

IMUCOT TERAPIA BIOLÓGICA

Dres. Fernando Santonja Medina y Antonio Pastor Clemente

PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO

¿Qué son los factores de crecimiento?

Son proteínas que desarrollan funciones esenciales en los procesos de reparación y regeneración de los tejidos. Se encuentran en muchas células y partes del organismo (macrófagos, células endoteliales, monocitos, fibroblastos, matriz ósea, plaquetas).

Estas proteínas intervienen en la relación entre células y transmiten la información al interactuar con los receptores celulares que están en la membrana celular.

Son los encargados de desencadenar efectos biológicos como la migración celular, la proliferación y la diferenciación celular; procesos fundamentales para la reparación y regeneración de los tejidos.

Estos factores de crecimiento se encuentran en el interior de las plaquetas. Estos factores son:

- PDGF (Platelet Derived Growth Factor) Se encuentra en los gránulos alfa de las plaquetas y en otras células. Favorece la angiogénesis, favorece pasos intermedios en la formación del tejido óseo. Aumenta la tasa de proliferación de células stem.
- TGF- β (Transforming Growth Factor β). Se encuentra en grandes cantidades en las plaquetas. Aumenta la síntesis de proteínas derivadas del colágeno tipo I y V; también aumenta la mineralización de la matriz ósea e inhibe la formación de los osteoclastos (disminuye la reabsorción ósea).
- FGF (Factor de crecimiento fibroblástico). Se encarga de controlar la proliferación, diferenciación y otras funciones celulares derivadas del mesodermo y neuroectodermo; el TGF- β es capaz

de inhibir o potenciar su efecto dependiendo del tipo celular sobre el que actúa. Produce la estimulación de la angiogénesis por un mecanismo directo así como la estimulación y coordinación de la mitosis de múltiples tipos celulares durante el crecimiento animal, mantenimiento y reparación tisular.

- VEGF (Factor de crecimiento vascular endotelial). Efecto angiogénico, que es vital para la formación de vasos sanguíneos y con ello de nutrientes al tejido en regeneración.
- EGF (Factor de crecimiento epidérmico).
- IGF (Factor de crecimiento insulínico. Tipo I) Aumenta la formación de hueso induciendo la proliferación celular, la diferenciación y la biosíntesis de colágeno tipo I.

Las plaquetas son elementos celulares pequeños que no poseen núcleos, circulan en sangre periférica durante unos 8-10 días y, además de su función de hemostasia, contienen varios factores de crecimiento que han sido sintetizados por el megacariocito, recogiendo además durante su recorrido sanguíneo proteínas plasmáticas que almacenan en su interior. Estos factores de crecimiento son liberados en las zonas donde hay daño tisular, al romperse las plaquetas y salir su contenido al exterior.

El término **Platelet-Rich plasma (PRP)** engloba muchas denominaciones, como concentrado de

plaquetas, geles de plaquetas, PCCS, AGF, PG, PRF, PRGF, por lo que los PRPs no son un producto único (1, 2).

A partir de ahora hablaremos de **PRGF** (Plasma Rico en Factores de Crecimiento) ya que **no** preparamos concentrados plaquetarios sino PLASMA ENRIQUECIDO EN PLAQUETAS que es un término acuñado para describir un plasma que contiene por **encima de 300-350.000 plaquetas/μL**, pero que además **no** contiene leucocitos y **no** utiliza trombina bovina para coagular.

Se ha comprobado que para que se produzca la máxima eficacia terapéutica tiene que haber una concentración plaquetaria mayor de un millón de plaquetas por microlitro.

Los métodos de obtención de PRP deben asegurar al menos esa concentración. Son varias las técnicas utilizadas para la obtención de este plasma rico en plaquetas. Hay una serie de elementos críticos a tener en cuenta tales como la composición del producto (plaquetas, concentración de GF (Factores de crecimiento), presencia o no de leucocitos, volumen de sangre necesario (Anitua E, Mikel S. et al J Biomedical Mat Res A 2008) ¹.

PRGF SYSTEM. Este sistema se ha desarrollado basado en las investigaciones del Dr. Eduardo Anitúa siendo comercializado por BTI System.

El sistema cuenta con la certificación CE de las autoridades sanitarias europeas, por lo que el PRGF System está autorizado en Europa para la obtención de factores de crecimiento plasmáticos y su aplicación en diversas especialidades médicas. En USA se comercializa con la denominación ENDORET (www.bti-implant.es//www.prgf.es)

Es un sistema que permite la obtención de un plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) a partir de un volumen pequeño de sangre (desde 5cc hasta la cantidad necesaria dependiendo del tamaño de la lesión a tratar).

Se puede preparar en el entorno de una consulta de forma sencilla y es fácilmente reproducible. El tiempo entre la extracción y la obtención del PRGF suele precisar de unos 20 minutos.

El sistema PRGF es la única técnica descrita y patentada que **no** requiere el uso de trombina bovina o cualquier otro hemoderivado.

Es la única técnica que permite la obtención de un concentrado exclusivamente plaquetario. **La exclusión de los leucocitos** evita la presencia de las interleucinas pro-inflamatorias. Metaloproteasas (MMPS) MMP 8 y 9 que degradan el colágeno tipo I.

Se usa la sangre del paciente (por lo que es AUTÓLOGO) sin manipulación ni adición de ningún otro producto.

El PRGF es un líquido activo en el que la coagulación se produce "in vivo".

Durante todo el proceso se ha de trabajar en condiciones de asepsia (esterilidad). Se precisa que los médicos que lo realicen tengan la experiencia necesaria para su correcto procesamiento.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PRGF SYSTEM

Se realiza una punción venosa en una vena periférica, se toman todas las medidas de asepsia necesarias en el lugar de la extracción obteniéndose un volumen de sangre entre 20 y 60cc.

Esta sangre es recogida en tubos con interior estéril utilizando el citrato sódico como anticoagulante. Estos tubos son centrifugados siguiendo la técnica de centrifugación PRGF.

Tras la centrifugación se obtiene la separación de los diferentes contenidos de la sangre (Figura 1), con lo que se consigue concentrar las plaquetas en la zona inmediatamente superior a la serie roja y que los leucocitos se sedimenten en una capa inmediatamente por encima de los hematíes; esto permite que un operador entrenado pueda recoger el PRGF sin ninguna contaminación de leucocitos.



Figura 1.- Obtención del plasma tras la centrifugación.

La fracción plasmática se divide en tres fracciones (Figura 2): el volumen de estas fracciones puede variar en función del hematocrito de cada paciente. La Fracción 1 (F1) contiene un número de plaquetas similar a la sangre periférica y se utiliza cuando es necesario para la preparación de un soporte de fibrina. La fracción dos (F2) contiene un número mayor de plaquetas; la fracción tres (F3) es la que contiene el **plasma rico en factores de crecimiento** en las proporciones óptimas para su uso terapéutico.

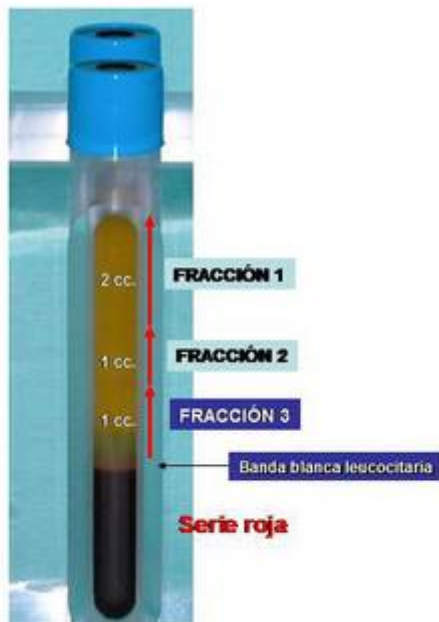


Figura 2.- Fracción tres que contiene el PRGF.

La extracción de de estas fracciones se realiza con el uso de pipetas estériles.

Todo el proceso se realiza en estrictas condiciones de esterilidad (Figura 3).

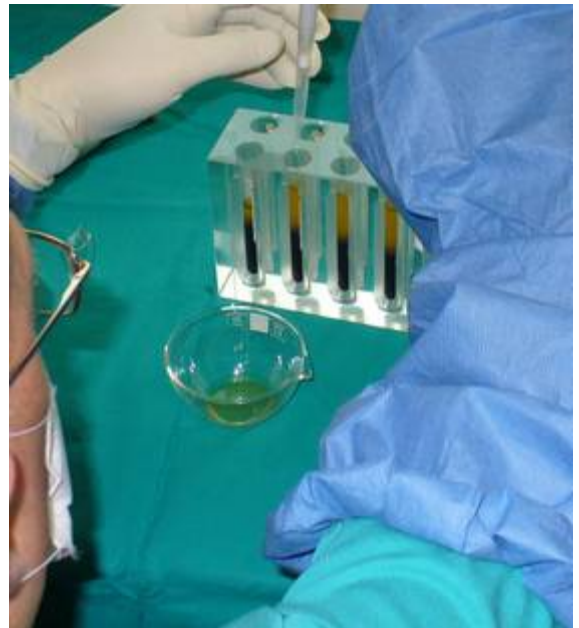


Figura 3.- Pipeteado para la precisa obtención de la fracción tres.

Una vez obtenidas las diferentes fracciones, éstas son recogidas en recipientes estériles y ya se puede aplicar en la zona deseada.



Figura 4.- Aplicación intra-tendinosa en el tendón rotuliano.

La activación de este plasma se realiza con cloruro cálcico. Se aplica en forma líquida en las infiltraciones intra-articulares, lesiones tendinosas y en las musculares, con lo que la coagulación ocurrirá directamente en la zona de aplicación (Figura 4).

Para las heridas, se obtiene un coágulo rico en factores de crecimiento que es maleable y fácilmente aplicable en una zona concreta (Figura 5).

Cuando la superficie a tratar es extensa podemos utilizar la fracción 1 (F1) rica en fibrina para que sirva de barrera.



Figura 5.- Aplicación de coágulo de PRGF en una úlcera en la rodilla.

UTILIZACIÓN CLÍNICA:

La utilización clínica de los PRGF está suponiendo un avance en el tratamiento de muchas enfermedades.

Se utiliza en diferentes campos de la Medicina como Cirugía Máxilo-Facial, Implantología, Cirugía Ortopédica y Traumatología, Medicina del Deporte, Cirugía Cardíaca así como en el tratamiento de problemas dermatológicos (úlceras cutáneas, defectos cutáneos) y en cirugía estética (rejuvenecimiento facial).

En los últimos años gracias a la aplicación de esta técnica a destacados deportistas españoles de diferentes deportes, ha hecho que el interés haya aumentado de forma importante (Figura 6 y 7) ^{2,3}.



Figura 6.- El Mundo 11-7-2010.

Actualmente se continúan realizando numerosos estudios para ahondar en el

conocimiento y validar los diferentes usos terapéuticos.



Figura 7.- El Mundo 11-7-2010

USOS MÁS FRECUENTES EN NUESTRO MEDIO:

- **ENFERMEDADES ARTICULARES DEGENERATIVAS (ARTROSIS):** La aplicación de plasma rico en factores de crecimiento es un nuevo enfoque terapéutico mínimamente invasivo para enfermedades como la artrosis (Figuras 8, 9 y 10).

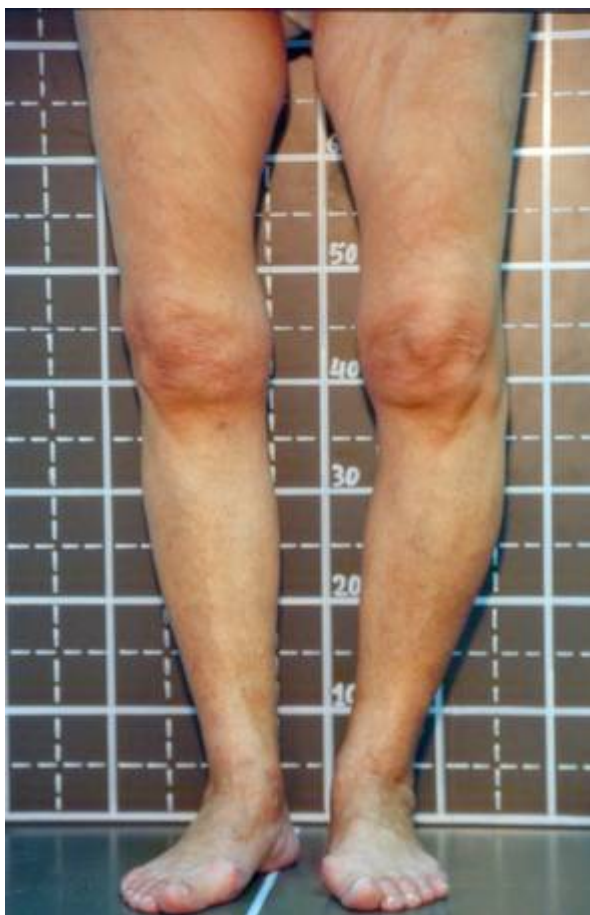


Figura 8.- Artrosis de rodillas.



Figura 10.- Artrosis cadera de varón joven.

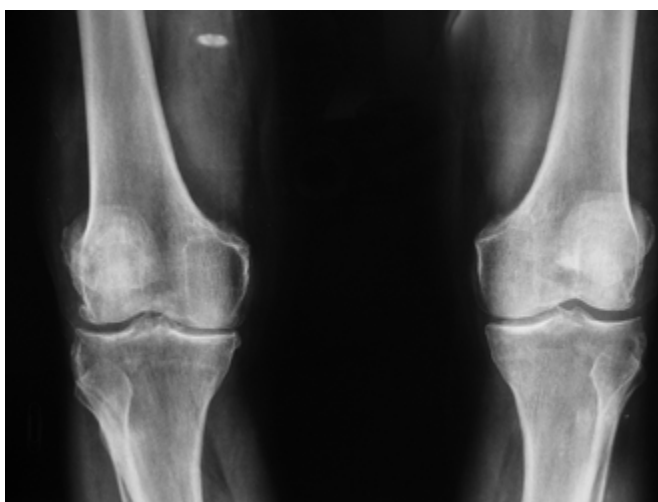


Figura 9.- Rx A-P de una paciente con gonartrosis derecha.

Estudios realizados por diferentes investigadores han demostrado su efectividad en las distintas fases de la enfermedad.

En pacientes con menor afectación articular se están obteniendo resultados alentadores, debido al efecto condro-protector y restaurador del equilibrio fisiológico que aporta esta nueva terapia. Las investigaciones previas y las que actualmente se están realizando, orientan en el sentido de retrasar el avance de la enfermedad^{4,5,6} (Figura 11).

Se está comparando el efecto beneficioso del PRGF en relación con otras aplicaciones como el Acido Hialurónico. Los estudios realizados^{4,5} permiten afirmar que el tratamiento con PRGF es superior al obtenido con la aplicación de Ac. Hialurónico.



Figura 11.- Diario de Alava 25-01-07. E. Anitua y Mikel Sánchez.

Si se valoran los síntomas que produce la artrosis como el dolor, la rigidez y la incapacidad funcional, utilizando escalas específicas validadas internacionalmente, se observa que el 61% de los pacientes experimentan una disminución significativa del dolor y una recuperación mensurable de su capacidad de movimiento; del mismo modo se ha comprobado que la rigidez articular disminuye en el 41% de los pacientes tratados ^{4,5}.

La eficacia clínica del PRGF en la articulación es atribuida a varios efectos:

1. Efecto anabólico en el metabolismo del cartílago.
2. Bloqueo en la degradación del mismo.
3. Restitución del ambiente fisiológico en la articulación inhibiendo la inflamación y disminuyendo el dolor.

En los casos en los que se aprecia líquido sinovial inflamatorio, al realizar la artrocentesis (evacuación del exceso de líquido que existe en el interior de una articulación) e introducir el plasma (PRGF), éste actúa sobre la membrana sinovial y los sinoviocitos estimulando la producción de ácido hialurónico y otras moléculas bio-activas. El resultado de estos cambios es la mejoría en la calidad del líquido sinovial, la disminución de la inflamación y del dolor.

Mikel Sánchez y col ⁵ tras tratar a más de 500 pacientes con esta patología, encuentran una mejoría clínica global en el 65% de ellos a los dos meses de iniciarse el tratamiento; esto se traduce en una notable mejora de la función articular y por ende un mejor estándar de calidad de vida.

- **PATOLOGÍA TENDINOSA:** Es en las lesiones tendinosas donde existe mayor número de evidencias científicas sobre el uso beneficioso del PRGF ^{7,8, 9, 10,11}. Se ha comprobado que el PRGF induce la **proliferación de los tenocitos y la síntesis de un potente factor angiogénico y un potente factor anti-fibrótico**. En las lesiones tendinosas puede acelerar las fases catabólicas delimitando la zona lesionada y promover la angiogénesis y la formación de células fibro-vasculares. En las roturas agudas del tendón de Aquiles Sánchez M y col. ⁹ han demostrado en un grupo de atletas que la aplicación de PRGF durante el acto quirúrgico de la reparación en la zona de la

sutura y zonas adyacentes, procura una más rápida ganancia del rango de movimiento del tobillo, un menor número de complicaciones post-quirúrgicas y una más rápida vuelta a la carrera. Gandía ¹⁰, en lesiones tendinosas crónicas de más de 6 semanas de evolución (tendinopatía de Aquiles, epicondilitis, tendinopatía rotuliana y del supraespinoso) logra un 92% de buenos resultados (de ellos un 70% excelentes) y solo en el 8% los da como malos al no apreciar mejoría. Los aplica intra-tendinosamente bajo control ecográfico en la zona lesionada con una periodicidad cada tres semanas y con un programa de rehabilitación específico.

En la epicondilitis es donde existen resultados más espectaculares ^{12,13} con nivel de evidencia científica 2 y 1. Los pacientes tratados experimentan mejoría clara y evidente en relación a los tratamientos convencionales, y esta mejoría se mantiene durante mayor tiempo, siendo definitiva en la mayoría de los casos.

- **PATOLOGÍA MUSCULAR:** Es donde hasta hace poco tiempo existía una mayor controversia respecto a la aplicación de PRGF. Los estudios que se están realizando apuntan hacia una disminución del tiempo de curación con una vuelta más rápida a la actividad habitual. La aplicación se realiza previa localización de la lesión muscular con ecografía y eliminación del hematoma y su aplicación de PRGF en la zona lesionada.

- **CIRUGÍA ARTROSCÓPICA:** Se ha utilizado en el tratamiento de lesiones del cartílago articular ^{14,15,16}, al ayudar a que pueda adherirse mejor a la zona, favoreciendo la regeneración de los tejidos y una más rápida recuperación de las lesiones. En la reconstrucción del ligamento cruzado anterior las complicaciones post-quirúrgicas son menores, la remodelación biológica e incorporación del injerto del tendón en el interior del túnel así como la consolidación radiográfica de los túneles óseos fue mejor y el número de rodillas estables fue mayor.



Figura 12.- Valoración ecográfica de la cadera. Nosotros los estamos utilizando tras la cirugía artroscópica de la cadera en el Síndrome Fémoro-Acetabular y en lesiones del labrum (Figuras 12, 13 y 14).



Figura 14.- Aplicación de los PRGF en la articulación de la cadera.

- **CIRUGÍA PERCUTANEA:** Nosotros estamos aplicando los PRGF en las osteotomías al facilitar una más rápida recuperación e impresionando que favorece el proceso de formación del callo óseo (Figuras 15, 16).



Figura 13.- Visión ecográfica de la cabeza femoral y de la aguja intra-articular.



Figura 15.- Cirugía del antepié por sistema MIS.

- **CIRUGÍA ORTOPÉDICA.** En los retardos de consolidación e incluso en la falta de unión de una fractura cuando el proceso biológico normal de la cicatrización deja de actuar. En cirugía protésica el PRGF mejora la integración de los componentes protésicos en el hueso trabecular, permitiendo su rápida y adecuada ósteo-integración, mejorando consecuentemente su estabilidad.



Figura 16.- Misma paciente de la Fig 15 a las 6 sem. de la cirugía MIS. Formación del callo óseo en todas las osteotomías.

- **NECROSIS DE LA PIEL POSTQUIRÚRGICAS. ÚLCERAS CUTÁNEAS CRÓNICAS.** Se ha visto que tras un cuidadoso desbridamiento y eliminación de la infección, la aplicación de PRGF en forma de coágulo cubriendo la herida, junto a la infiltración de los bordes con PRGF ayuda a una más rápida cicatrización. Es de utilidad en necrosis cutáneas post-quirúrgicas en zonas poco irrigadas o con patologías asociadas como diabetes (Figuras 17).



Figura 17 a.- Necrosis piel post-quirúrgica.



Figura 17 b.-. Herida post-quirúrgica (17a):Trás limpieza y desbridamiento de los bordes aplicación de PRGF en forma líquida..



Figura 17 c.- Aplicación del coágulo de PRGF.



Figura 17 d. Periodo final a las 5 semanas.



Figura 17 e. Curación a las 7 semanas.

También en úlceras por presión o de decúbito (Fig. 18 y 19).



Figura 18.- Úlcera en el maleolo peroneal por presión.



Figura 19.- Úlceras por decúbito en la espalda.

- **REGENERACIÓN FACIAL.** El conocimiento de los mecanismos implicados en la regeneración tisular ha impulsado a desarrollar tratamientos de bioestimulación cutánea mediante la utilización de factores de crecimiento.

Anitúa E, Sánchez M y col ² han realizado un estudio comparando los resultados de la aplicación facial de PRGF intradérmico y con la aplicación de Acido Hialurónico, apreciando que ambos son efectivos en el tratamiento del envejecimiento facial pero el efecto de los pacientes tratados con PRGF fue más prolongado y el grado de satisfacción por el tratamiento fue mayor en el caso de los tratados con PRGF.

CONDICIONES PREVIAS A CUMPLIR POR EL PACIENTE QUE VA A SER SOMETIDO A APLICACIÓN DE PRGF EN IMUCOT

1. **No** debe de presentar en el momento de la aplicación **enfermedad infecciosa activa**.
2. Si está en tratamiento con medicamentos que afecten a la coagulación sanguínea, **DEBE** ponerlo en nuestro CONOCIMIENTO.
3. **No** debe realizar comidas copiosas ni ricas en grasas el día anterior.
4. **DEBE DE GUARDAR UN AYUNO DE 4 HORAS PREVIO A LA EXTRACCIÓN.**
5. Se tomará a modo de prevención un antibiótico 4 horas antes (prescrito por nuestro equipo médico).

“DE INTERÉS PARA EL PACIENTE”

Es interesante hacer unas reflexiones sobre este tratamiento que está demostrando beneficios para muchos pacientes, pero que por lo novedoso y atractivo que se presenta hace que se esté empezando a generalizar su uso en algunos casos de forma inadecuada.

Debemos considerar que:

1. Es un tratamiento médico que debe ser realizado por médicos y personal sanitario cualificado. El personal debe tratar la muestra (sangre) en modo estéril y aplicarla con las máximas condiciones de asepsia.
2. El proceso tiene fecha de caducidad, es decir se debe de realizar todo dentro de un tiempo limitado (máximo-3 horas) ya que en caso contrario el plasma se desnaturaliza y pierde sus propiedades.
3. El resultado final es la obtención de un concentrado de plasma rico en plaquetas, que tiene **coloración amarillenta** y está exento de leucocitos y hematíes.
4. Si no se inyecta la fracción más rica (Fracción 3) se estará administrando un plasma pobre en Factores de Crecimiento, que tendrá menor poder terapéutico.
5. Si no se **indica**, se **realiza** y se **aplica** de forma correcta esta técnica, al final no lograremos los beneficios terapéuticos esperados.

BIBLIOGRAFIA REFERENCIADA

1. Anitua E, Sánchez M et al. Shedding light in the controversial terminology for Platelet-rich plasmas. *J. Biomed Mat Res A* 2008.
2. Anitua E, Sánchez M, et al. Potencial terapéutico de la tecnología del PRGF. *Tecnología PRGF* 2008 1: 3-18
3. Sánchez M, Anitua E, Orive G, Mujika I, Andia I. Platelet-Rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. *Sports Med.* 2009; 39(5):345-354.
4. Anitua E, Sánchez M, et al. Platelet-released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients. *Rheumatology* 2007; concise report 1-4.
5. Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Aguirre, Andia I. Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. *Clinical and Experimental Rheumatology* 2008; 26: 910-913.
6. Filardo G, Kon R, Burda R, Tinwocini A, Dimartino A, Cenacci Fornasari PM, Giannini S, Marcacci M. Platelet-rich plasm intra-articular knee injections for traitment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis. *UNED Surg Sports Traum Arthrosc.* 2010 Aug 26 [Abstract].
7. Anitua E, Andia I, Sánchez M, et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res.* 2005; 23:281-286.
8. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Orive G, Azofra J, Andia I. Autologus fibrin matrices: A potencial source of biological mediators that moulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res A* 2006; 77:285-293.
9. Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andia I, Padilla S, Mujika I. Comparison of Surgicall Repaired Achilles Tendon Tears using plateled-Rich fibrin marices. *Am J Sports Med.* 2007; 35: 245-251.
10. Gandia J. Aplicación de factores plasmáticos en tendinosis. Comunicación en Congreso Nacional de FEMEDE, Sevilla 2007.
11. de Mos M, van Der Wi, Jahr H, van Schie H, Weinans H, Verharar J, van Os G. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair?. A cen culture study. *Am J Sports Med.* 2008; 36: 1171-1178.
12. Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med.* 2006; 34:1774-1778.
13. Peerbooms J, Sluimer J et al. Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blin randomized controlled trial. *Am J Sports Med.* 2010; 38:255-262.
14. Sánchez M, Azofra J, Aizpurúa B, Elorriaga R, Anitua E, Andia I. Aplicación de plasma antólogo rico en factores de crecimiento en cirugía artroscópica. *Cuadernos de Artroscopia* 2003; 19(1):12-20.
15. Sánchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Santiesteban J, Mujika I. Plasma rich in growth factors to treta an articular cartilage avulsión; a case report. *Med Sci Sports Exer* 2003; 35(10):1648-1652.
16. Fleming B, Spindler K et al. Collagen-Platelet composite improve the biomechanical properties of healing anterior cruciate ligament grafts in a porcine model. *Am J Sports Med.* 2009 37:1554-1563.

OTRA BIBLIOGRAFÍA DE INTERÉS

17. Engert, JC et al. Proliferation precedes differentiation in IGF-1 stimulated myogenesis. *J. Cell Biol* 1996; 135: 431-440.
18. Damon SE et al. Retrovirally mediated over-expression of insulin-like growth factor binding protein 4:evidence that insulin-like growth factor is required for skeletal muscle differentiation. *J. Cell. Physiol* 1998; 175:109-120.
19. Brunner G y Blakytyn R. Extracellular regulation of TGF-beta activity in wound repair: growth factor latency as a sensor mechanism for injury. *Thromb Haemost* 2004; 92:253-61.
20. Anitua E et al. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004; 91:4-15.
21. Franchini, M y cols. Efficacy of platelet gel in reconstruction bone surgery. *Orthopedics* 2005; 28:161-3.
22. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andia I. New insights into an novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol* 2006; 5:227-234.
23. Young-Jin Ju, et al. Effect of local administration of vascular endothelial growth factor of properties of the in situ frozen-thawed anterior cruciate ligament in rabbits. *Am J Sports Med.* 2006; 34: 84-91.
24. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Azofra J, Andia I. Reciprocal actions of platelet-secreted TGF- β_1 on the production of VEGF and HGF by human tendon cells. *Plastic Reconstruct Surg* 2007;119: 959.
25. Foster T, Brian L et al. Platelet-rich Plasma. From basic science to clinical applications. *Am J Sports Med.* 2009; 37:2259-2272.
26. Bendinelli P et al. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet rich plasm on human chondrocytes; Mechanisms of NF-KB inhibition via HGF. *J Cell Physiol* 2010 Jun 21 [Abstract].