de la mandíbula relacionada con la medicación (hasta un 60% de la muestra, según las series) (Valente et al., 2019), y la fibrina rica en leucocitos y plaquetas permitió la resolución del 78% de los casos, por lo que se puede sugerir que sí se ha mostrado eficaz; siendo, por tanto, un tratamiento esperanzador (Valente et al., 2019).

Aunque la ausencia de protocolos bien definidos para el tratamiento de BRONJ y la escasez de estudios experimentales detallados que utilicen terapia quirúrgica en combinación con PRP, impiden estandarizar tratamientos, numerosos estudios realizados en laboratorio (Barba-Recreo et al., 2015; Alonso-Rodríguez et al., 2019; Cardoso et al., 2019; Toro et al., 2019; Rodríguez-Lozano et al., 2020) demuestran que la aplicación local de au-PRP o al-PRP puede ser una terapia preventiva viable, que es segura y eficaz para restaurar la capacidad de reparación de tejidos, ya que las que recibieron tratamiento con PRP presentaron una mejor reparación ósea en comparación con los controles.

Cuestión distinta, y en amplia y abierta discusión al momento actual, es la procedencia de la muestra para la obtención del PRP.

En el estudio de Barba-Recreo et al. (2015) compararon diferentes tratamientos potencialmente preventivos para BRONJ después de extracciones dentales en animales tratados con ácido zoledrónico (ZA), y estudiaron la aplicación local de diferentes combinaciones de células madre derivadas de tejido adiposo (ASC) con o sin estimulación previa con proteína morfogenética ósea 2 (BMP-2) y plasma rico en plaquetas (PRP) en ratas. Sus resultados fueron muy prometedores, ya que los animales tratados con ASC mostraron una menor frecuencia de osteonecrosis (14% vs 50%, $p = 0,007$) y un mayor recambio óseo ($p = 0,024$) y recuento de osteoclastos ($p = 0,045$) que los que no recibieron el tratamiento con ASC. Por ello, según este modelo de alto riesgo, se puede sugerir que los tratamientos basados en ASC parecen prevenir el BRONJ de

manera más efectiva que el colgajo de mucosa con o sin PRP. Y de este modo, la combinación de ASC y PRP parece ser sinérgica, y la adición de BMP-2 podría mejorar aún más los resultados. Resultados similares obtienen otros autores (Alonso-Rodríguez et al., 2019), quienes reportan que la remodelación ósea posterior a la extracción inhibida previamente podría reactivarse, y que esos hallazgos parecían ser secundarios a la implantación de ASC.

En otro estudio (Rodríguez-Lozano et al., 2020) evaluaron los efectos del **trasplante alogénico de células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea (BM-MSC)** en un modelo de ratones Wistar con enfermedad inducida por MRONJ. Se caracterizaron y cultivaron BM-MSC de cinco ratas Wistar macho en gránulos de β -fosfato tricálcico (β -TCP). Se inyectaron intraperitonealmente 30 ratas Wistar hembra con ácido zoledrónico y posteriormente se extrajeron los molares superiores de la mandíbula. Los animales fueron aleatorizados para recibir: Grupo 1: 1 x 10⁶ BM-MSCs / β -TCP constructo en la cavidad alveolar; y Grupo 2: construcción de solución salina / β -TCP. Se realizó un análisis clínico e histológico. Se evaluó la reacción en cadena de la polimerasa anidada (PCR) para verificar la presencia de células de rata macho trasplantadas en las mandíbulas receptoras femeninas. Los hallazgos clínicos e histológicos evidenciaron que ninguno de los animales del Grupo 1 exhibió alveolos descubiertos o exposición ósea asociada a MRONJ, mientras que se detectaron el 33% de los casos de MRONJ en el Grupo 2. Además, se detectaron células de rata macho en el sitio del maxilar cuatro semanas después trasplante en el grupo de BM-MSC. Las BM-MSC alogénicas en los sitios de extracción mejoran la incidencia de MRONJ en ratas tratadas con ácido zoledrónico en comparación con los tratamientos sin MSC. En resumen, las BM-MSC alogénicas implantadas en los sitios de extracción mejoran la incidencia de MRONJ en ratas tratadas con ácido zoledrónico.

Vistos los diferentes enfoques de **terapia celular que utilizan células madre mesenquimales** (Rodríguez-Lozano et al., 2020), podrían ofrecer alternativas terapéuticas efectivas y seguras para prevenir el desarrollo de MRONJ en todos aquellos pacientes que deben ser tratados con medicamentos antirresortivos para afecciones como la osteoporosis u otras enfermedades óseas metabólicas / neoplásicas.

No obstante, aún se necesitan más estudios para confirmar la justificación de la terapia celular in vivo utilizando MSC para prevenir o tratar la enfermedad de MRONJ en pacientes humanos. Además, como muestra una revisión Cochrane, aún hay falta de evidencia de ensayos controlados aleatorios para guiar el tratamiento de BRONJ (Rollason et al., 2016).

Por otra parte, en otro estudio ya con humanos (Inchingolo et al., 2017) en el que se reclutaron veintitrés pacientes (15 mujeres y 8 hombres; de 52 a 73 años) con MRONJ. Estos pacientes presentaban antecedentes de medicación con bisfosfonatos de duración variable, presencia de hueso expuesto en la región maxilofacial durante más de ocho semanas y sin antecedentes de radioterapia en los maxilares. Fueron tratados mediante legrado quirúrgico y aplicación de fibrina rica en plaquetas (PRF). Sobre la base de sus hallazgos, se sugirió que la PRF puede actuar como una membrana barrera eficaz entre el hueso alveolar y la cavidad oral y puede ofrecer un método alternativo rápido, fácil y eficaz para el cierre de la exposición ósea en pacientes con MRONJ.

En este sentido, Steller et al. (2019), expusieron los fibroblastos y osteoblastos tratados con ácido zoledrónico (ZA) a PRP/PRF. Encontraron un aumento significativo en el cierre del área de raspado por osteoblastos tratados con PRP / PRF (PRP = 40.6%, PRF = 100.0%, NC = 0.0%) así como por fibroblastos (PRP = 100.0%, PRF = 100.0%, NC = 12,7%) en comparación con el grupo de control negativo (todos $p \leq 0,05$). Además, el efecto negativo de ZA sobre la migración celular se redujo generalmente en ambas líneas celulares usando PRP / PRF. La viabilidad y proliferación de las células disminuyó después de la exposición a ZA, mientras que observaron una mejora de la viabilidad celular dentro de las 24 horas mediante la aplicación de PRP / PRF en las células tratadas con ZA. El efecto negativo de ZA sobre la proliferación celular se redujo especialmente cuando se usó PRF. Por tanto, el uso de PRF / PRP mejora el comportamiento de las células tratadas con ZA, pero el PRF parece tener una ventaja en comparación con el PRP. Este estudio (Steller et al., 2019), demuestra que el tratamiento con PRF/PRP puede tener efectos positivos en la terapia de la osteonecrosis de la mandíbula relacionada con bisfosfonatos (BRONJ). Del mismo modo, en otro estudio (Szentpeteri et al., 2020), se obtuvieron resultados significativamente mejores en términos de recuperación y tasa de

recaída en pacientes sometidos a operaciones suplementadas con membrana PRF frente a los pacientes sometidos a tratamiento quirúrgico tradicional.

Por otra parte, en una reciente revisión (de Souza Tolentino et al., 2019), se investigó la eficacia de la oxigenoterapia hiperbárica (HBO), el láser de baja intensidad (LIL) y el PRP en el tratamiento de la MRONJ. Se demostró que hubo mejoría en el 75,6% de los 41 pacientes sometidos a HBO, con efectos positivos sobre el alivio del dolor y disminución del tamaño y número de lesiones a un ritmo más rápido, con mejores efectos cuando se suspendió el fármaco. Para LIL, 158 (64,2%) de los 246 pacientes/localizaciones lesiones (casos), mejoraron los síntomas y 98 (39,8%) se curaron por completo. Catorce (17,3%) de los 81 pacientes tratados con PRP mejoraron significativamente los síntomas y 65 (80,2%) se curaron por completo. Por lo tanto, estos tratamientos se han mostrado como modalidades adyuvantes seguras y efectivas para el tratamiento de MRONJ.

Como ya se ha señalado anteriormente, las lesiones asociadas con MRONJ son refractarias a diferentes enfoques de tratamiento. Por tanto, deben explorarse enfoques auxiliares capaces de mejorar los resultados de los pacientes. La **fibrina rica en leucocitos y plaquetas** (LPRF) es un concentrado de plaquetas de segunda generación (matriz de fibrina autóloga natural). Muestra actividad antiinfecciosa a través de la regulación inmune y acelera la angiogénesis y multiplicación de fibroblastos y osteoblastos (Giudice et al., 2020); en consecuencia, estimula la cicatrización de los tejidos blandos y evita la exposición del hueso alveolar en la cavidad bucal. En un estudio de Maluf et al. (2018), se describieron 2 casos de mujeres con cáncer de mama que estaban siendo tratadas con ácido zoledrónico y presentaban MRONJ avanzado. En el caso 1, MRONJ se desarrolló en el maxilar después de la extracción dental; en el caso 2, se asumió que MRONJ surgió espontáneamente en la mandíbula porque no se pudieron detectar otros factores de riesgo. Estos casos se trataron con resección quirúrgica

del hueso necrótico seguida de la colocación de una membrana LPRF. Se logró la cicatrización completa de la herida y la cobertura mucosa intacta. En el seguimiento clínico y tomográfico a los 2 años, no hubo lesiones bucales ni quejas. Por lo tanto, este también podría ser un enfoque alternativo, rápido y no invasivo para manejar la exposición ósea (Giudice et al., 2020). La membrana LPRF contribuye a un resultado exitoso (Maluf et al., 2018), y actúa como una barrera física contra los microorganismos, previniendo así infecciones secundarias.

Sin embargo, al momento de realizar nuestra investigación y de escribir este trabajo de tesis doctoral no hemos encontrado estudios en humanos que apliquen al-PRP obtenido de donante único, por lo que con toda humildad y lealtad consideramos que nuestro trabajo abre nuevo campo de investigación y puede contribuir notablemente al avance del conocimiento científico. Del mismo modo, nuestros hallazgos podrán mejorar la calidad de vida de los pacientes, por lo que los resultados de este trabajo tienen un alto componente traslacional.

7. Otras úlceras vasculares o cutáneas de evolución tórpida

Al respecto de la utilización de al-PRP en el tratamiento de otras úlceras vasculares o cutáneas de evolución tórpida, no hemos encontrado, al momento de escribir este trabajo de tesis doctoral, referencias en la bibliografía consultada. Sin embargo, en nuestro estudio aportamos el caso de un paciente con úlcera tórpida en una rodilla a la que recientemente se le había realizado una artroplastia total; la recomendación fue que había que retirarle la prótesis, limpiar, antibioterapia de amplio espectro, y sustituir por otra. Sin embargo, el paciente fue remitido a nuestra consulta y entró en el protocolo de nuestro estudio, mostrando finalmente una remisión (curación) total. Lo que nos induce a pensar que posiblemente la aplicación de al-PRP no se circunscriba sólo a lesiones secundarias a ONM o a UV, sino que probablemente pueda tener otras aplicaciones, lo cual abre el campo de estudio y nos anima a seguir investigando.

8. Fortalezas y limitaciones del estudio. Aplicación práctica

Visto lo cual, por tanto, podríamos afirmar que la preparación de al-PRP es simple y fácil, y los efectos terapéuticos y la seguridad son seguros. al-PRP es un nuevo tipo de terapia biológica recomendada para pacientes con las siguientes condiciones complicadas:

- (1) deficiencia o enfermedad de plaquetas,
- (2) anemia,
- (3) desnutrición o caquexia,
- (4) disfunción inmunológica severa,
- (5) no poseer accesos venosos adecuados,
- (6) hemorragia,
- (7) infección grave o sepsis,
- (8) quimioterapia,
- (9) uso prolongado de antiagregantes plaquetarios,
- (10) edema severo con dificultad para injertos de piel
- (11) retirada de la terapia biológica previa (células mesenquimales, etc.).

Sin embargo, existen algunas **limitaciones en nuestro estudio**.

En primer lugar, este fue un estudio piloto de prueba de principio con un número limitado de casos.

En segundo lugar, por razones éticas, el estudio no puede diseñarse como un ensayo clínico doble ciego, lo que podría reducir la intensidad de la argumentación de los datos.

Finalmente, se debe realizar un estudio controlado aleatorio a gran escala para determinar aún más los pros y los contras de al-PRP en el futuro.

Por otra parte, y coincidiendo con He te al., (2020), se podría concluir que el uso de al-PRP podría proporcionar una terapia biológica factible, eficaz y segura como una solución lista para usar para las DLEU según el presente estudio. Se necesita una investigación con un gran tamaño muestral para explorar más a fondo el valor final de al-PRP cuando el au-PRP es limitado.

Del mismo modo, debemos insistir en que en los últimos años, la calidad de vida ha ganado cada vez más atención en la medicina y los pacientes tratados con PRP se curan más rápido, volviendo a la vida normal y con calidad de vida.

Igualmente, este método es superior a otros debido a la mayor estabilidad del coágulo de plaquetas con prolongación del efecto deseado. En este sentido, la mayoría de los sujetos incluidos en nuestro estudio, se corresponden con pacientes diagnosticados de mieloma múltiple, que recibieron Zometa® que es un bifosfonato y esto les provocó osteonecrosis mandibular, que fue lo que tratamos con al-PRP, o bien pacientes con síndromes mieloproliferativos crónicos tipo policitemia vera o trombocitemia esencial, en los que el tratamiento con Hydrea® les provocó úlceras en miembros inferiores (piernas, tobillos, y pies y dedos); por ello, la utilización de al-PRP en la cicatrización de heridas de diferente etiología, podría ser la opción *gold standard* de tratamiento.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

PRIMERA

Como se ha podido comprobar, se han establecido numerosos protocolos para identificar las características óptimas de plaquetas, leucocitos y factores de crecimiento en una gran variedad de aplicaciones clínicas. Estos estudios demuestran que la técnica de preparación influye en gran medida en la concentración y viabilidad de las plaquetas. Tales variables afectan la concentración eventual de moléculas bioactivas liberadas de los gránulos de plaquetas; además, influyen en la eficacia clínica de las preparaciones de PRP individuales.

SEGUNDA

La ventaja de trabajar con plaquetas obtenidas por aféresis es que contienen entre 200 y 400 $\times 10^3/\mu\text{L}$ plaquetas en 200 a 300 mL de plasma de un solo donante, en comparación con las plaquetas de pool que proceden de diversas unidades de sangre total y que generalmente contiene entre 240 y 360 $\times 10^3/\mu\text{L}$ plaquetas suspendidas en 200 a 350 mL de plasma de varios donantes. Los índices de calidad apuntan a que estos preparados deben contener una cantidad de eritrocitos inferior a 3×10^6 y de leucocitos menor de $1 \times 10^3/\mu\text{L}$.

TERCERA

La diferencia con respecto a otros procedimientos es que en nuestro estudio no se activan las plaquetas mediante la agregación de cloruro de calcio o similar, sino que el simple procedimiento de congelación-descongelación es la que rompe la plaqueta y así se liberan los gránulos con el factor de crecimiento plaquetario.

CUARTA

La aplicación de las plaquetas alogénicas puede ser considerada, cuando los pacientes tienen alguna limitación o imposibilidad para la extracción de la sangre. Como

es el caso de nuestros pacientes con una edad media de 75 años. Por su modo de aplicación local no hay posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas ni de reacciones alérgicas y tienen menos posibilidad de presentarse.

QUINTA

En lo que respecta a los factores relativos a la lesión, relacionados con la remisión de las lesiones en pacientes tratados con PRP (N=31), es de destacar que con una alta significación estadística ($p<.001$) y un tamaño del efecto muy grande (más del 87%) se observa que hasta la semana 7 remiten todos los casos (12), de la 8 a la 12 no remite ninguno (10) y desde la 13 hacia adelante remiten todos menos 1 (9 de 10).

SEXTA

En lo referente a los sujetos del grupo “úlceras vasculares”, todos los pacientes tratados durante un máximo de 7 semanas, presentaron remisión (100%; 7 casos), mientras que todos los que estuvieron tratados durante un plazo de 8 y 2 semanas no llegaron a la remisión (100%; 9 casos), para volver a aparecer remisiones cuando se alarga el tratamiento por encima de las 13 semanas (6 de 7; el 85.7%). Esta relación se ha testado mediante Chi-cuadrado, encontrando una muy alta significación con $p<.001$ ($\text{Chi}^2=19.51$; $p\text{-valor}=.00006$). El coeficiente de correlación es muy elevado (Cramer=.921) que nos indica que el tamaño del efecto del tiempo de tratamiento con PRP sobre la remisión es muy elevado (84.8%).

SÉPTIMA

En lo que respecta al estudio con casos sólo con ON, se ha encontrado que cruzando las variables ‘tiempo de tratamiento’ y ‘remisión’, mediante el Test Chi-cuadrado, se encuentra una relación estadísticamente significativa con $p<.05$ ($\text{Chi}^2=8.00$; $p\text{-valor}=.018$). La intensidad de este coeficiente de correlación es máxima (Cramer=1) lo que confirma que la remisión está muy relacionada con el tiempo del tratamiento.

OCTAVA

Al revisar la situación actual de los pacientes, encontramos que está en remisión total un 41.9% que junto a otro 22.6% en remisión parcial, suma un 64.5% de éxitos (cerca de los 2/3) empleando el nuevo tratamiento con PRP, lo cual resulta muy relevante. Comparando entre grupos, vemos que la remisión, total o parcial, es bastante más superior entre los pacientes con ON (7 de 8; 87.5%) que entre los casos con UC (56.5%). Pero, lo reducido de los N, nos impide probar la significación estadística de esta diferencia.

NOVENA

En el presente trabajo observamos que, a pesar de ser un tratamiento diario, con una media de duración de más de dos meses y que en la mayoría de los casos fue administrado por un familiar, la adherencia terapéutica fue del 100%, dado que ningún paciente desistió e incluso 2 pacientes tuvieron que repetir el tratamiento por nueva aparición de lesiones.

DÉCIMA

Vistos los resultados clínicos, podríamos afirmar que la preparación de al-PRP es simple y fácil, y los efectos terapéuticos y la seguridad son seguros. Por tanto, el tratamiento en estas lesiones mediante al-PRP es un nuevo tipo de terapia biológica recomendada para pacientes con condiciones complicadas tales como úlceras cutáneas secundarias a hidroxurea, lesiones de osteonecrosis mandibular secundaria a bifosfonatos, y otras úlceras vasculares o cutáneas de evolución tórpida.

DECIMOPRIMERA

El uso de al-PRP podría proporcionar una terapia biológica factible, eficaz y segura como una solución lista para usar para las DLEU según el presente estudio. Se necesita una investigación con un gran tamaño muestral para explorar más a fondo el valor final de al-PRP cuando el au-PRP es limitado.

Finalmente, entendemos se debe realizar un estudio controlado, aleatorizado, a gran escala, para determinar aún más las ventajas, beneficios y establecer posibles riesgos del uso de al-PRP en el futuro.

BIBLIOGRAFÍA

REFERENCIAS

- Abouelnasr** K, Hamed M, Lashen S. Enhancement of abdominal wall defect repair using allogenic platelet-rich plasma with commercial polyester/cotton fabric (Damour) in a canine model. *J Vet Med Sci.* 2017;79 (7):1301–1309.
- Aggarwal** AK, Shashikanth VS, Marwaha N. Platelet-rich plasma prevents blood loss and pain and enhances early functional outcome after total knee arthroplasty: a prospective randomised controlled study. *Int Orthop.* 2014;38(2):387–395.
- Ahmed** M, Reffat SA, Hassan A, Eskander F. Platelet-rich plasma for the treatment of clean diabetic foot ulcers. *Ann Vasc Surg.* 2017;38:206–211. 10.1016/j.avsg.2016.04.023.
- Alio** JL, Rodriguez AE, Arriba D, Gisbert S, Abdelghany AA. Treatment with platelet-rich plasma of surgically related dormant corneal ulcers. *Eur J Ophthalmol.* 2018;28(5):515–520.
- Alissa** R, Esposito M, Horner K, Oliver R. The influence of platelet-rich plasma on the healing of extraction sockets: an explorative randomised clinical trial. *Eur J Oral Implantol.* 2010;3:121–134.
- Alonso-Rodríguez** E, González-Martín-Moro J, Cebrián-Carretero JL, Del Castillo JL, Pozo-Kreilinger JJ, Ruiz-Bravo E, García-Arranz M, Hernández-Godoy J, Burgueño M. Bisphosphonate-related osteonecrosis. Application of adipose-derived stem cells in an experimental murine model. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2019;24(4):e529-e536. doi: 10.4317/medoral.22959.
- Alsousou** J, Ali A, Willett K, Harrison P. The role of platelet-rich plasma in tissue regeneration. *Platelets.* 2013;24(3):173–182.
- Alsousou** J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery. A review of the literature. *J Bone Joint Surg Br* 2009;91-B(8):987-996.

- Amable** PR, Carias RB, Teixeira MV, et al Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013;4:67.
- Andia** I, Abate M. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates. *Regen Med.* 2013;8:645–658.
- Andia** I, Sanchez M, Maffulli N. Basic science: molecular and biological aspects of platelet-rich plasma therapies. *Oper Tech Orthop.* 2012;22(1):3–9. 10.1053/j.oto.2011.09.005.
- Anitua** E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004;91(1):4–15. 10.1160/TH03-07-0440.
- Anitua** E, Andía I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zaldueño M, de la Fuente M, Nurden P, Nurden AT. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005;23(2):281-286.
- Anitua** E, Pelacho B, Prado R, Aguirre JJ, Sánchez M, Padilla S, Aranguren XL, Abizanda G, Collantes M, Hernandez M, Perez-Ruiz A, Peñuelas I, Orive G, Prosper F. Infiltration of plasma rich in growth factors enhances in vivo angiogenesis and improves reperfusion and tissue remodeling after severe hind limb ischemia. *J Control Release.* 2015;202:31-39. doi: 10.1016/j.jconrel.2015.01.029.
- Anitua** E, Prado R, Orive G. Allogeneic platelet-rich plasma: at the dawn of an off-the-shelf therapy? *Trends Biotechnol.* 2017;35(2):91–93.
- Anitua** E, Prado R, Sánchez M, Orive G. Platelet-rich-plasma: Preparation and Formulation. *Oper Tech Orthop.* 2012;22(1):25-32.
- Anitua** E, Prado R. Addressing reproducibility in stem cell and PRP therapies. *Trends Biotechnol.* 2019;37(4):340–344.
- Anitua** E, Sanchez M, Nurden AT, Zaldueño M, de la Fuente M, Orive G, Azofra J, Andia I. Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res. A.* 2006;77(2):285-293.

Anitua E, Sánchez M, Orive G, Padilla S. A biological therapy to osteoarthritis treatment using platelet-rich plasma. *Expert Opin Biol Ther.* 2013;13(8):1161-1172. doi: 10.1517/14712598.2013.801450.

Anitua E, Sánchez M, Orive G. The importance of understanding what is platelet-rich growth factor (PRGF) and what is not. *J Shoulder Elbow Surg.* 2011;20(1):e23-4; author reply e24.

Anitua E, Sánchez M, Padilla S. More on platelet-rich plasma injections in acute muscle injury. *N Engl J Med.* 2014;371(13):1264. doi: 10.1056/NEJMc1409204#SA1.

Anitua E, Sánchez M, Zalduendo MM, de la Fuente M, Prado R, Orive G, Andía I. Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Prolif.* 2009;42(2):162-170.

Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999; 14:529-535.

Armstrong DG, Boulton AJM, Bus SA. Diabetic foot ulcers and their recurrence. *N Engl J Med.* 2017;376(24):2367–2375.

Arora S, Doda V, Kotwal U, Dogra M. Quantification of platelets and platelet derived growth factors from platelet-rich-plasma (PRP) prepared at different centrifugal force (g) and time. *Transfus Apher Sci.* 2016;54:103–110.

Asadi M, Alamdari DH, Rahimi HR, Aliakbarian M, Jangjoo A. Treatment of life-threatening wounds with a combination of allogenic platelet-rich plasma, fibrin glue and collagen matrix, and a literature review. *Exp Ther Med.* 2014;8(2):423–429.

B

Bader U, Banyai M, Böni R, Burg G, Hafner J. Leg ulcers in patients with myeloproliferative disorders: disease-or treatment-related? *Dermatology.* 2000;200(1):45–48.

Badiavas EV, Falanga V. Treatment of chronic wounds with bone marrow-derived cells. *Arch Dermatol.* 2003;139:510–516.

- Badran Z**, Abdallah MN, Torres J, Tamimi F. Platelet concentrates for bone regeneration: current evidence and future challenges. *Platelets*. 2018;29:105–112.
- Barba-Recreo P**, Del Castillo Pardo de Vera JL, Georgiev-Hristov T, Ruiz Bravo-Burguillos E, Abarrategi A, Burgueño M, García-Arranz M. Adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma for preventive treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in a murine model. *J Craniomaxillofac Surg*. 2015;43(7):1161-1168. doi: 10.1016/j.jcms.2015.04.026.
- Bausset O**, Giraud L, Veran J, et al Formulation and storage of platelet-rich plasma homemade product. *BioRes Open Access*. 2012;1:115–123.
- Beitia M**, Delgado D, Sánchez P, Vallejo de la Cueva A, Cugat, JR, Sánchez M. Platelet Lysate Nebulization Protocol for the Treatment of COVID-19 and Its Sequels: Proof of Concept and Scientific Rationale. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(4):1856. <https://doi.org/10.3390/ijms22041856>
- Bhujbal R**, Malik AN, Kumar N, Kv S, Parkar IM, Mb J. Comparative evaluation of platelet rich plasma in socket healing and bone regeneration after surgical removal of impacted mandibular third molars. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2018;12(3):153–158.
- Biglari B**, Reitzel T, Swing T, Búchler A, Gerner HJ, Schmidmaier M, et al. A pilot study on the effectiveness of platelet-rich plasma and debridement for the treatment of nonhealing fistulas in spinal cord-injured patients. *Adv Skin Wound Care*. 2015;28(3):123–128. 10.1097/01.ASW.0000459845.95441.1a.
- Blobe GC**, Schiemann WP, Lodish HF. Mechanism of disease: role of transforming growth factor (beta) in human disease. *N Engl J Med* 2000; 342(18):1350-1358.
- Borst S**, Sim X, Poncz M, French DL, Gadue P. Induced pluripotent stem cell-derived megakaryocytes and platelets for disease modeling and clinical use. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(11):2007–2013. 10.1161/ATVBAHA.117.309197.
- Brändstedt S**, Rank F, Olson PS. Wound-healing and formation of granulation tissue in normal and defibrinogenated rabbits – an experimental model and histological study. *Eur Surg Res*. 1980;12(1):12–21. 10.1159/000128105.

- Brecher** ME. Technical Manual, 15th edn. Bethesda, USA: American Association of Blood Banks, 2005; p. 196-7, <http://dx.doi.org/10.18203/2320-1770.ijrcog20160593>.
- Brod** M. Quality of life issues in patients with diabetes and lower extremity ulcers: patients and care givers. *Qual Life Res.* 1998;7:365–372.
- Brtan Romić** R, Brtan A, Romić I, Cvitanović H, Duvančić T, Lugović-Mihić L. Quality of life and perception of disease in patients with chronic leg ulcer. *Acta Clin Croat.* 2015;54(3):309–314.
- Burgos** AN, Lobato I, Hernández I, Sebastian KS, Rodríguez B, March AG, Perez Salvador A, Arce V, Garcia-Alvarez A, Gomez-Fernandez MC, Grandes G, et al. Autologous platelet-rich plasma in the treatment of venous leg ulcers in primary care: a randomised controlled, pilot study. *J Wound Care.* 2018;27(Sup 6):S20–S24.
- Camargo Garbin** L, McIlwraith CW, Frisbie DD. Evaluation of allogeneic freeze-dried platelet lysate in cartilage exposed to interleukin 1- β in vitro. *BMC Vet Res.* 2019;15(1):386.
- Carter** MJ, Fyelling CP, Parnell LK. Use of platelet rich plasma gel on wound healing: a systematic review and meta-analysis. *Eplasty.* 2011;11:e38.
- Chen** Y, Ma Y, Li N. Efficacy and long-term longitudinal follow-up of bone marrow mesenchymal cell transplantation therapy in a diabetic patient with recurrent lower limb bullosis diabeticorum. *Stem Cell Res Ther.* 2018;9(1):99.
- Chung** TH, Baek DS, Kim N, Park JH, Park C. Topical allogeneic platelet-rich plasma treatment for a massive cutaneous lesion induced by disseminated intravascular coagulation in a toy breed dog. *Ir Vet J.* 2015;68(1):4.
- Cohen** J. *Statistical Power Analysis for the Behavioral Sciences.* 2nd. edit., Hillsdale, N.J., Erlbaum. (1^a edición, 1977 New York: Academic Press) 1988.
- Cohn** CS, Lockhart E. Autologous platelet-rich plasma: evidence for clinical use. *Curr Opin Hematol.* 2015;22:527–532. [10.1097/MOH.000000000000183](https://doi.org/10.1097/MOH.000000000000183).

Croise B, Pare A, Joly A, Louisy A, Laure B, Goga D. Optimized centrifugation preparation of the platelet rich plasma: literature review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg.* 2019. 10.1016/j.jormas.2019.07.001.

Coviello V, Peluso F, Dehkhargani SZ, Verdugo F, Raffaelli L, Manicone PF, D' Addona A. Platelet-rich plasma improves wound healing in multiple myeloma bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw patients. *J Biol Regul Homeost Agents.* 2012;26(1):151-5.

D

de Leon JM, Driver VR, Fylling CP, 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):357–368.

De Lima J, Carmo KB. Practical pain management in the neonate. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol.* 2010;24:291–307.

De Pascale MR, Sommese L, Casamassimi A, Napoli C. Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. *Transfus Med Rev.* 2015;29(1):52–61. 10.1016/j.tmr.2014.11.001.

de Souza Tolentino E, de Castro TF, Michellon FC, Passoni ACC, Ortega LJA, Iwaki LCV, da Silva MC. Adjuvant therapies in the management of medication-related osteonecrosis of the jaws: Systematic review. *Head Neck.* 2019;41(12):4209-4228. doi: 10.1002/hed.25944.

Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, et al Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 1: periodontal and dentoalveolar surgery. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13:1207–1230.

Del Fabbro M, Bucchi C, Lolato A, Corbella S, Testori T, Taschieri S. Healing of postextraction sockets preserved with autologous platelet concentrates. a systematic review and meta-analysis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2017;75(8):1601–1615.

Delgado D, Bilbao AM, Beitia M, Garate A, Sánchez P, González-Burguera I, Isasti A, López De Jesús M, Zuazo-Ibarra J, Montilla A, Domercq M, Capetillo-Zarate E, García Del Caño G, Sallés J, Matute C, Sánchez M. Effects of Platelet-Rich Plasma on Cellular Populations of

the Central Nervous System: The Influence of Donor Age. *Int J Mol Sci.* **2021**;22(4):1725.
doi: 10.3390/ijms22041725.

DeLong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. *Arthroscopy.* 2012;28:998–1009.

Deng W, Boey J, Chen B, Byun S, Lew E, Liang Z, Armstrong DG. Platelet-rich plasma, bilayered acellular matrix grafting and negative pressure wound therapy in diabetic foot infection. *J Wound Care.* 2016;25(7):393–397.

Dhurat R, Sukesh MS. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *J Cutan Aesthet Surg.* 2014;7(4):189–197. 10.4103/0974-2077.150734.

Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (platelet-rich plasma-PRP, platelet-rich fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4:3–9.

Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009;27:158–167.

Dougherty EJ. An Evidence-Based Model Comparing the Cost-Effectiveness of Platelet-Rich Plasma Gel to Alternative Therapies for Patients with Nonhealing Diabetic Foot Ulcers. *Adv Skin Wound Care.* 2008;21(12):568-575.

Drago L, Bortolin M, Vassena C, Romanò CL, Taschieri S, Del Fabbro M. Plasma components and platelet activation are essential for the antimicrobial properties of autologous platelet-rich plasma: an in vitro study. *PLoS One.* 2014;9(9):e107813.

Duan C. Beyond carrier proteins. Specifying the cellular responses to IGF signal: roles of IGF-binding proteins. *J Endocrinol.* 2002; 175:41-54.

E

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):225-228.

Eren G, Gurkan A, Atmaca H, Donmez A, Atilla G. Effect of centrifugation time on growth factor and MMP release of an experimental platelet-rich fibrin-type product. *Platelets.* 2016;27:427–432.

Etulain J, Mena HA, Meiss RP, Frechtel G, Gutt S, Negrotto S, Schattner M. An optimised protocol for platelet-rich plasma preparation to improve its angiogenic and regenerative properties. *Sci Rep.* 2018;8(1):1513.

Etulain J. Platelets in wound healing and regenerative medicine. *Platelets.* 2018;29:556–568.

European Committee on Blood Transfusion. Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Transfusion, 14th edn. 2008; p. 149, http://dx.doi.org/101111_j1423_0410200700965x

Everts PA, Brown Mahoney C, Hoffmann JJ, Schönberger JP, Box HA, van Zundert A, et al. Platelet-rich plasma preparation using three devices: Implications for platelet activation and platelet growth factor release. *Growth Factors.* 2006;24(3):165-171.

Everts PA, Knappe JT, Weibrich G, Schönberger JP, Hoffmann J, Overdevest EP, et al. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *J Extra Corpor Technol.* 2006;38(2):174–187.

F

Fabbro MD, Bortolin M, Taschieri S, Ceci C, Weinstein RL. Antimicrobial properties of platelet-rich preparations. a systematic review of the current pre-clinical evidence. *Platelets.* 2016;27(4):276–285.

Faillace V, Tambella AM, Fratini M, Paggi E, Dini F, Laus F. Use of autologous platelet-rich plasma for a delayed consolidation of a tibial fracture in a young donkey. *J Vet Med Sci.* 2017;79(3):618–622.

- Farghali** HA, AbdElKader NA, AbuBakr HO, Aljuaydi SH, Khattab MS, Elhelw R, Elhariri M. Antimicrobial action of autologous platelet-rich plasma on MRSA-infected skin wounds in dogs. *Sci Rep.* 2019;9(1):12722.
- Fischer** H. A method of suture-free anastomosis of nerve transplantation is being reported, using facial nerve as the example. *Laryngol Rhinol Otol (Stuttg).* 1979;58(2):154–156.
- Foster** TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med.* 2009;37:2259–2272.
- Franchini** M, Cruciani M, Mengoli C, et al Efficacy of platelet-rich plasma as conservative treatment in orthopaedics: a systematic review and meta-analysis. *Blood Transfus.* 2018;16:502–513.
- Franco** D, Franco T, Schettino AM, Filho JM, Vendramin FS. Protocol for obtaining platelet-rich plasma (PRP), platelet-poor plasma (PPP), and thrombin for autologous use. *Aesthetic Plast Surg.* 2012;36:1254–1259.
- 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 Manag.* 2010;56(6):36-44.

G

- Game** FL, Apelqvist J, Attinger C, Hartemann A, Hinchliffe RJ, Löndahl M, Price PE, Jeffcoate WJ. International working group on the diabetic foot. effectiveness of interventions to enhance healing of chronic ulcers of the foot in diabetes: a systematic review. *Diabetes Metab Res Rev.* 2016;32(Suppl):154–168.
- Gandhi** A, Bibbo C, Pinzur M, Lin SS. The role of platelet-rich plasma in foot and ankle surgery. *Foot Ankle Clin.* 2005;10:621–637.
- Garber** SL, Rintala DH. Pressure ulcers in veterans with spinal cord injury: a retrospective study. *J Rehabil Res Dev.* 2003;40:433–441.

- Gilberston** DG, Duff ME, West JW, Kelly JD, Sheppard PO, Hofstrand ZG, Shoemaker K, Bukowski TR, Moore M, Feldhaus AL, Humes JM, Palmer TE, Hart CE. Platelet derived growth factor C (PDGFC) a novel growth factor that binds to PDGF alpha and beta receptor. *J Biol Chem.* 2001; 276(29):27406-27414.
- Giusti** I, Rughetti A, D'Ascenzo S, et al Identification of an optimal concentration of platelet gel for promoting angiogenesis in human endothelial cells. *Transfusion.* 2009;49:771–778.
- Gobbi** G, Vitale M. Platelet-rich plasma preparations for biological therapy: applications and limits. *Oper Tech Orthop.* 2012;22(1):10–5. 10.1053/j.oto.2012.01.002.
- Golebiewska** EM, Poole AW. Platelet secretion: from haemostasis to wound healing and beyond. *Blood Rev.* 2015;29:153–162. 10.1016/j.blre.2014.10.003.
- Gómez-Caro** A, Ausin P, Boada M. Platelet rich plasma improves the healing process after airway anastomosis. *Interac Cardiovasc Thor Surg.* 2012;13(6):552-556.
- Görmeli** G, Görmeli CA, Ataoglu B, Çolak C, Aslantürk O, Ertem K. Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017;25(3):958–965.
- Grambart** ST. Sports medicine and platelet-rich plasma: nonsurgical therapy. *Clin Podiatr Med. Surg* 2015;32:99–107.
- Graziani** F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implant Res.* 2006;17:212–219.
- Giudice** A, Barone S, Bennardo F. Effect of Platelet-Rich Fibrin in Surgical Treatment of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw. *J Oral Maxillofac Surg.* 2020;78(10):1659. doi: 10.1016/j.joms.2020.05.051.

H

- Harding** KG, Morris HL, Patel GK. Science, medicine and the future: healing chronic wounds. *BMJ.* 2002;324:160–163.

Haughey L, Barbul A. Nutrition and lower extremity ulcers: causality and/or treatment. *Int J Low Extrem Wounds.* 2017;16(4):238–243.

Hinkle DE, Wiersma W, Jurs SG. *Applied Statistics for the Behavioral Sciences.* 5th ed. Boston: Houghton Mifflin. 2003.

Hu Z, Qu S, Zhang J, Cao X, Wang P, Huang S, Shi F, Dong Y, Wu J, Tang B, Zhu J. Efficacy and Safety of Platelet-rich plasma for patients with diabetic ulcers: a systematic review and meta-analysis. *Adv Wound Care (New Rochelle).* 2019;8(7):298–308.

Huang Y, Liu X, Xu X, Liu J. Intra-articular injections of platelet-rich plasma, hyaluronic acid or corticosteroids for knee osteoarthritis: a prospective randomized controlled study. *Orthopade.* 2019;48(3):239–247.

Humphries MD, Brunson A, Li CS, Melnikow J, Romano PS. Amputation trends for patients with lower extremity ulcers due to diabetes and peripheral artery disease using statewide data. *J Vasc Surg.* 2016;64(6):1747–1755.

I

Ichioaka S, Kouraba S, Sekiya N, Ohura N, Nakatsuka T. Bone marrow-impregnated collagen matrix for wound healing: experimental evaluation in a microcirculatory model of angiogenesis, and clinical experience. *Br J Plast Surg.* 2005;58:1124–1130.

J

Jeong SH, Han SK, Kim WK. Treatment of diabetic foot ulcers using a blood bank concentrate. *Plast Reconstr Surg.* 2010;125(3):944–952.

Jo CH, Roh YH, Kim JE, Shin S, Yoon KS. Optimizing platelet-rich plasma gel formation by varying time and gravitational forces during centrifugation. *J Oral Implantol.* 2013;39:525–532.

Jones CI. Platelet function and ageing. *Mamm Genome.* 2016;27(7-8):358–366.

K

Kahn RA, Cossette I, Friedman LI. Optimum centrifugation conditions for the preparation of platelet and plasma products. *Transfusion.* 1976;16:162–165.

Kawakami T, Takeuchi S, Okano T, Inoue H, Soma Y. Therapeutic effect of autologous platelet-rich plasma (PRP) on recalcitrant cutaneous ulcers in livedoid vasculopathy. *JAAD Case Rep.* 2015;1(5):310-311.

Kikuchi N, Yoshioka T, Taniguchi Y, et al Optimization of leukocyte-poor platelet-rich plasma preparation: a validation study of leukocyte-poor platelet-rich plasma obtained using different preparer, storage, and activation methods. *J Exp Orthop.* 2019;6:24.

Kirsner RS, Vivas AC. Lower-extremity ulcers: diagnosis and management. *Br J Dermatol.* 2015;173(2):379–390.

Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Austin LL, Butler EL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF) *Ann Surg.* 1986;204:322–330.

Kumaran MS. Platelet-rich plasma in dermatology: boon or a bane? *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2014;80:5–14.

L

Lacoste E, Martineau I, Gagnon G. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. *J Periodontol.* 2003;74:1498–1507.

Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg.* 2000;58: 297–300; discussion 300–291.

Lang S, Loibl M, Herrmann M. Platelet-rich plasma in tissue engineering: hype and hope. *Eur Surg Res.* 2018;59(3-4):265–275.

Latagliata R, Spadea A, Cedrone M, et al. Symptomatic mucocutaneous toxicity of hydroxyurea in Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms: the Mister Hyde face of a safe drug. *Cancer.* 2012;118(2):404–409.

- Laurens** N, Koolwijk P, de Maat MP. Fibrin structure and wound healing. *J Thromb Haemost.* 2006;4:932–939.
- Li** JL, Zarbock A, Hidalgo A. Platelets as autonomous drones for hemostatic and immune surveillance. *J Exp Med.* 2017;214(8):2193–2204. 10.1084/jem.20170879.
- Li** L, Chen D, Wang C, Yuan N, Wang Y, He L, Yang Y, Chen L, Liu G, Li X, Ran X. Autologous platelet-rich gel for treatment of diabetic chronic refractory cutaneous ulcers: a prospective, randomized clinical trial. *Wound Repair Regen.* 2015;23(4):495–505.
- Li** T, Ma Y, Wang M, Wang T, Wei J, Ren R, He M, Wang G, Boey J, Armstrong DG, Deng W, et al. Platelet-rich plasma plays an antibacterial, anti-inflammatory and cell proliferation-promoting role in an in vitro model for diabetic infected wounds. *Infect Drug Resist.* 2019;12:297–309.
- Liao** HT, Marra KG, Rubin JP. Application of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in fat grafting: basic science and literature review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2014;20:267–276.
- Lopes** FC, Ferreira R, Albuquerque DM, et al. In vitro and in vivo anti-angiogenic effects of hydroxyurea. *Microvascular Res.* 2014;94:106–113.
- Lopez-Vidriero** E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: optimizing the healing environment. *Arthroscopy* 2010;26:269–278.

M

- Maluf** G, Caldas RJ, Silva Santos PS. Use of Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin in the Treatment of Medication-Related Osteonecrosis of the Jaws. *J Oral Maxillofac Surg.* 2018;76(1):88–96. doi: 10.1016/j.joms.2017.06.004.
- Man** D, Plosker H, Winland-Brown JE. The Use of Autologous Platelet-Rich Plasma (Platelet Gel) and Autologous Platelet-Poor Plasma (Fibrin Glue) in Cosmetic Surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2001;107(1):229–237.

- Marcazzan S, Taschieri S, Weinstein RL, Del Fabbro M.** Efficacy of platelet concentrates in bone healing: a systematic review on animal studies - part b: large-size animal models. *Platelets*. 2018;29(4):338–346.
- Margolis DJ, Kantor J, Santanna J, Strom BL, Berlin JA.** Effectiveness of platelet release for the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers. *Diabetes Care*. 2001;24:483–488. 10.2337/diacare.24.3.483.
- Mariani E, Filardo G, Canella V, Berlingeri A, Bielli A, Cattini L, Landini MP, Kon E, Marcacci M, Facchini A.** Platelet-rich plasma affects bacterial growth in vitro. *Cytherapy*. 2014;16(9):1294–1304.
- Marques LF, Stessuk T, Camargo IC, Sabeh Junior N, dos Santos L, Ribeiro-Paes JT.** Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications. *Platelets*. 2015;26(2):101–113.
- Martinez ZMJ, Martí CAJ, Solà I, Expósito JA.** Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. *Cochrane Database Syst Rev*. 2016;(5):CD006899.
- Martínez-Zapata MJ, Martí Carvajal A, Solà I, Bolibar I, Angel Expósito J, Rodriguez L, et al.** Efficacy and safety of the use of autologous plasma rich in platelets for tissue regeneration: a systematic review. *Transfusion*. 2009;49(1):44–56. 10.1111/j.1537-2995.2008.01945.x.
- Martinowitz U, Spotnitz W.** Fibrin tissue adhesives. *Thromb Haemost*. 1997;78:661–666.
- Marx RE.** Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225–228.
- Marx RE.** Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*. 2004;62(4):489–496. 10.1016/j.joms.2003.12.003.
- Mautner K, Malanga GA, Smith J, et al** A call for a standard classification system for future biologic research: the rationale for new PRP nomenclature. *PM&R*. 2015;7:S53–S59.

- Mazzocca** AD, McCarthy MB, Chowaniec DM, et al Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94:308–316.
- Mazzucco** L, Balbo V, Guaschino R. “Reasonable compromise” to define the quality standards of platelet concentrate for non-transfusion use (CPunT). *Transfus Apher Sci.* 2012;47(2):207–211.
- Medina** A, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE. Pathophysiology of chronic nonhealing wounds. *J Burn Care Rehabil.* 2005;26:306–319.
- Mehta** S, Watson JT. Platelet rich concentrate: basic science and current clinical applications. *J Orthop Trauma.* 2008;22(6):432–438. 10.1097/BOT.0b013e31817e793f.
- Miller** JD, Rankin TM, Hua NT, Ontiveros T, Giovinco NA, Mills JL, Armstrong DG. Reduction of pain via platelet-rich plasma in split-thickness skin graft donor sites: a series of matched pairs. *Diabet Foot Ankle.* 2015;6:24972.
- Mishra** A, Woodall J, Jr, Vieira A. Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma. *Clin Sports Med.* 2009;28:113–125.
- Moghazy** AM, Ellabban, Adly OA, Ahmed FY. Evaluation of the use of vacuum-assisted closure (VAC) and platelet-rich plasma gel (PRP) in management of complex wounds. *Eur J Plast Surg.* 2015;38(6):463–470. 10.1007/s00238-015-1140-z.
- Moneib** HA, Youssef SS, Aly DG, Rizk MA, Abdelhakeem YI. Autologous platelet-rich plasma versus conventional therapy for the treatment of chronic venous leg ulcers: a comparative study. *J Cosmet Dermatol.* 2018;17(3):495–501.
- Morimoto** N, Ito T, Takemoto S, et al. An exploratory clinical study on the safety and efficacy of an autologous fibroblast-seeded artificial skin cultured with animal product-free medium in patients with diabetic foot ulcers. *Int Wound J.* 2014;11(2):183–189.
- N**
- Nikolidakis** D, Jansen JA. The biology of platelet-rich plasma and its application in oral surgery: literature review. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008;14:249–258.

Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Front Biosci.* 2008;13:3532–3548.

Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2011;105(Suppl 1):S13-S33.

O

Ogundipe OK, Ugboko VI, Owotade FJ. Can autologous platelet-rich plasma gel enhance healing after surgical extraction of mandibular third molars? *J Oral Maxillofac Surg.* 2011;69:2305–2310.

Ornetti P, Nourissat G, Berenbaum F, Sellam J, Richette P, Chevalier X. Does platelet-rich plasma have a role in the treatment of osteoarthritis? *Joint Bone Spine.* 2016;83:31–36.

Oudelaar BW, Peerbooms JC, Huis in 't Veld R, Vochteloo AJH. Concentrations of blood components in commercial platelet-rich plasma separation systems: a review of the literature. *Am J Sports Med.* 2019;47:479–487.

Özgürtaş T, Burkay U, Cemil Y. Platelet-Rich Plasma. *Musculoskeletal Research and Basic Science.* Springer International Publishing, 2016; p. 283-8. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-20777-3_16.

P

Padilla S, Orive G, Sánchez M, Anitua E, Hsu WK. Platelet-rich plasma in orthopaedic applications: evidence-based recommendations for treatment. *J Am Acad Orthop Surg.* 2014;22(8):469-470.

Pagel O, Walter E, Jurk K, Zahedi RP. Taking the stock of granule cargo: platelet releasate proteomics. *Platelets.* 2017;28(2):119–128. 10.1080/09537104.2016.1254762.

Pallua N, Wolter T, Markowicz M. Platelet-rich plasma in burns. *Burns.* 2010;36(1):4-8.

Peerbooms JC, Sluimer J, Bruijn DJ, Gosens T. Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *Am J Sports Med.* 2010;38(2):255-262. doi: 10.1177/0363546509355445.

Perez AG, Lana JF, Rodrigues AA, Luzo AC, Belangero WD, Santana MH. Relevant aspects of centrifugation step in the preparation of platelet-rich plasma. *ISRN Hematol.* 2014;2014:176060.

Perez-Zabala E, Basterretxea A, Larrazabal A, Perez-Del-Pecho K, Rubio-Azpeitia E, Andia I. Biological approach for the management of non-healing diabetic foot ulcers. *J Tissue Viability.* 2016; 25(2):157-163. doi: [10.1016/j.jtv.2016.03.003](https://doi.org/10.1016/j.jtv.2016.03.003)

Piao L, Park H, Jo CH. Theoretical prediction and validation of cell recovery rates in preparing platelet-rich plasma through a centrifugation. *PLoS ONE.* 2017;12:e0187509.

Picard F, Hersant B, Bosc R, Meningaud JP. The growing evidence for the use of platelet-rich plasma on diabetic chronic wounds: a review and a proposal for a new standard care. *Wound Repair Regen.* 2015;23(5):638–643. [10.1111/wrr.12317](https://doi.org/10.1111/wrr.12317).

Picard F, Hersant B, Bosc R, Meningaud RP. Should we use platelet-rich plasma as an adjunct therapy to treat ‘acute wounds’, ‘burns’ and ‘laser therapies’: a review and a proposal of a quality criteria checklist for further studies. *Wound Repair Regen.* 2015;23:163–170. [10.1111/wrr.12266](https://doi.org/10.1111/wrr.12266).

Piccin A, Di Pierro AM, Canzian L, Primerano M, Corvetta D, Negri G, et al. Platelet gel: a new therapeutic tool with great potential. *Blood Transfus.* 2017;15(4):333–340. [10.2450/2016.0038-16](https://doi.org/10.2450/2016.0038-16).

Playford RJ, Macdonald CI. Growth factors in saliva. *The Lancet* 1997; 350(9074):369.

Prataap N, Sunil PM, Sudeep CB, Ninan, Tom A, Arjun MR. Platelet-rich plasma and incidence of alveolar osteitis in high-risk patients undergoing extractions of mandibular molars: a case-control study. *J Pharm Bioallied Sci.* 2017;9:S173–S179.

Q

Quattrone F, Dini V, Barbanera S, Zerbinati N, Romanelli M. Cutaneous ulcers associated with hydroxyurea therapy. *J Tissue Viability.* 2013;22(4):112–121.

R

- Rajabi H**, Sheikhani Shahin H, Norouzian M. The healing effects of aquatic activities and allogenic injection of platelet-rich plasma (PRP) on injuries of Achilles tendon in experimental rat. *World J Plast Surg.* 2015;4 (1):66–73.
- Ravari H**, Hamidi-Almadari D, Salimifar M, Bonakdaran S, Parizadeh MR, Koliakos G. Treatment of non-healing wounds with autologous bone marrow cells, platelets, fibrin glue and collagen matrix. *Cytotherapy.* 2011;13:705–711.
- Rebulla P**, Pupella S, Santodirocco M, et al. Multicentre standardisation of a clinical grade procedure for the preparation of allogeneic platelet concentrates from umbilical cord blood. *Blood Transfus.* 2016;14(1):73–79.
- Reese RJ**. Autologous platelet rich plasma (PRP): what do we know? Important concepts relevant to hair restoration surgery. *Hair Transplant Forum Int.* 2010;14-7.
- Rollason V**, Laverrière A, MacDonald LC, Walsh T, Tramèr MR, Vogt-Ferrier NB. Interventions for treating bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw (BRONJ). *Cochrane Database Syst Rev.* 2016;2(2):CD008455. doi: 10.1002/14651858.CD008455.
- Rodriguez IA**, Growney Kalaf EA, Bowlin GL, Sell SA. Platelet-rich plasma in bone regeneration: engineering the delivery for improved clinical efficacy. *Biomed Res Int.* 2014;2014:392398.
- Rodríguez-Lozano FJ**, Oñate-Sánchez R, González-García M, Vallés-Bergadá M, Martínez CM, Revilla-Nuin B, Guerrero-Gironés J, Moraleda JM, García-Bernal D. Allogeneic Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Tooth Extractions Sites Ameliorates the Incidence of Osteonecrotic Jaw-Like Lesions in Zoledronic Acid-Treated Rats. *J Clin Med.* 2020;9(6):1649. doi: 10.3390/jcm9061649.
- Rosenthal AR**, Harbury C, Egbert PR, Rubenstein E. Use of a platelet-fibrinogen-thrombin mixture as a corneal adhesive: experiments with sutureless lamellar keratoplasty in the rabbit. *Invest Ophthalmol.* 1975;14(11):872–875.
- Rožman P**, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* 2007;16(4):156–165.

Rožman P, Semenič D, Smrke DM. The role of platelet gel in regenerative medicine. In: Wislet S, editor. *Advances in Regenerative Medicine*. InTechOpen, 2011; p. 15, <http://dx.doi.org/10.5772/26130>.

Rutkowski JL, Johnson DA, Radio NM, Fennell JW. Platelet rich plasma to facilitate wound healing following tooth extraction. *J Oral Implantol*. 2010;36:11–23.

Rutkowski JL, Thomas JM, Bering CL, et al Analysis of a rapid, simple, and inexpensive technique used to obtain platelet-rich plasma for use in clinical practice. *J Oral Implantol*. 2008;34:25–33.

S

Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2003;18:93–103. [PubMed] [Google Scholar]Cervantes J, Perper M, Wong LL, et al Effectiveness of platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: a review of the literature. *Skin Appendage Disord*. 2018;4:1–11.

Sanchez M, Anitua E, Cugat R, Azofra J, Guadilla J, Seijas R, Andia I. Nonunions treated with autologous preparation rich in growth factors. *J Orthop Trauma*. 2009;23(1):52-59.

Sánchez M, Anitua E, Delgado D, Sánchez P, Orive G, Padilla S. Muscle repair: platelet-rich plasma derivatives as a bridge from spontaneity to intervention. *Injury*. 2014;45 Suppl 4:S7-14. doi: 10.1016/S0020-1383(14)70004-X.

Sánchez M, Delgado D, Sánchez P, Fiz N, Azofra J, Orive G, Anitua E, Padilla S. Platelet rich plasma and knee surgery. *Biomed Res Int*. 2014;2014:890630. doi: 10.1155/2014/890630.

Sánchez M, Fiz N, Guadilla J, Padilla S, Anitua E, Sánchez P, Delgado D. Intraosseous infiltration of platelet-rich plasma for severe knee osteoarthritis. *Arthrosc Tech*. 2014;3(6):e713-717. doi: 10.1016/j.eats.2014.09.006.

Sánchez M, Jorquera C, Sánchez P, Beitia M, García-Cano B, Guadilla J, Delgado D. Platelet-rich plasma injections delay the need for knee arthroplasty: a retrospective study and survival analysis. *Int Orthop*. 2021;45(2):401-410. doi: 10.1007/s00264-020-04669-9.

Scevola S, Nicoletti G, Brenta F, Isernia P, Maestri M, Faga A. Allogenic platelet gel in the treatment of pressure sores: a pilot study. *Int Wound J*. 2010;7(3):184–190.

- Schaller** M, Hofmann A, Connor J, Nydegger UE. Filtered platelet concentrates from pooled buffy coats show comparable storage lesions when stored for 9 d at 20-24 degrees C or when supplemented with thromboSol at 2-6 degrees C. *Eur J Haematol.* 2000;64(6):401–410.
- Scherer** S, Tobalem M, Vigato E, Heit Y, Modarressi A, Hinz B, et al. Nonactivated versus Thrombin-Activated Platelets on Wound Healing and Fibroblast-to-Myofibroblast Differentiation In Vivo and In Vitro. *Plast Reconstr Surg.* 2012;129(1):46e-54e.
- 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):1342–1348. 10.1016/S0741-5214(03)00908-X.
- Serra** R, Buffone G, Dominijanni A, Molinari V, Montemurro R, de Franciscis S. Application of platelet-rich gel to enhance healing of transmetatarsal amputations in diabetic dysvascular patients. *Int Wound J.* 2013;10(5):612–615.
- Shin** MK, Lee JH, Lee SJ, Kim NI. Platelet-rich plasma combined with fractional laser therapy for skin rejuvenation. *Dermatol Surg.* 2012;38:623-630.
- Sierra** Martínez A. Heridas y Cicatrización. *Revista de la Sociedad Española de Heridas.* 1(9):29. 2019.
- Singer** AJ, Tassiopoulos A, Kirsner RS. Evaluation and management of lower-extremity ulcers. *N Engl J Med.* 2017;377(16):1559–1567.
- Singh** B, Goldberg LJ. Autologous platelet-rich plasma for the treatment of pattern hair loss. *Am J Clin Dermatol.* 2016;17:359–367.
- Singh** N, Armstrong DG, Lipsky BA. Preventing foot ulcers in patients with diabetes. *JAMA.* 2005;293:217–228.
- Slichter** SJ, Harker LA. Preparation and storage of platelet concentrates. I. Factors influencing the harvest of viable platelets from whole blood. *Br J Haematol.* 1976;34:395–402.

Smrke D, Gubina B, Domanović D, Rozman P. Allogeneic platelet gel with autologous cancellous bone graft for the treatment of a large bone defect. *Eur Surg Res.* 2007;39(3):170-174. doi: 10.1159/000100490.

Stacey MC, Mata SD, Trengove NJ, Mather CA. Randomised double-blind placebo controlled trial of topical autologous platelet lysate in venous ulcer healing. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2000;20(3):296–301. 10.1053/ejvs.2000.1134.

Steed DL, Goslen JB, Holloway GA, Malone JM, Bunt TJ, Webster MW. Randomized prospective double-blind trial in healing chronic diabetic foot ulcers. CT-102 activated platelet supernatant, topical versus placebo. *Diabetes Care.* 1992;15:1598–1604. 10.2337/diacare.15.11.1598.

Steller D, Herbst N, Pries R, Juhl D, Hakim SG. Impact of incubation method on the release of growth factors in non-Ca(2+)-activated PRP, Ca(2+)-activated PRP, PRF and A-PRF. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019;47:365–372.

Sun S, Wang C, Chen D, Cen S, Lv X, Wen X, Liu M, Lu W, Zhao J, Ran X. Combating superbug without antibiotic on a postamputation wound in a patient with diabetic foot. *Int J Low Extrem Wounds.* 2016;15(1):74–77.

T

Takami A. Guidelines based on scientific evidence for the application of platelet transfusion concentrates. [Rinsho ketsueki] *Jpn J Clin Hematol.* 2018;59:2349–2353.

Tambella AM, Attili AR, Dini F, Palumbo PA, Vullo C, Serri E, Scrollavezza P, Dupré G. Autologous platelet gel to treat chronic decubital ulcers: a randomized, blind controlled clinical trial in dogs. *Vet Surg.* 2014;43(6):726–733.

Tambella AM, Attili AR, Dupré G, Cantalamessa A, Martin S, Cuteri V, Marcazzan S, Del Fabbro M. Platelet-rich plasma to treat experimentally-induced skin wounds in animals: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2018;13(1):e0191093.

Tambella AM, Martin S, Cantalamessa A, Serri E, Attili AR. Platelet-rich plasma and other hemocomponents in veterinary regenerative medicine. *Wounds*. 2018;30(11):329–336.

V

van Buul GM, Koevoet WLM, Kops N, Bos PK, Verhaar JAN, Weinans H, et al. Platelet-Rich Plasma Release Inhibits Inflammatory Processes in Osteoarthritic Chondrocytes. *Am J Sports Med*. 2011;39(11):2362-2370.

Vaquerizo V, Sánchez M, Padilla S, Orive G, Anitua E. Should your algorithm include plasma rich in growth factors in the light of its clinical efficacy and safety? *Semin Arthritis Rheum*. 2015;44(4):e10-1. doi: 10.1016/j.semarthrit.2014.09.007.

Vidán Estévez J, Escalante F, Escribano P, Cechini C, Moro MJ, Ahmadi A, Ballina B, Quiñones J, Moro MJ. Uso de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas en úlceras cutáneas y osteonecrosis mandibular secundarias: una terapia eficaz. LV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia. Sevilla. 2013.

Villela DL, Santos VLCG. Evidence on the use of platelet-rich plasma for diabetic ulcer: A systematic review. *Growth Factors*. 2010;28(2):111-116.

Vrsalović M, Vučur K. Diabetes and critical limb ischemia: the deadly duo in patients with symptomatic peripheral artery disease. *Acta Clin Croat*. 2016;55(2):240–246. 10.20471/acc.2016.55.02.09.

W

Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL. Contents and formulations of platelet-rich plasma. *Oper Tech Orthop*. 2012;22(1):33–42. 10.1053/j.oto.2011.11.001.

Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL. Contents and formulations of platelet-rich plasma. *Oper Tech Orthop*. 2012;22(1):33–42. 10.1053/j.oto.2011.11.001.

Weibrich G, Kleis WK, Streckbein P, Moergel M, Hitzler WE, Hafner G. Comparison of point-of-care methods for preparation of platelet concentrate (platelet-rich plasma). *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27:762–769.

X

Xu F, Othman B, Lim J, Batres A, Ponugoti B, Zhang C. Foxo1 inhibits diabetic mucosal wound healing but enhances healing of normoglycemic wounds. *Diabetes*. 2015;64(1):243–256.

Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S. Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. *Aust Dent J*. 2020;65(2):131-142. doi: 10.1111/adj.12754.

Y

Yang LC, Hu SW, Yan M, Yang JJ, Tsou SH, Lin YY. Antimicrobial activity of platelet-rich plasma and other plasma preparations against periodontal pathogens. *J Periodontol*. 2015;86:310–318.

Yin W, Xu H, Sheng J, et al Optimization of pure platelet-rich plasma preparation: a comparative study of pure platelet-rich plasma obtained using different centrifugal conditions in a single-donor model. *Exp Ther Med*. 2017;14:2060–2070.

Yotsu RR, Hagiwara S, Okochi H, Tamaki T. Case series of patients with chronic foot ulcers treated with autologous platelet-rich plasma. *J Dermatol*. 2015;42(3):288–295.

Z

Zhang J, Li Y, Li H, Zhu B, Wang L, Guo B. GDF11 improves angiogenic function of EPCs in diabetic limb ischemia. *Diabetes*. 2018;67(10):2084–2095.

Zhang W, Guo Y, Kuss M, Shi W, Aldrich AL, Untrauer J, Kielian T, Duan B. Platelet-rich plasma for the treatment of tissue infection: preparation and clinical evaluation. *Tissue Eng Part B Rev*. 2019;25(3):225–236.

Zhang ZY, Huang AW, Fan JJ, Wei K, et al. The potential use of allogeneic platelet-rich plasma for large bone defect treatment: immunogenicity and defect healing efficacy. *Cell Transplant*. 2013;22(1):175–187.

Zheng C, Zhu Q, Liu X, et al Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on proliferation, neurotrophic function and migration of Schwann cells in vitro. *J Tissue Eng Regen Med*. 2016;10:428–436.

Zhu W, Zhu X, Huang GT, Cheung GS, Dissanayaka WL, Zhang C. Regeneration of dental pulp tissue in immature teeth with apical periodontitis using platelet-rich plasma and dental pulp cells. *Int Endod J.* 2013;46:962–970.

ANEXOS

ANEXO 1

Tabla resumen de los diversos protocolos para la preparación de PRP. [Modificado de Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S. Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. Aust Dent J. 2020;65(2):131-142. doi:10.1111/adj.12754]

ANEXO 2

Manual de Cuidados de Enfermería. 1040 P. Preparación de plasma rico en plaquetas (PRP) para tratamiento local.

ANEXO 3

Protocolo genérico de analítica sanguínea, obtenido de la bibliografía habitual.

ANEXO 4

Anexo 4a.

Información y consentimiento para paciente sobre la aplicación de factor de cicatrización derivado de plaquetas (PRP-local) [Modelo CAULE].

Anexo 4b.

Modelo de consentimiento informado del paciente o colaborador [Modelo CEIC, ULe].

ANEXO 5

Formato de protocolo: compromiso de confidencialidad.

ANEXO 6

Resolución del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (Madrid, 23 de mayo de 2013) por la que se

establece la clasificación del uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, como medicamento de uso humano para atender necesidades especiales.

ANEXO 7

INFORME/V1/23052013. Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios) sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas. Fecha de publicación: 23 de mayo de 2013.

ANEXO 8

Informe favorable del Comité de Ética e Investigación Clínica (CEIC) de la Universidad de León (ULe). Número de codificación: ÉTICA-ULE-004-201.

ANEXO 9

Categorización de las variables del estudio: Tratamiento mediante aféresis factores de crecimiento plaquetario de donante (PRP).

ANEXO 10

Valores de referencia utilizados en nuestro estudio, que son los considerados habituales en nuestro centro (CAULE).

ANEXO 1

ANEXO 1

Tabla resumen de los diversos protocolos para la preparación de PRP. [Modificado de Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S. Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. Aust Dent J. 2020;65(2):131-142. doi:10.1111/adj.12754]

Autor del estudio	1ª centrifugación	2ª centrifugación	Concentración de plaquetas
Arora <i>et al.</i> ¹	208 g / 20 min	1552 g de 23 min	87% recuperación
Eren <i>et al.</i> ²	2660 rpm / 12 min	–	214.7 ± 52.1 × 10 ³ /μL
Amable <i>et al.</i> ³	300 g / 5 min	700 g de 17 min	140 a 190 × 10 ³ /μL
Kahn <i>et al.</i> ⁴	3731 g / 4 min	–	95% recuperación
Slichter and Harker ⁵	1000 g / 9 min	3000 g / 20 min	80% recuperación
Bausset <i>et al.</i> ⁶	130 g / 15 min	250 g / 15 min	3.96-fold
Yin <i>et al.</i> ⁷	160 g / 10 min	250 g / 15 min	1250 × 10 ³ /μL
Franco <i>et al.</i> ⁸	400 g / 10 min	800 g / 10 min	603 × 10 ³ /μL

Autor del estudio	1ª centrifugación	2ª centrifugación	Concentración de plaquetas
Mazzocca <i>et al.</i> ⁹	3200 rpm / 15 min	–	873.8 ± 207.2 × 10 ³ /μL
Landesberg <i>et al.</i> ¹⁰	200 g / 10 min	200 g / 10 min	3.2-fold
Rutkowski <i>et al.</i> ¹¹	1350 g / 10 min	–	6-fold
Jo <i>et al.</i> ¹²	900 g / 5 min	1500 g / 15 min	633.2 ± 91.6 × 10 ³ /μL

1. Arora S, Doda V, Kotwal U, Dogra M. Quantification of platelets and platelet derived growth factors from platelet-rich-plasma (PRP) prepared at different centrifugal force (g) and time. *Transfus Apher Sci* 2016;54:103–110.
2. Eren G, Gurkan A, Atmaca H, Donmez A, Atilla G. Effect of centrifugation time on growth factor and MMP release of an experimental platelet-rich fibrin-type product. *Platelets* 2016;27:427–432.
3. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, et al Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther* 2013;4:67.
4. Kahn RA, Cossette I, Friedman LI. Optimum centrifugation conditions for the preparation of platelet and plasma products. *Transfusion* 1976;16:162–165.
5. Slichter SJ, Harker LA. Preparation and storage of platelet concentrates. I. Factors influencing the harvest of viable platelets from whole blood. *Br J Haematol* 1976;34:395–402.

6. Bausset O, Giraud L, Veran J, et al Formulation and storage of platelet-rich plasma homemade product. *BioRes Open Access* 2012;1:115–123.
7. Yin W, Xu H, Sheng J, et al Optimization of pure platelet-rich plasma preparation: a comparative study of pure platelet-rich plasma obtained using different centrifugal conditions in a single-donor model. *Exp Ther Med* 2017;14:2060–2070.
8. Franco D, Franco T, Schettino AM, Filho JM, Vendramin FS. Protocol for obtaining platelet-rich plasma (PRP), platelet-poor plasma (PPP), and thrombin for autologous use. *Aesthetic Plast Surg* 2012;36:1254–1259.
9. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowanec DM, et al Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94:308–316.
10. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000;58: 297–300; discussion 300–291.
11. Rutkowski JL, Thomas JM, Bering CL, et al Analysis of a rapid, simple, and inexpensive technique used to obtain platelet-rich plasma for use in clinical practice. *J Oral Implantol* 2008;34:25–33.
12. Jo CH, Roh YH, Kim JE, Shin S, Yoon KS. Optimizing platelet-rich plasma gel formation by varying time and gravitational forces during centrifugation. *J Oral Implantol* 2013;39:525–532.

1040 P. PREPARACIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) PARA TRATAMIENTO LOCAL

1. DEFINICIÓN DE LA ACTIVIDAD: Acciones de enfermería dirigidas a la preparación, fraccionamiento y almacenaje de factores de cicatrización derivados de plaquetas (DWHF) procedentes de aféresis de plaquetas de donante único.

2. OBJETIVOS:

2.1. General: Obtener un producto adecuado para el tratamiento local de úlceras cutáneas de evolución tórpida y lesiones de osteonecrosis mandibular secundarias a uso de bifosfatos.

2.2. Específico: Conseguir dosis alícuotas para que el paciente pueda administrárselo en su domicilio. Estas dosis se obtienen dividiendo el contenido total de la bolsa de plasma en jeringas de un volumen determinado, generalmente 5ml. En el laboratorio, las jeringas se conservan en congelador a -80° , y, una vez por semana, los pacientes acuden a recogerlas en unas condiciones específicas según protocolo establecido. La caducidad de este preparado es de seis meses.

3. RECURSOS:

3.1. Personas:

Enfermera.

3.2. Materiales:

- 3.2.1. Lámpara de flujo laminar.
- 3.2.2. Bolsa de aféresis de donante compatible.
- 3.2.3. Paño estéril.
- 3.2.4. Guantes estériles.
- 3.2.5. Conectores.
- 3.2.6. Jeringas de transferencia.
- 3.2.7. Tapones estériles.
- 3.2.8. Bolsas para congelación.
- 3.2.9. Etiquetas identificativas del paciente.

1040 P. PREPARACIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) PARA TRATAMIENTO LOCAL

4. DESCRIPCIÓN DE LA SISTEMÁTICA:

- 4.1.** Recepción, identificación y valoración del paciente.
- 4.2.** Extraer muestras para estudio en Banco de Sangre (Grupo Rh y fenotipo).
- 4.3.** Pedir las plaquetas al Chemcyl (Centro de Hemoterapia de Castilla y León) según los resultados de las serologías, para preparar el PRP.
- 4.4.** Realizar el traspaso del producto de la bolsa completa a las jeringas, en la campana de flujo laminar, que cada semana se entregarán al paciente.
- 4.5.** Etiquetar cada paquete de jeringas con los datos del paciente y la fecha de realización y congelar a -80º.
- 4.6.** Citar al paciente para administrar primera dosis y explicar la técnica de administración.
- 4.7.** Programar citas sucesivas para valorar la evolución de la lesión y suministrarle nuevas dosis.

INT06574- Identificación del paciente

ACT- *Comprobar que la información proporcionada por el paciente es la misma que la que aparece en el dispositivo de identificación (p. ej., pulseras, etiquetas de la cama, programa informático de reconocimiento de huellas dactilares, escáner de venas de la palma de la mano) y la historia clínica.*

INT05618- Enseñanza: procedimiento/tratamiento.

ACT- *Explicar el propósito del procedimiento/tratamiento*

ACT- *Explicar el procedimiento/tratamiento*

ACT- *Obtener/ser testigo del consentimiento informado del paciente del procedimiento/tratamiento de acuerdo con la política del centro, según corresponda*

ACT- *Enseñar al paciente cómo cooperar/participar durante el procedimiento/tratamiento, según corresponda.*

ACT- *Dar tiempo al paciente para que haga preguntas y exponga sus inquietudes.*

PUNTOS DE ÉNFASIS

- a. Identificación del paciente susceptible de tratamiento.**
- b. Preparación en campana de flujo laminar.**
- c. Correcta conservación.**
- d. Educación para el autocuidado en la administración del PRP.**

5. BIBLIOGRAFÍA

- Anitua E., Prado R; Sánchez M; Orive G. Platelet-Rich-Plasma: Preparation and Formulation. Oper Tech Orthop 2012; 22(1): 25-32
- Vilella DL,Santos VL. Evidence on the use of platelet-rich plasma for diabetic ulcer. A systematic review Grow Factors 2010;28(2): 111-116
- Dougherty EJ. An evidence-based model comparing the cost-effectiveness of platelet-rich plasma gel to alternative therapies for patients with Nonhealing diabetic foot ulcers. Adv Skin Wound Care 2008; 21(12): 568-575.
- NNNConsult. Portal de Salud de la Junta de CyL.

Protocolo de analítica sanguínea.

HEMATOLOGIA

Valores de referencia:

Hematies: **4,5-6,2** × 10¹²/l

4,5-6,2 millones/μlitro

Hematocrito: **40-54%**

0,40-0,54L/L

Hemoglobina: **Varón** → **14-18 gr/100 ml**

8,7-11,2 mmol/l

Hemoglobina Corpuscular Media: **1,62-2,11 fmol**

26-34 pg

Concentración de HCM: **19.2-23,58 mmol/L**

31-38%

Volumen Corpuscular Medio: **82-98 fl**

Ancho de Distribución eritrocitaria:

Leucocitos: **4500-11000/μlitro**

4,5-11×10⁹ /L

Formula leucocitaria: - Neutrófilos: 3-5%

- Linfocitos: 25-33%

- Monocitos: 3-7%

- Eosinófilos: 1-3%

- Basófilos: 0-0,75%

Plaquetas: 150000-400000 mm³

150-400×10⁹ L

Velocidad de Sedimentación Globular: 0,00-15,00 mm/h (1^a hora)

0,00-30,00 mm/h (2^a hora)

Técnicas de medición:

Muestra: sangre total anticoagulada con EDTA.

HEMOGRAMA:

Sistema analizador CELL_DYN 3500:

El analizador contiene el equipo necesario para aspirar, diluir y analizar cada muestra de sangre total.

Especificaciones del sistema:

◆ Canales de medida:

-2 canales de IMPEDANCIA: uno para WIC (recuento de leucocitos por impedancia) y otro, para recuento de glóbulos rojos y plaquetas.

-DISPOSITIVO OPTICO LASER: para el WOC (recuento óptico de leucocitos) y para el recuento leucocitario diferencial.

-Medición de la Hemoglobina por ABSORBANCIA.

◆ Recuento de Glóbulos blancos y recuento leucocitario diferencial:

-WIC: método→ impedancia en abertura.

-WOC: método→ dispersión de rayo láser.

◆ Recuento de Glóbulos rojos y Plaquetas:

Método → impedancia en abertura.

◆ Método de la Concentración de Hemoglobina:

Método→ de Cianuro de hemoglobina modificado.

Fuente luminosa→ diodo emisor de luz LED

VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR:

Mediante un instrumento VES- MATIC 60 diseñado para medir velocidad de sedimentación de hematíes (VSG).

El proceso del análisis de VSG se realiza de forma totalmente automática y los resultados son comparables a los obtenidos por el Método Westergren (1-10).

El aparato está controlado por medio de un microprocesador.

La sangre, recogida en los tubos que contienen anticoagulante, es homogeneizada por el aparato. Después de la mezcla, las muestras permanecen en reposo, a fin de proceder a la sedimentación, durante cierto tiempo. La sedimentación del nivel de eritrocitos es leída automáticamente por una unidad óptico-electrónica. Se utiliza un sistema de lectura óptico basado en parejas de sensores Emisor- Receptor trabajando en la banda de los infrarrojos.

BIOQUÍMICA I

Valores de referencia:

Unidades del SI

Ferritina en suero: **15-200 ngr/ml** ----- **15-200 µgr/ml**

Transferrina: 200-400 mgr/100ml ----- 2-4 g/L

Capacidad de Fijación del hierro: 250-400 µgr/100ml----- 44,8-71,6 µml/L

Indice de Saturación del Hierro:

Hierro: 50-160 µgr/100ml----- 8,9-28,7 µml/L

CPK : 12-80 U/L----- 0,20-1,33 µkat/L

% CK-MB : 0-6% de la total

LDH : 45-90 U/L----- 45-90 U/L

Acido úrico: 3,4-7 mgr/100ml----- 202-416 µmol/L

Colesterol:

Niveles el 10% más elevados en Estadounidenses de raza negra.

Varones: - 20-24 años: 124-218 mg/100ml----- 3,21-5,64 mmol/L

-25-29 años: 133-244 mg/100ml----- 3,44-6,32 mmol/L

-30-34 años: 138-254 mg/100ml----- 3,57-6,58 mmol/L

-35-39 años: 146-270 mg/100ml----- 3,78-6,99 mmol/L

Triglicéridos:

Varones: -20-29 años: 10-157 mg/100ml----- 0,11-1,77 mmol/L

-30-39 años: 10-182 mg/100ml----- 0,11-2,05mmol/L

Colesterol HDL:

Niveles de variación de 10 mgr/100ml o más en Estadounidenses de raza negra.

Varones: -20-24 años: 30-63 mg/100ml----- 0,78-1,63 mmol/L

-25-29 años: 31-63 mg/100ml----- 0,80-1,63 mmol/L

-30-34 años. 28-63 mg/100ml----- 0,72-1,63 mmol/L

-35-39 años: 29-62 mg/100ml----- 0,75-1,60 mmol/L

Creatinina: 0,6-1,2mg/100ml----- 44-97 µmol/L

Unidades SI

Urea: 5-18 mg/100ml----- 1,8-6,5
mmol/L

GOT (AST): 8-20 U/l----- 0,08-0,32
µmol/L

GPT (ALT): 8-20 U/l----- 0,08-0,32
µmol/L

GGT: 7-40 U/l----- 4-23 IU/L

Proteínas totales: 7-8- gr/L

Sodio: 135-148 mEq/l

Potasio: 3,5-5 mEq/L

Cloro: 98-106 mEq/L

Calcio: 8,5-10,5 mgr/dl----- 2,1-26
mmol/L

Magnesio: 1,8-2,9 mgr/dl----- 1,5-25
mEq/L

Manganeso:

Glucosa: 70-105 mgr/100ml----- 3,9-5,8
mmol/L

Técnicas de medición:

CPK: Isoenzima que es un dímero formado por 2 subunidades: B (Brain) y M (Mus-
cle). Necesita la presencia de cofactores metálicos -(activadores)- como el magnesio.

Técnica: *ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA (UV-V).*

LDH: Isoenzima que aparece en 5 formas que catalizan la reacción reversible

Lactato→ Piruvato. Es un tetrámero formado por cadenas de 2 tipos: H (Heart) y M
(Muscle). NO necesita cofactor.

Técnica: *ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA (UV-V).*

Acido úrico: Método enzimático- colorimétrico (ej: uricasa-PAP).

Colesterol y Triglicéridos: Métodos enzimáticos.

Colesterol HDL: se determina en el sobrenadante mediante métodos enzimáticos.

Creatinina: métodos basados en la reacción de “Jaffe” en la que a partir de la creatinina presente en la muestra analizada, se obtiene un complejo coloreado que puede ser cuantificado *FOTOMÉTRICAMENTE* .

Adaptando la reacción de Jaffe a un método *CINÉTICO* de determinación se consigue una gran especificidad.

Urea: muestra refrigerada a 4° C hasta su procesamiento.

Método Berthelot-Searcy: método *enzimático-colorimétrico*.

GOT (AST): (Transaminasa Glutámico Oxalacética; Aspartatoaminotransferasa)

Determinaciones a PH 7,4.

Cofactor→ Piridoxal fosfato (PP).

GPT (ALT): (Transaminasa Glutámico Pirúvica; Alaninaminotransferasa)

Determinaciones a PH 7,4.

Cofactor→ Piridoxal fosfato (PP).

GGT: (Glutamiltanspeptidasa): NO necesita cofactor.

Proteínas totales: -Electroforesis

-Inmunoelectroforesis

-Inmunodifusión radial

Métodos ⇒ ♦ Kjeldahl (poco utilizado porque es lento y complejo).

♦ BIURET: método de referencia

Es un método *COLORIMETRICO*.

♦ Métodos Refractométricos.

Sodio: Métodos ⇒ - Absorción atómica→ Fotometría de llama.

- *AUTOANALIZADORES* (es el más usado)→ Potenciometría (utiliza el método del “electrodo-ión-selectivo”).

Potasio: Métodos ⇒ 1- Gravimétricos

2- Turbidimétricos.

3- Absorción atómica.

- 4- Fotometría de llama.
- 5- Electrodo selectivos.

Calcio: Métodos \Rightarrow 1- Espectrofotométricos.
2- Complexométricos.
3- Fotometría de llama.
4- Espectroscopia de masas con dilución isotópica.

Magnesio: Métodos \Rightarrow 1-Métodos tradicionales: - Precipitación (en desuso).
- Complexometría.
- Fluorimetría.

2- Métodos Espectrofotométricos: se usan varios métodos, todos ellos adaptados para su uso en **autoanalizadores**:
- Azul de metilimol
- Método Calmagite: se determina mediante el espectrofotómetro.

3- **ABSORCIÓN ATÓMICA**: considerado el de referencia.

4- Otros métodos: - ACTIVACION NEUTRONICA CON DILUCIÓN ISOTÓPICA.
- Métodos enzimáticos.

Glucosa: 1- Basados en poder reductor de la glucosa: (en desuso) } Ortotoluidina
Reducción de Cobre

2- Enzimáticos : } Glucosa-oxidasa \rightarrow Polarografía
 \rightarrow por determinación del peróxido de hidrógeno (el método más usado es el de *TRINDER*).

Hexoquinasa: se mide la reacción en espectrofotómetros A 340 nm.

BIOQUÍMICA II

Valores de Referencia:

Sm- Aldolasa: 1-7,5 UI/L (a 30° C)
Sm- Mioglobina: 6-85 ng/ml
Sm- Inmunoglobulina G: 1044 (710-1540) mg/100ml
Sm- Inmunoglobulina A: 174 (60-490) mg/100ml
Sm- Inmunoglobulina M: Varón→ 87 (37-204) mg/100ml
Sm- Haptoglobina: 100-300 mg/100ml
Sm- Vitamina E: 5-20 microgramos/ml

Técnicas de medición:

Sm-Aldolasa: Métodos ⇒ -Enzimáticos.
- Espectrofotométrico U.V.

Sm-Mioglobina: Método ⇒ Inmunoturbidimétrico.

Sm-Inmunoglobulina G: Método ⇒ Nefelométrico.

Sm-Inmunoglobulina A: Método ⇒ Nefelométrico.

Sm-Inmunoglobulina M : Método ⇒ Nefelométrico.

Sm-Haptoglobina: Método ⇒ Inmunoturbidimétrico.

Sm- Vitamina E: Método ⇒ H.P.L.C.

HORMONAS

Valores de referencia:

Corticotropina (ACTH): - a las 10h.:20-80 pg/ml
- a las 22h.: ≤ 30 pg/ml
Cortisol: (a las 08:00 h.): 5-25 microgramos/100ml
Testosterona: 572 +/-135ng/100ml
Testosterona libre: 7,9 +/- 2,3 ng/dl
T₃: 230-660 pg/100ml
T₄: 5-12 microgramos/100ml
TSH: 2-10 microU/ml
LH: Varón adulto→ 6-23 mU/ml

Técnicas de medición:

Todas ellas se pueden determinar mediante varios métodos:

- ◆ Técnicas espectrofotométricas.
- ◆ Cromatográficas (**Cortisol**).
- ◆ Inmunoaglutinación.

- ◆ Inmunoquímicas {
 - Radioinmunoanálisis (RIA): **ACTH, TSH, T₃, T₄, LH, Cortisol y Testosterona.**
 - Enzimoimmunoanálisis (EIA).
 - Fluoroimmunoanálisis (FIA).

ANEXO 4

4a.

4b.

**INFORMACIÓN y CONSENTIMIENTO PARA PACIENTE SOBRE LA APLICACIÓN DE
FACTOR DE CICATRIZACIÓN DERIVADO DE PLAQUETAS (PRP-LOCAL).**

Estimado paciente sepa Ud. que:

- 1.- Debido a su enfermedad: Úlcera cutánea o lesión de osteonecrosis mandibular, su médico ha considerado dado que lleva largo tiempo de evolución con esa patología, probar un tratamiento alternativo con Factores de Cicatrización derivados de las Plaquetas.
- 2.- Tras la realización de analítica específica: Grupo de Sangre, Test de Coombs Indirecto y Serología Vírica se procede a la preparación del Plasma Rico en Plaquetas Local (PRP-local) a partir de una aféresis de plaquetas isogrupo de donante único.
- 3.- El PRP se conservará siempre en congelador hasta la administración.
- 4.- La administración del PRP será diaria en la zona de la úlcera y manteniendo tapada la misma durante 24 horas.
- 5.- Me comprometo a una vez a la semana acudir al Servicio de Transfusión, donde me darán el tratamiento para una semana.
- 5.- No están descritos efectos secundarios por esta técnica.
- 6.- Ante proceso infeccioso se deberá suspender el tratamiento.

He leído el texto arriba expuesto y el Dr. _____ me ha explicado satisfactoriamente que es, como se realiza y para qué sirve el tratamiento local que se me propone. He comprendido todo y he tenido ocasión de hacer preguntas que he considerado necesario.

Doy mi consentimiento para recibir dicho tratamiento

PUEDO RETIRAR ESTE CONSENTIMIENTO CUANDO LO DESEE.

Nombre y Apellidos del paciente _____

DNI: _____ N° Hª: _____

Fecha: _____

Firma: _____



**MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL PACIENTE O
COLABORADOR**

Le invitamos a participar voluntaria y desinteresadamente en un estudio científico promovido por la Universidad de León, titulado **“USO DE FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE LAS PLAQUETAS EN ÚLCERAS CUTÁNEAS Y OSTEONECROSIS MANDIBULAR SECUNDARIAS.”**

Si acepta participar en este estudio, sólo se le pedirá que responda a un cuestionario que recogen los datos necesarios para poder estudiar esa relación, así como una serie de pruebas, cuales son:

1.- Anamnesis clínica (historia clínica): sexo, edad, peso, talla, antecedentes, etc.

2.- Inspección y exploración física.

3.- Análisis sanguíneo: hematimetría, serie blanca, plaquetas, creatinina, colesterol, colesterol-HDL, triglicéridos, ácido úrico, pruebas de función hepática. Para su realización se utilizará el analizador *Beckman Coulter* ACT 5 Diff AL Analizador Hematológico.

Su participación en el estudio no conlleva ningún riesgo. Las pruebas no son invasivas. Las analíticas sanguíneas se realizarán en el servicio de Laboratorio del CAULE por personal de Enfermería especializado, y en condiciones estandarizadas.

Su participación en el estudio no conlleva ningún riesgo, insistimos. Su participación es voluntaria y puede usted retirarse del estudio en cualquier momento,



sin tener que dar explicaciones y con la seguridad de que su relación con el equipo médico que le trata no se verá alterada.

Este estudio se acoge a la ley 15/1999 de Protección de datos de Carácter Personal. Toda la información que de usted se obtenga para el estudio estará dissociada de su identidad e identificada con un código. Sólo el médico y los investigadores del estudio tendrán acceso a este código de identificación y a los datos que aporte. Estos serán usados únicamente con los fines y objetivos de este estudio concreto. De hecho, para su completa tranquilidad queremos aclararle que sus respuestas serán absolutamente confidenciales y no saldrán del ámbito investigador, y que los resultados nunca serán divulgados de manera individual. De acuerdo a la normativa vigente, tiene usted derecho al acceso, rectificación y cancelación de los datos proporcionados, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Sus datos serán tratados confidencial e informáticamente y se incorporarán a un fichero automatizado de datos de carácter personal, siendo responsable la el Dr. Jesús Seco que ha registrado dicho fichero.

Si tiene cualquier duda con respecto al estudio, plantéesele al médico que le ha invitado a participar en este estudio. Si desea más información, puede dirigirse a su coordinador (Dr. Jesús Seco. Tlf. 987 29 30 80 o jesus.seco@unileon.es).

En cumplimiento de la normativa vigente, es necesario que firme este consentimiento informado para que sus datos puedan ser analizados en este estudio.



Yo ¹

DNI/Pasaporte,

He leído la hoja informativa que me ha sido entregada ²

He tenido oportunidad de efectuar preguntas sobre el estudio.

He recibido respuestas satisfactorias.

He recibido suficiente información en relación con el estudio.

He hablado con el Dr./Investigador: Jesús Seco Calvo

Entiendo que la participación es voluntaria.

Entiendo que puedo abandonar el estudio:

- Cuando lo desee.
- Sin que tenga que dar explicaciones.
- Sin que ello afecte a MIS cuidados médicos.

También he sido informado de forma clara, precisa y suficiente de los siguientes extremos que afectan a los datos personales que se contienen en este consentimiento y en la ficha o expediente que se abra para la investigación:

- Estos datos serán tratados y custodiados con respeto a mi intimidad y a la vigente normativa de protección de datos.

- Sobre estos datos me asisten los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición que podré ejercitar mediante solicitud ante el investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.



•Estos datos no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.

Doy mi consentimiento sólo para la extracción necesaria en la investigación de la que se me ha informado y para que sean utilizados exclusivamente en ella, sin posibilidad de compartir o ceder éstas, en todo o en parte, a ningún otro investigador, grupo o centro distinto del responsable de esta investigación o para cualquier otro fin.

Declaro que he leído y conozco el contenido del presente documento, comprendo los compromisos que asumo y los acepto expresamente. Y, por ello, firmo este consentimiento informado de forma voluntaria para **MANIFESTAR MI DESEO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN TITULADO “USO DE FACTORES DE CRECIMIENTO DERIVADOS DE LAS PLAQUETAS EN ÚLCERAS CUTÁNEAS Y OSTEONECROSIS MANDIBULAR SECUNDARIAS.”**, hasta que decida lo contrario. Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos. Recibiré una copia de este consentimiento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

Nombre del paciente o sujeto colaborador:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:



Universidad de León

Nombre del investigador: Jesús Seco Calvo

DNI: 07865930E

Firma:

Identificación del Grupo/Instituto//Centro/Otros, responsable de la investigación, cuando no se trate de proyectos individuales: Jesús Seco Calvo

Fecha:

Dirección de contacto del Investigador y/o del Grupo....responsables de la investigación y del tratamiento de los datos:

NOTAS

¹ *Indicar el nombre completo*

² *Incorporar de forma inseparable o al dorso de éste documento.*



FORMATO DE PROTOCOLO: COMPROMISO DE CONFIDENCIALIDAD

La participación de las personas en el *Estudio “Uso de factores de crecimiento derivados de las plaquetas en úlceras cutáneas y osteonecrosis mandibular secundarias.”*, debe ser un acto voluntario e informado. Para asegurar este requisito, los/as participantes leerán y firmarán un Protocolo de Compromiso de Confidencialidad.

A continuación, se presenta un modelo de Protocolo de Compromiso de Confidencialidad para ser entregado a cada una de las personas participantes.

Este estudio *“Uso de factores de crecimiento derivados de las plaquetas en úlceras cutáneas y osteonecrosis mandibular secundarias”*, tiene como objetivo:

Comprobar el efecto del tratamiento con factores de cicatrización derivados de las plaquetas (*Plateled Derived Growth Factor, PDGF*) procedentes de aféresis de donante único, en el tratamiento de úlceras cutáneas secundarias a *Hydrea* y lesiones de osteonecrosis mandibular secundaria a bifosfonatos.

Es desarrollado por doña M^a Julia Vidán Estévez (Facultativo especialista en Hematología, Servicio de Hematología y Hemoterapia y actualmente trabaja en el Banco de Sangre del Complejo asistencial Universitario de León, CAULE), bajo la dirección del Dr. Jesús Seco Calvo (Universidad de León), y el Dr. Sergio Sánchez Herráez (Servicio de Traumatología y Cirugía Ortopédica del CAULE) en León.



Su participación es muy valiosa y por ello entendemos que lo más importante es la confianza que usted deposita en nuestro equipo de trabajo.

Como base de esta confianza,

Doña M^a Julia Vidán Estévez (Facultativo especialista en Hematología, Servicio de Hematología y Hemoterapia y actualmente trabaja en el Banco de Sangre del Complejo asistencial Universitario de León, CAULE), declara y se compromete a:

1. Tengo claro que para el ejercicio de las funciones u obligaciones durante la vigencia del estudio, me será suministrada y/o se producirá información relacionada tanto con los datos personales de usuarios de la entidad como con datos institucionales de tipo técnico, administrativo, salud y de cualquier otra naturaleza.
2. Que por tal motivo me será confiada dicha información y que la misma puede ser catalogada como privada, semiprivada o sensible de acuerdo a las definiciones establecidas por medio de la legislación vigente, la cual conozco y manifiesto entender.

En virtud de lo anterior me comprometo a

1. Guardar estricta reserva y secreto en relación con la información que me sea suministrada.



2. Asegurar el anonimato de su testimonio y para ello su nombre no será incluido en ningún informe.
3. Hacer el uso adecuado de la infraestructura y tecnología que me sea dispuesta para el manejo de la información.
4. Respetar y cumplir las disposiciones que me sean indicadas para la seguridad de la información.
5. Respetar y cumplir las restricciones de acceso que me sean definidas en los diferentes procesos de manejo de la información
6. Informar a la Gerencia Regional del SACYL o a las Direcciones Médicas respectivas del CAULE, según sea el caso, cuando se sospeche o se tenga conocimiento de hechos que pongan en riesgo o vulneren la seguridad de la información.
7. Conservar la información a la que tenga acceso bajo las condiciones de seguridad necesarias para impedir su adulteración, pérdida, consulta, uso o acceso no autorizado o fraudulento.
8. Manejar la información únicamente en los términos en que me sean autorizados.
9. Velar por el respeto a las condiciones de seguridad y privacidad de la información de los usuarios de la entidad.
10. Atender y tramitar los requerimientos que la Administración me efectúe para resolver consultas y reclamos formulados por usuarios con relación a sus datos.
11. Permitir el acceso a la información únicamente de las personas autorizadas para tal fin.
12. No publicar ni disponer la información puesta a mi conocimiento en internet u otros medios de divulgación o comunicación masiva.



Universidad de León

14. Su colaboración es voluntaria y por ello se respetará si hay temas de los que usted no desea se incluyan en la base de datos.

En señal de conformidad, le solicitamos firme un ejemplar de este Compromiso de Confidencialidad.

Si usted tiene alguna consulta o reclamación, puede dirigirse a Dr. Jesús Seco Calvo (nombre del responsable del equipo). Lo puede localizar en el teléfono 987 29 31 27 entre las 08:00 y las 13:00 hrs., o en la dirección de correo electrónico: jasecc@unileon.es

M^a Julia Vidán Estévez

Servicio de Hematología y Hematoterapia

Complejo asistencial Universitario de León, CAULE.

Dr. Jesús Seco Calvo

Responsable Equipo Investigador

Persona participante

Fecha, _____



Madrid, 23 de mayo de 2013

ASUNTO: RESOLUCIÓN POR LA QUE SE ESTABLECE LA CLASIFICACIÓN DEL USO TERAPÉUTICO NO SUSTITUTIVO DEL PLASMA AUTÓLOGO Y SUS FRACCIONES, COMPONENTES O DERIVADOS, COMO MEDICAMENTO DE USO HUMANO PARA ATENDER NECESIDADES ESPECIALES.

La Directora de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, en ejercicio de las competencias que tiene atribuidas en el artículo 14.2 del Estatuto de esta Agencia, aprobado por el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal “Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios”, y a tenor de los siguientes:

ANTECEDENTES DE HECHO

PRIMERO: El uso de los llamados «factores de crecimiento» u otras proteínas derivadas del uso terapéutico y no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados ha experimentado un notable crecimiento en los últimos años en muchas y diversas patologías y situaciones clínicas. De todos ellos, probablemente el que ha alcanzado un uso más extendido es el empleo de los factores de crecimiento de origen plaquetario con diferentes variantes metodológicas -comúnmente conocido como “*Plasma Rico en Plaquetas*” (PRP)-. Este uso ha sobrepasado en gran medida la capacidad de la comunidad científica para generar evidencia sobre sus beneficios, existiendo además cierta controversia sobre la consideración que deben tener estos productos.

SEGUNDO: La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) y un grupo de expertos externos, han elaborado conjuntamente un [informe sobre el uso del PRP](#), el cual puede ser consultado en su página web. Este informe recoge el marco del uso del PRP en España, las obligaciones que deben respetar sus fabricantes, y la información mínima que deben recibir los pacientes a quienes se les aplique.



FUNDAMENTOS DE DERECHO

PRIMERO: Es de aplicación al presente procedimiento lo establecido en la Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios; en la Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de noviembre, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos de uso humano; en el Reglamento (CE) nº 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de noviembre de 2007, sobre medicamentos de terapia avanzada; en el Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión; y en la Orden SCO/322/2007, de 9 de febrero, por la que se establecen los requisitos de trazabilidad y de notificación de reacciones y efectos adversos graves de la sangre y de los componentes sanguíneos.

SEGUNDO: Según la definición recogida en el artículo 8.a) de la Ley 29/2006, de 26 de julio, se considera *“medicamento de uso humano”* a *“toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico”*.

En consecuencia, atendiendo a la composición del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, el mecanismo de acción postulado así como a sus fines o indicaciones, cabe considerar la aplicación del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados como un medicamento de uso humano.

TERCERO: No obstante lo anterior, al plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados no le resulta de aplicación los aspectos regulatorios de los medicamentos de uso humano de producción industrial puesto que no puede ser considerado como un medicamento elaborado industrialmente o en cuya fabricación intervenga un proceso industrial.

A su vez, y 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, tampoco cabe considerar al plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados como un medicamento de terapia avanzada.

CUARTO: Por su parte, la Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 6 de noviembre, establece, en su artículo 5, que los Estados miembros podrán, de



acuerdo con la legislación vigente y con vistas a atender necesidades especiales, excluir de las disposiciones de dicha Directiva a los medicamentos elaborados de acuerdo con la prescripción de un facultativo reconocido y que los destine a un paciente individual bajo su responsabilidad personal directa.

A la vista de lo hasta aquí expuesto, el plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados es un medicamento de uso humano al que resulta de aplicación el artículo 5 de la Directiva 2001/83/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 6 de noviembre, y las disposiciones legales que trasponen dicha Directiva en nuestro país.

Por ello, cabe precisar que, en la consideración del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados como medicamento de uso humano, existen distintos aspectos regulatorios de estos medicamentos que le son de aplicación directa, como son:

1. Dada la propia redacción del artículo 5 de la Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, el uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados debe hacerse siempre sujeto a prescripción de médicos, odontólogos o podólogos, en el ámbito de sus competencias respectivas, no siendo susceptible de ser prescrito por otro tipo de profesionales sanitarios o no sanitarios.

El prescriptor será responsable de la elección del tipo de plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados en el marco de las diferentes alternativas terapéuticas para la patología en concreto de que se trate.

2. A su vez, el uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados debe ser considerado como un medicamento de dispensación bajo prescripción médica restringida, de utilización reservada a determinados medios especializados que, en todo caso, deberán contar con la autorización de las autoridades competentes. Por lo tanto, deberá ser prescrito por médicos, odontólogos o podólogos con la cualificación adecuada, con experiencia en el tratamiento, con el equipamiento o instrumentación adecuada, y en establecimientos, centros o servicios sanitarios que estén debidamente autorizados de acuerdo con la normativa vigente en las respectivas comunidades autónomas.

3. Por último, como cualquier otro medicamento sujeto a prescripción médica, queda prohibida cualquier tipo de publicidad destinada al público en general.

Por otro lado, se hace preciso señalar que, además de estos aspectos de aplicación directa al plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados en su consideración como medicamento de uso humano, será responsabilidad del prescriptor el cumplimiento de las garantías mínimas exigibles para este tipo de productos así como la



demostración de su cumplimiento ante las autoridades competentes en materia de inspección.

Estas garantías mínimas exigibles para el uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados son:

1. Garantías mínimas de calidad en la producción, para lo cual la Agencia y las comunidades autónomas establecerán criterios comunes al respecto tomando como referencia las normas de correcta fabricación.

2. Garantías mínimas de eficacia, respecto a las cuales, dada la escasez de ensayos clínicos de calidad para poder extraer conclusiones, la Agencia en colaboración con expertos y las principales sociedades científicas afectadas establecerá un listado que recogerá: aquellas condiciones en las que exista suficiente evidencia para recomendar el tratamiento con plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, aquellas en las que se haya demostrado que el beneficio/riesgo es negativo para las que se recomendará su no uso, y aquellas en las que será necesario realizar los correspondientes ensayos clínicos para aceptar dicho uso.

3. Garantías mínimas de trazabilidad, como medidas precisas de control, vigilancia y trazabilidad que impidan la transmisión de enfermedades infecciosas, de acuerdo con lo dispuesto en el Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, en lo que le resulte de aplicación, y de acuerdo, en todo caso, con el informe referenciado en el antecedente de hecho segundo.

4. Garantías mínimas de farmacovigilancia, en virtud de las cuales se deberán comunicar con celeridad a los órganos competentes en materia de farmacovigilancia de cada comunidad autónoma las sospechas de reacciones adversas de las que tengan conocimiento.

5. Garantías mínimas de correcta información sobre este tipo de productos, puesto que, aunque éstos no disponen de una ficha técnica autorizada, el paciente deberá recibir antes del uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados una información mínima que garantice que se cumple con los requisitos de calidad, los aspectos conocidos sobre su eficacia en la indicación concreta en la que va a ser utilizado, así como las ventajas de aplicar esta terapia sobre otras existentes, los riesgos conocidos y las formas en que cualquier posible reacción adversa puede ser notificada.



RESUELVE

Clasificar el uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados como medicamento de uso humano para atender necesidades especiales.

Este uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados se deberá realizar de acuerdo con las particularidades señaladas en la presente resolución y con el contenido del [informe sobre el uso del plasma autólogo y sus fracciones](#), componentes o derivados publicado en la página web de la Agencia. Este informe complementa en su totalidad la presente resolución, formando parte indivisible de la misma.

Consecuentemente, el uso del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados no precisará de la emisión de una autorización individual de esta Agencia para cada caso concreto.

Belén Crespo Sánchez-Eznarriaga



INFORME/V1/23052013

Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas

Fecha de publicación: 23 de mayo de 2013

24/05/2013 y 06/08/2013: corrección de errores (ver al final).

En los últimos años se ha experimentado un notable crecimiento en el uso de los llamados «factores de crecimiento» para muchas de patologías y situaciones clínicas. De todos ellos, quizá el que ha alcanzado un uso más extendido es el empleo de los factores de crecimiento de origen plasmático con diferentes variantes metodológicas, al que nos referiremos a lo largo del documento como Plasma Rico en Plaquetas (PRP).

Este uso generalizado del PRP ha sobrepasado en gran medida la capacidad de la comunidad científica para generar evidencia sobre sus beneficios. Existe, además, una cierta controversia sobre la consideración que debe tener el PRP. El objetivo del presente documento es establecer el marco de uso del PRP en España, las obligaciones que deben respetar sus fabricantes y la información mínima que deben recibir los pacientes a quienes se les aplique.

INTRODUCCIÓN SOBRE EL PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y SUS MODALIDADES

Las plaquetas son fragmentos citoplásmicos pequeños y sin núcleo derivados de sus precursores, los megacariocitos. Aunque tradicionalmente han sido consideradas como los agentes responsables de la hemostasia, las plaquetas juegan también un papel muy importante en la reparación y regeneración de diferentes tejidos (hueso, cartilago, tendones, ligamentos, etcétera). La activación plaquetaria tras un daño tisular o vascular produce: 1) un tapón plaquetario y un coágulo que permite la homeostasis y 2) la secreción de una gran variedad de moléculas (factores de crecimiento y otras citoquinas) (1-4).

La definición de PRP es muy controvertida. La única definición defendida consistentemente en la literatura, define el PRP como *un volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/μL)*(1).

El PRP se puede obtener de forma manual mediante “técnica abierta” o mediante kits desechables con “técnica cerrada”. Existen al menos 16 sistemas comerciales de separación de plaquetas, y han sido descritas diversas técnicas (diferente velocidad de centrifugación, doble centrifugación, etcétera).

Dependiendo del sistema empleado, las concentraciones de plaquetas, leucocitos, eritrocitos y factores de crecimiento pueden variar. Al utilizar los distintos métodos se obtienen diferentes fracciones, entre las que se encuentran: Preparado Rico en Factores de Crecimiento (PRGF), Plasma Rico en Plaquetas y Factores de Crecimiento (PRPGF), Plasma Rico en Plaquetas (PRP), Plasma Pobre en Plaquetas (PPP), Plasma Rico en Plaquetas y Rico en Leucocitos (LR-PRP), Plasma Rico en Plaquetas y Pobre en Leucocitos (LP-PRP).

Bajo la nomenclatura de PRP se engloban por tanto las diferentes fracciones, anteriormente citadas, que se pueden

obtener dependiendo del sistema empleado. Aunque se han realizado ensayos *in vitro* para determinar el contenido celular y molecular de los diferentes sistemas comerciales, aún no se conoce la influencia de estas diferencias en la práctica clínica. La tabla 1 muestra de forma esquemática las diversas proteínas contenidas en el PRP.

Categoría	Proteínas	Función
Proteínas Adhesivas	Factor Von Willebrand+Pro-péptido, Fibrinógeno, Fibronectina, Vitronectina, TSP-1, laminina-8 (subunidades de laminina alpha4- y alpha5-), SCUBE1	Interacción celular, hemostasia y coagulación, composición de la matriz extracelular.
Factores de coagulación y proteínas asociadas	Factor V/Va, proteína del tipo factor XI, multimerina, proteína S, quininógeno de alto peso molecular, antitrombina III, inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI)1	Producción de trombina y su regulación
Factores fibrinolíticos y proteínas asociadas	Plasminógeno, PAI-1, u-PA, alfa 2 antiplasmina, glicoproteína rica en histidina, TAFI, alfa 2 macroglobulina	Producción de plasmina y modelado vascular
Proteasas y anti proteasas	Inhibidores de metaloproteasas 1-4 (TIMPs 1-4), metaloproteasas -1, -2, -4, -9, ADAMTS 13, TACE, inhibidor plaquetario de FIX, proteasa nexina 2, inhibidor C1, inhibidor 8 de la proteasas serpina, alfa 1 antitripsina	Angiogénesis, modelado vascular, regulación de la coagulación, regulación del comportamiento celular
Factores de crecimiento	PDGF, TGF-beta 1 y 2, EGF, IGF-1, VEGF (A y C), bFGF (FGF-2), HGF, BMP-2, -4, -6, CTGF	Quimiotaxis, Proliferación celular y diferenciación, angiogénesis
Quimoquinas, citoquinas y otros	RANTES, IL8, MIP 1-alfa, ENA 78, MCP-3, alfa GRO, angiopoietina 1, IGF-BP3, IL-6sR, PF4, proteína básica plaquetaria, NAP-2, péptido III activador del tejido conectivo, HMGB1, FasL, LIGHT, TRAIL, alfa SDF 1, endostatinas, osteonectina, sialoproteína ósea	Regulación de la angiogénesis, modelado vascular, interacciones celulares, formación ósea
Proteínas antimicrobianas	Trombocidinas	Propiedades bactericidas y fungicidas
Glicoproteínas de membrana	αIIbβ3, αvβ3, GPIb, PECAM-1, la mayoría de los constituyentes de la membrana plasmática, receptores de los agonistas primarios, CD40L, factor tisular, P-selectina, TLT-1	Agregación y adhesión de plaquetas, endocitosis de las proteínas, inflamación, generación de trombina, interacciones entre plaquetas y leucocitos
Otros	Sulfato de condroitina 4, albúmina, inmunoglobulinas, disabled-2, semaforina	Promueve la angiogénesis la regeneración del cartilago, la fibrosis y la adhesión plaquetaria

TABLA 1: Descripción de la composición de proteínas y factores de crecimiento contenidos en un plasma rico en plaquetas (4)

CONSIDERACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO MEDICAMENTO

La Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos de uso humano y la Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios definen medicamento de uso humano como *«toda sustancia o combinación de sustancias que se presente como poseedora de propiedades para el tratamiento o prevención de enfermedades en seres humanos o que pueda usarse en seres humanos o administrarse a seres humanos con el fin de restaurar, corregir o modificar las funciones fisiológicas ejerciendo una acción farmacológica, inmunológica o metabólica, o de establecer un diagnóstico médico»*.

De este modo, 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.**

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.

La Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, establece, en su artículo 5, que los Estados miembros podrán, de acuerdo con la legislación vigente y con vistas a atender necesidades especiales, excluir de las disposiciones de dicha Directiva a los medicamentos elaborados de acuerdo con la prescripción de un facultativo reconocido y que los destine a un paciente individual bajo su responsabilidad personal directa.

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios considera, por lo tanto, que el PRP es un medicamento de uso humano que se puede utilizar al amparo del artículo 5 de la Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, y las disposiciones legales que transponen dicha Directiva en nuestro país.

CONSECUENCIAS DE LA CONSIDERACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO MEDICAMENTO DE USO HUMANO

Si bien, como se ha comentado, al uso del PRP no le son de aplicación los aspectos regulatorios de los medicamentos de uso humano de producción industrial, es responsabilidad de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios establecer qué requisitos mínimos ha de cumplir el PRP como medicamento de uso humano.

El principio básico que guía la autorización de cualquier medicamento es que cumpla con las debidas garantías de calidad, seguridad y eficacia. Estos principios rigen igualmente para el PRP y cualquier otro medicamento autólogo aunque será necesario, ocasionalmente, establecer normas específicas que garantizando una relación beneficio/riesgo positiva estén sin embargo ajustadas a las características del producto.

Con independencia de lo que se establece más adelante con respecto a las garantías de calidad, trazabilidad, farmacovigilancia y correcta información para el paciente, hay algunos aspectos que son de aplicación directa una vez establecida la condición de medicamento de uso humano.

En primer lugar, como cualquier otro medicamento de uso humano, y tal y como establece la legislación, es necesario establecer cuáles son las condiciones de prescripción. Dada la propia redacción del citado artículo 5 de la Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, al que se acogen este tipo de productos, el uso del PRP debe hacerse siempre sujeto a prescripción de médicos, odontólogos o podólogos, en el ámbito de sus competencias respectivas, no siendo susceptible de ser prescrito por otro tipo de profesionales sanitarios o no sanitarios.

En segundo lugar, dadas las características de producción y aplicación del PRP, cabe considerarlo como un medicamento de dispensación bajo prescripción médica restringida, de utilización reservada a determinados medios especializados que, en todo caso, deberán contar con la autorización de las autoridades competentes en materia de inspección. En otras palabras, sólo podrán prescribirse por médicos, odontólogos o podólogos con la 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.

Y en tercer lugar, como cualquier otro medicamento sujeto a prescripción médica, queda prohibida cualquier tipo de publicidad destinada al público en general.

Cabe destacar, finalmente, que existe cierta confusión en este tipo de producto autólogo entre los mecanismos o procedimientos de producción del medicamento y el medicamento en sí mismo. A este respecto, hay que recordar que la autorización como producto sanitario –y por lo tanto el correspondiente marcado CE otorgado por un Organismo Notificado dentro de la Unión Europea– únicamente certifica un mecanismo de producción, no el producto final que es lo que tiene consideración de medicamento.

GARANTÍAS EXIGIBLES PARA LA UTILIZACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN ESPAÑA

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios no considera necesaria una autorización caso por caso, pero en este documento se marcan las garantías mínimas exigibles para el uso de este tipo de productos, siendo responsabilidad del facultativo prescriptor la demostración de su cumplimiento ante las autoridades competentes en materia de inspección.

Garantías de calidad

Como se ha comentado anteriormente, existen diferentes modalidades de producción de PRP y es necesario establecer qué garantías mínimas de calidad en la producción, ajustadas al riesgo, le son de aplicación. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y las comunidades autónomas establecerán criterios comunes al respecto. En todo caso, y en todas ellas, el facultativo prescriptor será el responsable de garantizar su cumplimiento (aunque el procesado y la obtención sea realizada por un tercero).

En principio, en el caso de los métodos de obtención de PRP de forma manual con “técnica abierta”, el método empleado deberá ser evaluado desde el punto de vista de calidad; se deberá solicitar una inspección a la autoridad competente, la cual deberá verificar la adecuación de las instalaciones y de las actividades de producción y de control de calidad efectuadas, tomando como referencia lo establecido en las Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea.

En el caso de los métodos de obtención de PRP mediante kits desechables con “técnica cerrada”, el método empleado deberá seguir las instrucciones descritas en cada sistema comercial, no siendo necesaria la obtención de un certificado de adecuación de las instalaciones y de las actividades de preparación efectuadas, tomando como referencia lo establecido en las Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea. El kit empleado deberá disponer de marcado CE otorgado para dicho uso. La inspección por parte de las autoridades competentes se realizará en los casos en los que se estime oportuno.

Garantías de eficacia

Los campos en los que se ha aplicado el PRP son amplios, abarcando usos en odontología y cirugía máxilofacial (5,6), traumatología, medicina deportiva y reumatología (7-11), cirugía plástica, medicina estética, oftalmología, cirugía vascular, neurocirugía, otorrinolaringología, urología, quemados, dermatología o cirugía torácica (12-14). Hay que ser conscientes, sin embargo, que en pocas de estas indicaciones se han realizado

ensayos clínicos de la suficiente calidad como para poder extraer conclusiones. No obstante, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, en colaboración con expertos y las principales sociedades científicas afectadas, establecerá un listado de aplicaciones sobre las que existe evidencia de un balance beneficio riesgo favorable al uso de cada PRP, en el marco de las alternativas terapéuticas disponibles en la actualidad, y aquellas en las que será necesario realizar los correspondientes ensayos clínicos para aceptar dicho uso. Dicho listado será público y establecerá aquellas condiciones en las que exista suficiente evidencia como para recomendar el tratamiento en uno o varios tipos de PRP, aquellas en las que se haya demostrado que el beneficio/riesgo es negativo en las que se establecerá una recomendación de no uso, y aquellas en las que sean necesarias mayores evidencias. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios anima a los investigadores a realizar ensayos clínicos adecuadamente diseñados para establecer niveles de evidencia adecuados en cada una de las patologías y tipos de PRP.

Garantías de trazabilidad

Aun cuando se trate de productos derivados de la sangre, del plasma y el resto de sustancias de origen humano pero de carácter autólogo, el médico prescriptor deberá adoptar las medidas precisas de control, vigilancia y trazabilidad que impidan la transmisión de enfermedades infecciosas.

En el Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión (15). El Anexo V de este real decreto, sobre requisitos de calidad de la sangre y los componentes sanguíneos, ha sido modificado en la Orden SPI/2101/2011, de 22 de julio (16).

En la Orden SCO/322/2007, de 9 de febrero, se establecen los requisitos de trazabilidad y de notificación de reacciones y efectos adversos graves de la sangre y de los componentes sanguíneos (17). Mediante esta disposición se incorpora al ordenamiento jurídico interno la Directiva 2005/61/CE de la Comisión, de 30 de septiembre de 2005.

En este sentido, se le aplicará el Capítulo V sobre donación autóloga y autotransfusión del Real Decreto 1088/2005, en lo que corresponda.

Quedarán excluidas de la utilización de estos procedimientos las personas pertenecientes al grupo que se describe en el Anexo II, punto C, del Real Decreto 1088/2005, donde constan los criterios de exclusión permanente y temporal.

En cada donación deberán realizarse las pruebas analíticas que se indican en el Anexo III del Real Decreto 1088/2005, como requisitos de verificación para las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos. Estas pruebas analíticas no deberán seguir de modo obligado las normas de correcta fabricación de medicamentos, siendo suficientes las normas habituales de los laboratorios de hematología y/o análisis clínicos.

Los criterios de interpretación de las pruebas de detección de agentes infecciosos en las donaciones tendrán en cuenta lo contemplado en el Anexo IV del antes mencionado Real Decreto 1088/2005.

La aplicación del Plasma Rico en Plaquetas fuera de las condiciones establecidas en este documento solo se podrá realizar en el contexto de un ensayo clínico autorizado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o como tratamiento individual autorizado por parte de la Agencia como uso compasivo, para lo cual deberán presentar la solicitud

correspondiente debidamente justificada, sobre la base de un análisis individual beneficio/riesgo.

Garantías de farmacovigilancia

De acuerdo con el artículo 53.2 de la Ley 29/2006, de 26 de julio, los profesionales sanitarios tienen el deber de comunicar con celeridad a los órganos competentes en materia de farmacovigilancia de cada Comunidad Autónoma las sospechas de reacciones adversas de las que tengan conocimiento y que pudieran haber sido causadas por medicamentos. Dada la consideración de medicamento que tiene el PRP, esta obligación es extensiva a este tipo de productos.

La notificación seguirá los cauces establecidos para cualquier otro tipo de medicamento, recordando a los profesionales sanitarios la necesidad de notificar las sospechas de reacciones adversas. Todas las sospechas de reacciones adversas atribuidas al medicamento serán notificadas a través de la tarjeta amarilla a los Centros de Farmacovigilancia de cada Comunidad Autónoma.

Para mayor información sobre notificación de reacciones adversas, se puede consultar la web de la Agencia: <http://www.aemps.gob.es/vigilancia/medicamentosUsoHumano/S EFV-H/NRA-SEFV-H/home.htm>, así como el portal <https://www.notificaram.es/> para realizar directamente la notificación.

Garantías de información

Como se ha comentado anteriormente, el uso de cualquier medicamento está sujeto a la demostración de calidad, seguridad y eficacia. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios traslada la información necesaria a usuarios y profesionales a través de la ficha técnica y el prospecto del producto.

Aunque los productos como el PRP no disponen de una ficha técnica autorizada por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, el paciente debe recibir antes de su uso una información mínima que le garantice que se cumple con los requisitos de calidad, los aspectos conocidos sobre la eficacia del PRP en la indicación concreta en la que va a ser utilizado, así como las ventajas de aplicar esta terapia sobre otras existentes, los riesgos conocidos y las formas en que cualquier posible reacción adversa puede ser notificada. La Agencia, junto con las sociedades científicas implicadas, establecerá y publicará los criterios mínimos de información en cada una de las indicaciones y PRP revisados, tal y como se indica en el apartado de “garantías de eficacia”. Será responsabilidad del médico prescriptor garantizar que esta información mínima sea recibida por el paciente que se va a someter a un tratamiento con PRP.

Cumplimiento de los requisitos mencionados

El prescriptor será responsable de la elección del PRP en el marco de las diferentes alternativas terapéuticas para la patología en concreto de que se trate, así como del cumplimiento de los requisitos expuestos anteriormente.

REFERENCIAS

1. Wroblewski AP, Melia HJ, Wright VJ. Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Oper Tech Orthop* 2010; 20:98–105
2. Lozano ML. Fisiología de la hemostasia. En: Moraleda JM, editor. *Pregrado de Hematología*. 3ª ed. Madrid: Luzán 5, S.A.; 2011. p. 517-535
3. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62: 489–496.

4. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004;91:4-15.

5. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999;14:529-35.

6. 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

7. Sánchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Santisteban J, Mujika I. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. *Med Sci Sports Exerc.* 2003;35:1648-52.

8. Engebretsen L, Steffen K, Alsousou J, Anitua E, Bachl N, Devilee R, Everts P, Hamilton B, Huard J, Jenouire P, Kelberine F, Kon E, Maffulli N, Matheson G, Mei-Dan O, Menetrey J, Philippon M, Randelli P, Schamasch P, Schweltnus M, Verneq A, Verrall G. IOC consensus paper on the use of platelet-rich plasma in sports medicine. *Br J Sports Med.* 2010;44:1072-81.

9. McCarrel TM, Minas T, Fortier LA. Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94:e143(1-8)

10. Filardo G, Kon E, Pereira Ruiz MT, Vaccaro F, Guitaldi R, Di Martino A, Cenacchi A, Fornasari PM, Marcacci M. Platelet-rich plasma intra-articular injections for cartilage degeneration and osteoarthritis: single- versus double-spinning approach. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20:2082-91

11. Sánchez M, Fiz N, Azofra J, Usabiaga J, Aduriz Recalde E, Garcia Gutierrez A, Albillos J, Gárate R, Aguirre JJ, Padilla S, Orive G, Anitua E. A randomized clinical trial evaluating plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) versus hyaluronic acid in the short-term treatment of symptomatic knee osteoarthritis. *Arthroscopy.* 2012;28(8):1070-8.

12. Anitua E, Aguirre JJ, Algorta J, Ayerdi E, Cabezas AI, Orive G, Andia I. Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.* 2008;84:415-21.

13. Anitua E, Sánchez M, Orive G. Potential of endogenous regenerative technology for in situ regenerative medicine. *Adv Drug Deliv Rev.* 2010;62(7-8):741-52.

14. Anitua E, Orive G. Endogenous regenerative technology using plasma- and platelet-derived growth factors. *J Control Release.* 2012;157(3):317-20.

15. Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión. Disponible en: http://www.msc.es/profesionales/saludPublica/medicinaTransfusional/legislacion/docs/RD_1088-2005.pdf

16. Orden SPI/2101/2011, de 22 de julio, por el que se modifica el Anexo V del Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión. Disponible en: <http://www.boe.es/boe/dias/2011/07/28/pdfs/BOE-A-2011-12968.pdf>

17. Orden SCO/322/2007, de 9 de febrero, por la que se establecen los requisitos de trazabilidad y de notificación de reacciones y efectos adversos graves de la sangre y de los componentes sanguíneos. Disponible en: <http://www.boe.es/boe/dias/2007/02/17/pdfs/A07010-07016.pdf>

24/05/2013: corrección de errores materiales apreciados en la misma. Con esta fecha se ha corregido el texto correspondiente al apartado de garantías de calidad, en concreto donde dice:

La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y las comunidades autónomas establecerán criterios comunes al respecto. En todo caso, y en todas ellas, el facultativo prescriptor será el responsable de garantizar su cumplimiento (aunque el procesado y la obtención sea realizada por un tercero).

En principio, en el caso de los métodos de obtención de PRP de forma manual con “técnica abierta”,...

GRUPO DE EXPERTOS

(por orden alfabético)

Concepción Alonso Verduras

División de Productos Biológicos y Biotecnología. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid

Fernando Baró Pazos

Cirugía Ortopédica y Traumatología. Vicepresidente de la Sociedad Española de Traumatología del Deporte (SETRADE)

Miguel Blanquer Blanquer

Unidad de Trasplante y Terapia Celular. Servicio Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Pablo de Felipe Fernández

División de Productos Biológicos y Biotecnología. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid

María Eugenia Fernández Santos

Bióloga, Unidad de Producción Celular del Hospital Gregorio Marañón, Madrid. Grupo de Trabajo sobre Medicina Regenerativa de SETRADE.

Cristina Gómez- Chacón

Departamento de Inspección y Control de Medicamentos. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

Dulce Lopez Alañón

División de Productos Biológicos y Biotecnología. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid

José María Moraleda

Jefe de Servicio Hematología y Hemoterapia. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia

Sonia Moreno López

División de Productos Biológicos y Biotecnología. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid

Nuria Prieto Santos

División de Farmacología y Evaluación Clínica. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid.

Cristóbal Rodríguez Hernández

Cirugía Ortopédica y Traumatología. Presidente del Comité Científico de SETRADE

Sol Ruiz Antunez

División de Productos Biológicos y Biotecnología. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid

Francisco Salmerón García

División de Productos Biológicos y Biotecnología. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid

Mikel Sánchez Álvarez

Cirugía Ortopédica y Traumatología. Grupo de Trabajo sobre Medicina Regenerativa de SETRADE

Mariantonia Serrano Castro

Unidad de Ensayos Clínicos. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid.

Marcos Timón Jiménez

División de Productos Biológicos y Biotecnología. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid

Marta de Vicente Albendea

Departamento de Inspección y Control de Medicamentos. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Madrid.



06/08/2013: corrección de errores materiales apreciados en la misma. Con esta fecha se ha corregido el texto correspondiente al apartado de garantías de farmacovigilancia, en concreto donde dice:

Para mayor información sobre notificación de reacciones adversas, se puede consultar la web de la Agencia: <http://www.aemps.gob.es/vigilancia/medicamentosUsoHumano/SEFV-H/NRA-SEFV-H/home.htm>, así como el portal <https://www.notificaram.es/> para realizar directamente la notificación.



universidad
de león

D^a M^a José Diez Liébana, como Secretaria del Comité de ética de la Universidad de León

CERTIFICA que:

El proyecto ÉTICA-ULE-004-2016, titulado "Uso de factores de crecimiento derivados de las plaquetas en úlceras cutáneas y osteonecrosis mandibular secundarias" presentado por D. Jesús Seco Calvo ha recibido una **Evaluación favorable** por parte del Comité de ética.

Para emitir el informe los miembros del Comité de ética han verificado que el proyecto cumple con los requisitos recogidos en el artículo 4 del Reglamento del Comité de ética de la Universidad de León y que son:

- a) Comprobar la adecuación tanto del modelo como del procedimiento utilizado para obtener el consentimiento informado de la persona que participa o de la que se obtiene el material biológico.
- b) Velar por la garantía de la confidencialidad de los datos personales de los sujetos que participan en el procedimiento.
- c) Supervisar la idoneidad y acreditación de todos los participantes en los protocolos.

Y para que conste y a los efectos oportunos firmo el presente informe en León a tres de mayo de 2016



DIEZ LIEBANA, MARIA JOSE
(FIRMA)
c=ES,
serialNumber=09740445Z,
sn=DIEZ, givenName=MARIA
JOSE, cn=DIEZ LIEBANA,
MARIA JOSE (FIRMA)
2016.05.03 12:34:28 +02'00'

ESTUDIO:

TRATAMIENTO MEDIANTE AFÉRESIS FACTORES DE CRECIMIENTO PLAQUETARIO DE
DONANTE (PRP)

CATEGORIZACIÓN

[en rojo los datos que son relevantes para el estudio]

SEXO

Mujer: **0**

Varón: **1**

EDAD

50-54: 1

55-59: 2

60-64: 3

64-69: 4

70-74: 5

75-79: 6

80-84: 7

85-89: 8

[quizás se podrían agrupar por décadas:

50-59: **1**

60-69: **2**

70-79: **3**

80-89: **4]**

Diagnóstico hematológico

No diagnóstico hematológico (metástasis ósea carcinoma renal o úlceras Venosas tras cirugía vascular: **0**

Mieloma Múltiple (MM): **1**

Policitemia Vera (PV) o Trombocitemia esencial (TE) o Síndrome proliferativo crónico (SMPc) asociado a PV, o a TE: **2**

Diagnóstico que lleva al uso de PRP

Osteonecrosis: **0**

Úlceras crónicas: **1**

Patologías asociadas

Sin patologías asociadas: **0**

Diabetes mellitus (DM) + afecciones cardiovasculares: **1**

Sólo afecciones cardiovasculares [Hipertensión arterial (HTA), Cardiopatía isquémica (CI), Infarto agudo de miocardio [IAM], Fibrilación auricular [FA], arritmia cardiaca por FA, ictus isquémico/accidente cerebrovascular [ACV], estenosis fémoropoplitea, arteropatía distal, trombosis venosa profunda [TVP]: **2**

Otras (Prótesis Rodilla infectada, Injertos cutáneo, carcinoma renal): **3**

Hipertensión arterial (HTA) [CAT]

No: **0**

Sí: **1**

Diabetes Mellitus (DM) [CAT]

No: **0**

Sí: **1**

Quimioterapia previa CAT

No: **0**

Sí: **1**

Tratamiento con lesión a tratar

Sin tratamiento: **0**

Hydrea: **1**

Zometa: **2**

Grupo sanguíneo

Cero: **0**

A: **1**

B: **2**

Rh

Positivo: **0**

Negativo: **1**

Anticuerpos irregulares antieritrocitarios (AEI)

Positivo: **0**

Negativo: **1**

Serología

Positivo: **0**

Negativo: **1**

Hb [g/dl] [13,2 a 16,6 para los hombres y 11,6 a 15 g/dl para las mujeres.]

Normal: **0**

Elevada: **1**

Baja: **2**

Leucocitos [103/ml] media y rangos de referencia (rango normal) 7,8 (4,4-11,3)

Normal: **0**

Elevada: **1**

Baja: **2**

Plaquetas [103/ml] media y rangos de referencia (rango normal) 311 (172-450)

Normal: **0**

Elevada: **1**

Baja: **2**

Linfocitos [$\times 10^3/\mu\text{l}$]

Normal [1.300-4.100/mm³]: **0**

Elevada [linfocitosis >4.100]: **1**

Baja [linfopenia <1.300]: **2**

Colesterol [mg/dl]

Normal [125 a 200 mg/dL]: **0**

Elevada: **1**

Baja: **2**

Albúmina [g/dl]

Normal [3.4 a 5.4 g/dL]: **0**

Elevada: **1**

Baja: **2**

Localización de la lesión*

Mandibular: **0**

Arcada dental: **1**

Extremidad inferior (pierna): **2**

Tobillo-pie-dedos: **3**

*[se podría agrupar en Mandibular + Arcada dental: **0**; Extremidad inferior (pierna) + Tobillo-pie-dedo: **1**

Tamaño de la lesión (cms)

<2: **0**

2-3: **1**

>3: **2**

Grado

Leve: **0**

Moderado: **1**

Moderada-grave: **2**

Severa/grave: **3**

Tratamientos previos

Sin tratamiento previo: **0**

Cirugía: **1**

Cura local [apósito, apósito plata, pomada antibiótica, lámina de contacto cubierta de silicona o láminas con enzimas proteolíticas]: **2**

Duración de tratamientos previos

≥Dos meses: **0**

Tres meses: **1**

>Tres meses: **2**

Uso de prótesis dental

No prótesis: **0**

Semanas de tratamiento PRP

Menos de seis: **0**

Seis: **1**

De siete a diez: **2**

Más de diez: **3**

Situación actual

Remisión total: **0**

Remisión parcial: **1**

Mala evolución (infección): **2**

Suspensión tratamiento (ingreso en cirugía, desconocido): **3**

Hemograma**Serie Blanca**

Leucocitos	4.6	$10^3/\mu\text{L}$	4.4 - 11.5
------------	------------	--------------------	------------

Fórmula leucocitaria

	%	$10^3/\mu\text{L}$	Valores de referencia
Neutrófilos	55.1	2.53	2.00 - 8.00
Linfocitos	29.5	1.36	1.30 - 4.10
Monocitos	† 12.0	0.55	0.00 - 0.90
Eosinófilos	2.9	0.13	0.00 - 0.50
Basófilos	0.5	0.02	0.00 - 0.20

Serie Roja

Hematies	4.86	$10^6/\mu\text{L}$	4.20 - 5.90
Hemoglobina	16.0	g/dL	13.0 - 17.0
Hematocrito	44.5	%	39.0 - 50.5
VCM	91.6	fL	80.0 - 100.0
HCM	32.8	pg	26.0 - 33.4
CHCM	† 35.9	g/dL	31.0 - 35.5
ADE	12.7	%	10.0 - 16.0
Reticulocitos %	1.0	%	0.4 - 2.5
Reticulocitos Abs	49.09	$10^3/\mu\text{L}$	21.00 - 130.00

Serie Plaquetar

Plaquetas	214	$10^3/\mu\text{L}$	150 - 450
Volumen Plaquetar Medio	7.1	fL	6.0 - 12.0
Plaquetocrito	0.2	%	0.1 - 0.5
ADP	16	%	8 - 18

Comentario Hemograma:**Hemograma revisado**

VSG	2.00	mm	0.00 - 15.00
-----	-------------	----	--------------

PARAMETROS BIOQUIMICOS SUERO

GLUCOSA	82	mg/dL	[70 - 110]
UREA	42	mg/dL	[16 - 49]
AC.URICO	4.43	mg/dL	[3.4 - 7]
CREATININA	0.93	mg/dL	[0.7 - 1.2]
Estimación CKD-EPI Hombre >0.9	92	mL/min/1.73m ²	
<p>Multiplicar por 1,159 si el paciente es de raza negra.</p> <p>> 90: F. G. Normal</p> <p>60 - 90: F.G. Normal o compatible con IRC estadio 1 o 2 (si persiste durante 3 o más meses).</p> <p>30 - 59: F.G. compatible con IRC estadio 3 (si persiste durante 3 o más meses).</p> <p>15 - 29: F.G. compatible con IRC estadio 4 (si persiste durante 3 o más meses).</p> <p>< 15: F.G. compatible con IRC estadio 5 (si persiste durante 3 o más meses).</p>			
AST	23	UI/L	[0 - 40]
ALT	16	UI/L	[0 - 41]
ALP	49	UI/L	[40 - 130]
GGT	31	UI/L	[10 - 71]
PROT.TOT	7	g/dL	[6.4 - 8.5]
COLEST TOT	* 210	mg/dL	
	Deseable: <200	Limitante: 200-250	Indeseable: >250
TRIGLICERIDOS	114	mg/dL	
	Deseable: <150	Limitante: 150-350	Indeseable: >350
HDL COLESTEROL	* 74	mg/dL	
	HOMBRE Deseable: >45	Limitante: 35-45	Indeseable: <35
	MUJER Deseable:>55	Limitante: 35-55	Indeseable: <35
LDL COLESTEROL	* 113	mg/dL	
	Deseable: <100	Limitante: 100 - 150	Indeseable: >150
INDICE ATEROGENICO	2.84	mlg/100	[0 - 4.5]
<p>Colesterol total/ HDL colesterol</p>			
CALCIO	9.5	mg/dL	[8.2 - 10.2]
FOSF INORG	3.28	mg/dL	[2.7 - 4.5]
LDH	195	U/L	[135 - 250]

BILIRRUBINA TOT.	0.58	mg/dL	[0.1 - 1.4]
HIERRO	145	µg/dL	[59 - 158]
TRANSFERRINA	257	mg/dL	[200 - 360]
INDICE SATURACION TRANSFERRINA	* 56	%	[17 - 48]
FERRITINA	177	ng/mL	[30 - 400]
ALBUMINA	4.39	g/dL	[3.5 - 5.2]
COLORO	103	mmol/L	[98 - 107]
SODIO	142	mmol/L	[135 - 145]
POTASIO	4.2	mmol/L	[3.5 - 5.1]

INDICES SERICOS: INTERFERENCIAS ANALITICAS.

HEMOLISIS (0-10):	0
TURBIDEZ (0-5):	1
ICTERICIA (0-10):	0

PRUEBAS REUMATICAS

P.C.REACTIVA	1.5	mg/l	[0 - 5]
--------------	-----	------	-----------

ANEMIAS

ACIDO FOLICO	16.50	ng/mL
--------------	-------	-------

Indices de referencia

Bajo: < 2.1 ng/ml

Indeterminado: 2.1 - 4.20 ng/ml

Normal: 4.20 - 19.90 ng/ml

VITAMINA B-12	722	pg/mL	[197 - 771]
---------------	-----	-------	---------------