



UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

Escuela Universitaria de Enfermería

Trabajo Fin de Master: Proyecto de Investigación

Uso del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF-Endoret) en úlceras por presión en personas institucionalizadas en Centros Socio Sanitarios. Un Ensayo Clínico Controlado y Aleatorizado

The use of Plasma Rich in Growth Factors (PRGF-Endoret) in the treatment of pressure ulcers in patients institutionalized at nursing homes. A randomized clinical trial

Autor: Iñaki Barañano Gonzalez

Tutor del trabajo: Dr. Miguel Santibañez Margüello

Julio 2017

AGRADECIMIENTOS

Estas primeras líneas que encabezan este trabajo han sido redactadas, necesariamente, en último lugar, ya una vez terminado el trabajo, no puedo dejar de evocar desde el correr de mi memoria todo este periodo de estudio y trabajo, y conectar con recuerdos y sentimientos que desde el inicio del Máster han ido surgiendo y que me han hecho vivenciar este curso como algo más allá del aprendizaje de unos conocimientos.

Ha sido un período de aprendizaje intenso, no solo en el campo clínico asistencial, sino también a nivel personal. Realizar este máster y este trabajo ha supuesto un gran impacto en mí y es por eso que me gustaría agradecer a todas aquellas personas que me han ayudado y apoyado durante este proceso.

Quiero, en primer lugar, agradecer a todos y cada una de mis compañeras y compañeros su enorme calidad humana, su implicación, su amistad y el derroche de generosidad que con su continuo conocimiento y empuje han sido un apoyo fundamental en la consecución de este Máster, sin su continua presencia considero que me hubiese sido muy difícil poder realizarlo satisfactoriamente.

Particularmente me gustaría nombrar a mi tutor, Dr. Miguel Santibáñez por haber confiado en mí y, además, por su valiosa ayuda y generosidad en la dedicación de su tiempo y conocimiento, prestándome constante apoyo y atención, que han dado un empujón fundamental.

Al equipo organizativo del Máster, encabezado por el Dr. Jaime Zabala por darme la oportunidad de crecer profesionalmente, a Sandra Pazos, incombustible y de paciencia infinita, por estar siempre ahí. Y a todo el equipo de docentes por su generosidad en la transmisión de sus conocimientos

Finalmente, a mi familia, por su comprensión, paciencia y amor.

Gracias

ÍNDICE

1.	RESUMEN&ABSTRACT	5
2.	JUSTIFICACIÓN.....	8
3.	ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA.....	10
3.1	Ulceras por presión definición.....	10
3.2	Estructura de la piel	11
3.3	Epidemiología.....	15
3.4	Clasificación de las UPP.....	15
3.5	Localización más frecuente de las UPP	19
3.6	Complicaciones.....	21
3.7	Valoración del riesgo de las UPP	21
3.8	Proceso de reparación tisular	22
3.9	Tratamiento actual de las UPP.....	23
3.9.1.-	Tratamiento de las UPP	23
3.9.2.-	Qué tratamiento terapéutico utilizar	23
3.9.3.-	Evaluación de la calidad de la evidencia	24
3.9.4.-	Formulación de las recomendaciones.....	27
3.10	Plaquetas	28
3.10.1.-	Qué hacen las plaquetas.....	29
3.10.2.-	Contenido plaquetario	30
3.10.3.-	Factores de crecimiento	32
3.10.4.-	Proceso de regeneración tisular	42
3.10.5.-	Plasma rico en plaquetas y plasma rico en factores de crecimiento	46
3.10.6.-	Terapia PRGF-Endoret.....	48
4.	HIPOTESIS Y OBJETIVOS	54
4.1	Hipótesis	54
4.2	Objetivos.....	54

5.	MÉTODOLOGIA.....	55
5.1	Diseño del estudio.....	55
5.2	Ámbito y periodo de estudio	55
5.3	Tamaño muestral	57
5.4	Intervención	58
5.5	Variables y recogida de datos	63
5.6	Análisis estadístico	63
5.7	Consideraciones éticas.....	64
5.8	Limitaciones	64
6.	CRONOGRAMA Y PLAN DE TRABAJO.....	66
6.1	Cronograma	66
6.2	Plan de trabajo	67
	ANEXO I.....	68
	ANEXO II	73
	BIBLIOGRAFIA	74

1. RESUMEN

Las úlceras de presión son un problema de salud importante hoy en día debido a su alta prevalencia y las repercusiones en el estado de salud de quienes las sufren, predominantemente entre las personas mayores, que están confinadas en cama o en silla.

El plasma rico en plaquetas (PRP) ha sido ampliamente utilizado como una opción terapéutica para el tratamiento de heridas crónicas de diferentes etiologías. En los últimos años, su uso ha aumentado notablemente en una serie de enfermedades y contextos.

El uso del propio plasma y plaquetas del paciente como terapia está proporcionando nuevas vías en el tratamiento de lesiones agudas y crónicas de los tejidos mediante la promoción de la reparación y regeneración de los mismos.

El plasma rico en factores de crecimiento (PRGF-Endoret) se presenta como una nueva tecnología terapéutica endógena que está ganando interés en la medicina regenerativa para el tratamiento de heridas crónicas de diferentes etiologías, incluyendo úlceras de presión, debido a su potencial para estimular y acelerar la cicatrización de tejidos.

Las terapias basadas en plasma y plaquetas imitan el proceso de reparación fisiológica liberando factores de crecimiento autólogo y creando un andamio natural, biodegradable y transitorio que actúa como matriz transitoria.

Objetivo: Determinar la eficacia del tratamiento PRGF-Endoret en úlceras por presión de larga duración en pacientes de edad avanzada.

Material y Métodos: Ensayo clínico multicéntrico, controlado y aleatorizado con 2 brazos paralelos:

- a) Tratamiento con plasma rico en factores de crecimiento (grupo intervención).
- b) Tratamiento convencional (grupo control). Se incluirán los primeros 200 pacientes consecutivos que cumplan los criterios de inclusión.

El tiempo de cicatrización completa de la herida, en días, será considerada la variable resultado principal (primary endpoint).

El dolor, superficie y volumen de UPP, y las puntuaciones en la Escala PUSH, serán tratados como variables dependientes.

Para las variables categóricas o discretas se estimarán proporciones con sus correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC95%).

Para las variables continuas se estimarán medias con su desviación estándar o medianas y rangos intercuartílicos en caso de distribuciones asimétricas.

Se usarán modelos de regresión lineal múltiple al comparar los test utilizados para analizar las variables respuesta cuantitativas mediante la diferencia de medias ajustada por las principales variables confundidoras.

Se utilizará el programa informático SPSS 22.0 para realizar el análisis estadístico de los datos, considerando un nivel de significación estadística de 0,05 para todos los contrastes de hipótesis, realizándose todas las pruebas bilaterales.

Palabras clave: Úlceras por presión, Plasma rico en factores de Crecimiento, Plasma rico en plaquetas, Regeneración del tejido, Autólogo, Factores de Crecimiento

TITLE:

The use of Plasma Rich in Growth Factors (PRGF-Endoret) in the treatment of pressure ulcers in patients institutionalized at nursing homes. A randomized clinical trial.

ABSTRACT

Pressure ulcers are a significant health problem nowadays due to their high prevalence and their repercussions in the state of health of those who suffer them: predominately among elderly persons, who are confined to bed or chair.

Platelet-rich plasma has been largely used as a therapeutic option for the treatment of chronic wounds of different etiologies. In recent years, their use has increased notably in a range of diseases and settings.

The use of patient's own plasma and platelets as therapeutics is providing new avenues in the treatment of acute and chronic tissue injuries by promoting tissue repair and regeneration.

Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) is an endogenous therapeutic technology that is gaining interest in regenerative medicine for the treatment of chronic wounds of different etiologies (including pressure ulcers), due to its potential to stimulate and accelerate tissue healing.

Plasma and platelet-based therapies mimic the physiological repair process by releasing autologous growth factors and creating a natural, biodegradable and transient scaffold that acts as transient matrix.

Objectives: To determine the efficacy of PRGF-Endoret treatment in long-term pressure ulcers in elderly patients.

Materials and Methods: Controlled multicentric randomized trial with 2 parallel arms:

- a) Treatment with plasma rich in growth factors (intervention group).
- b) Conventional treatment (control group). The first 200 consecutive patients who meet the inclusion criteria will be included.

The time of complete wound healing, in days, will be considered the primary endpoint variable.

The pain, surface and volume of UPP, and the scores in the PUSH Scale, will be treated as dependent variables.

For categorical or discrete variables, proportions with their corresponding 95% confidence intervals (95% CI) will be estimated. For continuous variables, means will be estimated with their standard deviation or medians and interquartile ranges in the case of asymmetric distributions.

Multiple linear regression models will be used when comparing the tests used to analyze the quantitative response variables using the difference of means adjusted by the main confounding variables.

The SPSS 22.0 software will be used to perform the statistical analysis of the data, considering a level of statistical significance of 0.05 for all the hypothesis tests, all bilateral tests being performed.

Key words: Pressure ulcers, Plasma rich in growth factors, Platelet rich plasma, Tissue regeneration, Autologous, Growth factors

2. JUSTIFICACION

Las úlceras de presión (UPP) son lesiones cutáneas de etiología isquémica que afectan a la integridad de la piel y tejidos subyacentes existiendo en ocasiones pérdida de sustancia, que es producida por la presión prolongada o fricción entre dos planos duros, uno perteneciente al paciente y otro externo a él (1).

Cuando las heridas tienen una evolución tórpida de más de 6 semanas, se las considera úlceras crónicas (2), impactando de forma intensa sobre los pacientes en términos de deterioro de la salud (3, 4) reducción de la calidad de vida (5, 6) y sobre los sistemas de salud, en términos económicos (7, 8).

La aparición de las úlceras por presión, es una complicación habitual en los pacientes institucionalizados (centros socio-sanitarios y residencias geriátricas, hospitales) y que las variables edad, pluripatología, plurifarmacología, nutrición, estado cognitivo y emocional, situación social y familiar inciden de diferentes maneras tanto en la aparición de las heridas como en el pronóstico de curación de las mismas (9). En el 4º Estudio Nacional de Prevalencia de UPP en España realizado en 2013, la prevalencia obtenida para centros socio sanitarios fue del 13,41% (IC 95%: 12,6-14,2%), dato similar al 11% de Estados Unidos (10).

El avance en el tratamiento de las heridas crónicas, ha supuesto un salto cualitativo en la mejora y calidad asistencial de los pacientes que padecen estas patologías. Sin embargo, en nuestro día a día nos enfrentamos a heridas que no mejoran a pesar del tratamiento adecuado (11).

En Plasma Rico en Factores de crecimiento (PRGFR-Endoret) es una nueva tecnología cuyo objetivo es la regeneración de los tejidos lesionados. Fue a principios de 1990 cuando se inició su aplicación en cirugía maxilofacial, donde se observó sus propiedades como formador de hueso, efecto antiinflamatorio y antibacteriano. Sin embargo, el PRGF no solo contiene plaquetas sino plasma con fibrina y otros factores de crecimiento que le aportan otras propiedades y que influyen en la reparación de los tejidos.

Aunque el envejecimiento poblacional constituye uno de los fenómenos sociológicos más importantes, a nivel mundial y también a nivel español, las investigaciones referidas a la biogerontología y a la gerontología clínica se han puesto en marcha mucho más tarde que en el resto de especialidades. Este retraso, todavía no superado, determina que los conocimientos en este ámbito sean más pobres comparándolos con los de otras ramas de la medicina.

Adicionalmente, la avanzada edad de la población estudiada, es una dificultad y limitación añadida en los estudios de investigación, sobre todo para la realización de los de carácter longitudinal, diseñados para un seguimiento a medio y largo plazo.

A pesar del gran número de publicaciones tanto experimentales como clínicas al respecto de la utilidad del PRP en distintos ámbitos de la Medicina Regenerativa, pocas son las indicaciones en las que se encuentra plenamente demostrada, hecho que pone de manifiesto la importancia de realizar estudios clínicos metodológicamente adecuados para mejorar la evidencia sobre su utilización (12, 13).

Se desprende entonces, la necesidad de la investigación en diferentes áreas: el Área Biológica o Biogerontológica desde su perspectiva sobre los mecanismos del envejecimiento, el Área Clínica que se encarga de todos los aspectos más o menos específicos en relación a las patologías del anciano y el Área de Ciencias Sociales y del Comportamiento, de difícil resumen pero que se constata diariamente en el trabajo de hospitales, centros de atención primaria y centros sociosanitarios.

Este ensayo clínico necesariamente debe de tener en cuenta todos estos factores y desde una visión de conjunto, que abarcará las tres áreas antes mencionadas, realizando un enfoque holístico al tratamiento de las heridas crónicas

3. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA.

3.1 Úlceras por presión: definición (14)

En la práctica asistencial, las úlceras por presión UPP constituyen uno de los problemas más comunes y al mismo tiempo constituyen la paradoja de ser un problema evitable (95% de los casos según *Pam Hibbs, citado por JWaterlow en "Waterlow J Pressure sore prevention manual. Taunton, 1996"*). El conocimiento de esta realidad, hace que el abordaje e implementación de medidas preventivas y curativas se haya convertido en el reto diario de todos los profesionales sanitarios, especialmente el sector de la enfermería.

Podemos definir las úlceras por presión (UPP), como lesiones de la piel de origen isquémico y que afecta a la integridad cutánea y tejidos subyacentes, existiendo en ocasiones pérdida de sustancia, que es producida por la presión prolongada o fricción entre dos planos duros, uno perteneciente al paciente y otro externo a él (1).

El **mecanismo etiopatogénico** por el que se desarrollan las UPP está asociado, entre otros factores, a tres tipos de fuerzas que son: **presión, fricción y cizallamiento** o bien una combinación de éstas (15), y la **humedad**.

La presión es una fuerza que actúa perpendicular a la piel como consecuencia de la gravedad, que provoca un aplastamiento tisular entre dos planos, uno perteneciente al paciente (como puede ser el plano esquelético, las prominencias óseas) y otro externo a él (como puede ser un sillón, una cama, sondas, etc.) (16).

La fricción es una fuerza tangencial que actúa paralelamente a la piel, produciendo roces, por movimientos o arrastres, y que provoca la pérdida del estrato córneo. En el paciente, encamado o sentado, el roce con las sábanas o superficies rugosas produce fuerzas de fricción, sobre todo en las movilizaciones, al arrastrar al paciente, provocando que la piel pierda capas de barrera y tenga más riesgo de infección (17).

El cizallamiento se genera cuando se combinan los efectos de presión y fricción. La producción de fuerzas paralelas de dos superficies adyacentes que se deslizan una sobre otra, por ejemplo, si está sentado en una cama en posición de Fowler, esto es, en posición semi-sentado con el cabecero de la cama elevado unos 45 grados y con las piernas ligeramente flexionadas.

La humedad: Un control ineficaz de la humedad puede provocar la aparición de problemas cutáneos como la maceración. La incontinencia mixta (fecal y urinaria), sudoración profusa, mal secado de la piel tras la higiene y el exudado de heridas producen deterioro de la piel y edema, disminuyendo su resistencia, haciéndola más predispuesta a la erosión y ulceración. La humedad aumenta también el riesgo de infección.

Además de estas fuerzas, existen otros factores de riesgo que pueden contribuir a la aparición de úlceras y que se pueden agrupar en factores extrínsecos e intrínsecos. Los factores intrínsecos derivan de los diferentes problemas de salud o alteraciones físicas del paciente y entre ellos se incluyen (18):

- Deficiencias motoras (inmovilidad, paresia, parálisis).
- Deterioros sensitivos (pérdida de la sensación del dolor).
- Edad avanzada.
- Alteraciones nutricionales, tanto por defecto como por exceso.
- Incontinencia (fecal y urinaria).
- Deterioro cognitivo o alteración del estado de conciencia (coma, estupor, confusión).
- Adhesión a tratamientos que aumentan la vulnerabilidad de los tejidos a la formación de UPP (fármacos inmunosupresores, sondajes, drenajes).

Cuando a pesar de los cuidados administrados estas heridas tienen una evolución tórpida de más de 6 semanas, se las considera úlceras crónicas (13).

3.2 Estructura de la Piel

La piel es un órgano que reviste y protege la superficie externa del organismo. Histológicamente, está compuesta por tres capas principales que son, de fuera adentro: **la epidermis, dermis e hipodermis**, a las que se le asocian los anexos cutáneos (19).

- ✓ **Epidermis.** Formado por cuatro tipos de células, es un epitelio plano y estratificado que presenta cinco estratos.
- ✓ **Estrato Basal.** Constituye el estrato germinativo, donde se inicia la proliferación de los queratinocitos. Y en el que se intercalan los melanocitos (almacenamiento de melanina), las células de Merkel (forman parte del sistema celular endocrinodifuso, y funcionan como mecano receptoras, relacionadas

con las terminaciones nerviosas sensitivas) y las células de Langerhans (células presentadoras de antígenos).

- ✓ **Estrato Espinoso.** Está formado por varias capas de células poliédricas que van queratiniándose y se unen entre ellas por puentes intercelulares denominados Desmosomas.
- ✓ **Estrato Granuloso:** Células planas que contiene queratohialina.
- ✓ **Estrato Lúcido:** Rico en Eleidina (lipoproteína hidrófoba) (solo presente en la palma de las manos y planta de los pies).
- ✓ **Estrato córneo:** Células queratinizadas planas y anucleadas.

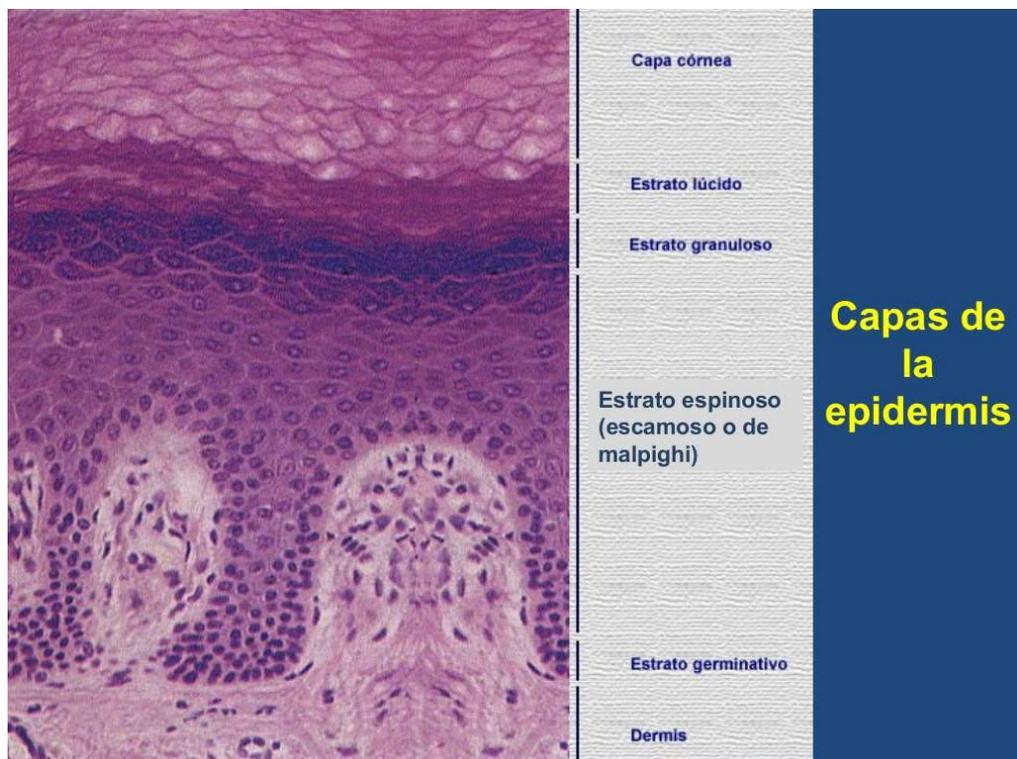


Figura 1: Capas de la epidermis.

Fuente: <https://es.slideshare.net/BrendaAuroraTafurHoyos/histologia-de-la-piel-17554964>

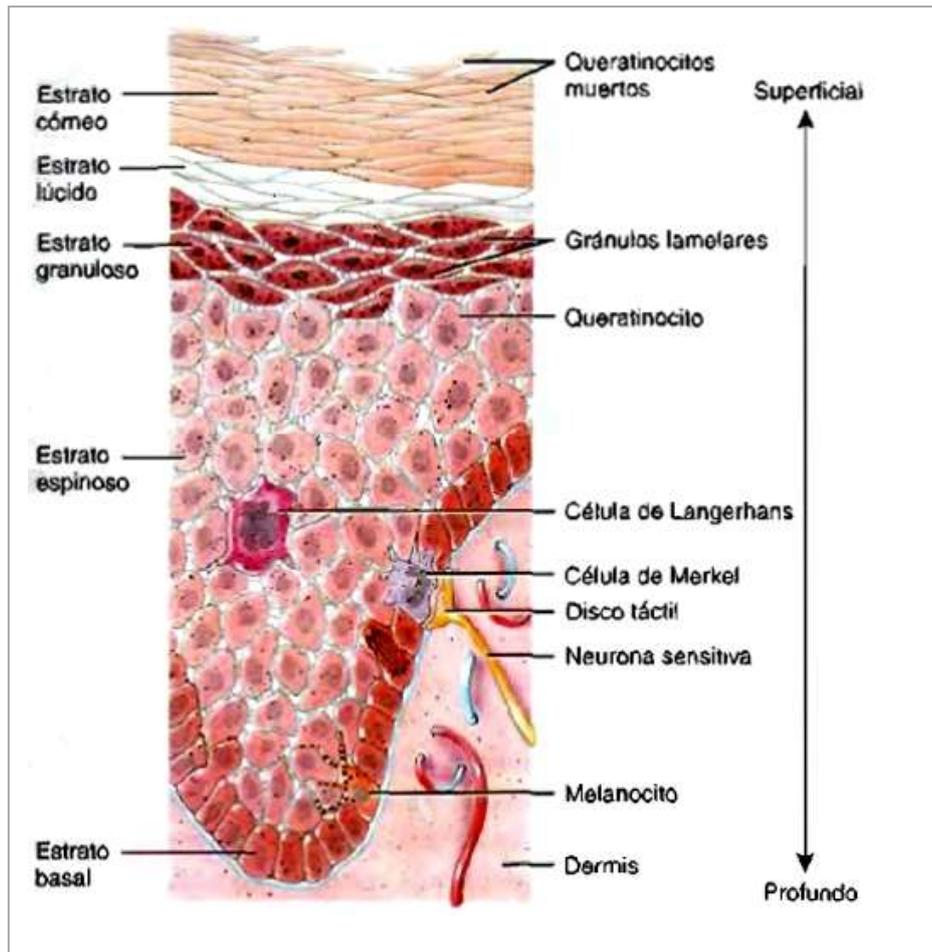


Figura 2: Cuatro tipos principales de células epidérmicas y sus anexos cutáneos.

Fuente: <https://www.ulceras.net/monograficos/>

- ✓ **Dermis.** Por debajo de la epidermis, se clasifica en tres capas: la capa superficial o papilar, la capa media o reticular y la capa profunda. Está compuesta de tejido conectivo cuyas fibras proteínicas son el colágeno (tipo I fundamentalmente), proteínas reticulares y elásticas. La red vascular está basada en un plexo superficial y otro profundo unidos ambos por una red paralela y vasos linfáticos. Además, estas estructuras, coexisten con plexos nerviosos y anexos cutáneos. Las células que se encuentran dispuestas en la dermis son, los fibroblastos, los histiocitos, los mastocitos y plasmocitos fundamentalmente.

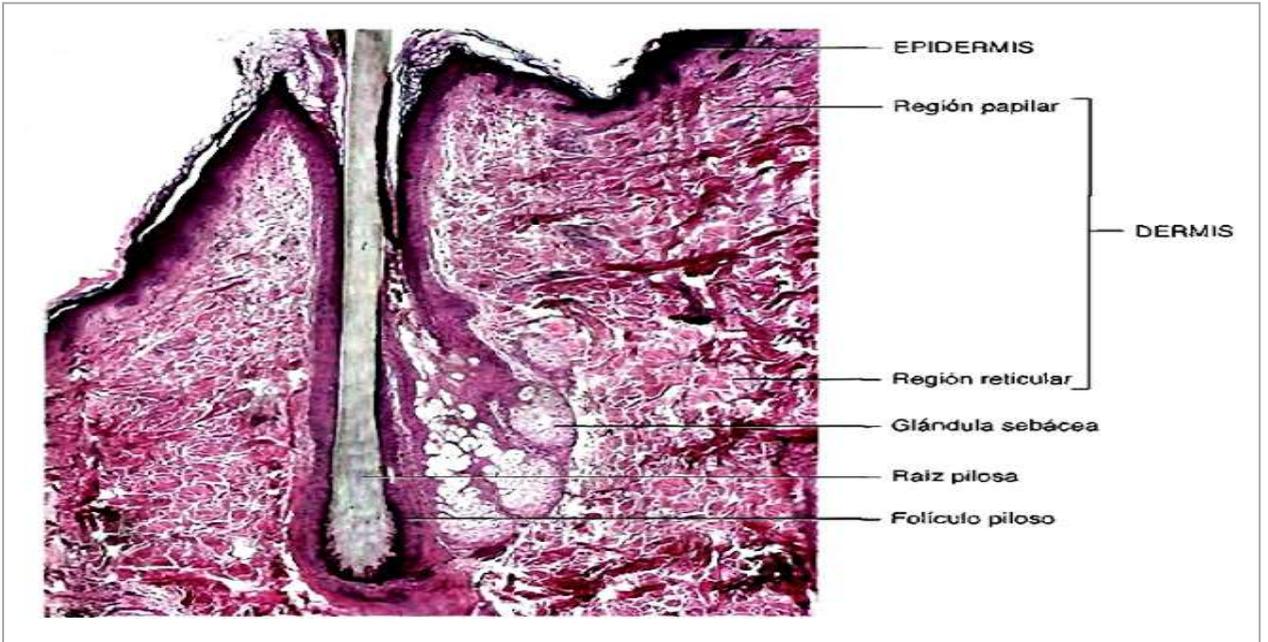


Figura 3: Corte transversal de la piel.

Fuente: <http://www.anatolandia.com/2015/07/estructura-de-la-piel.html>

- ✓ **Hipodermis** o tejido celular subcutáneo, es la capa situada por debajo de la dermis, y está formada fundamentalmente por lóbulos de adipocitos unidos entre sí por tejido conectivo, que aportan reservas energéticas y propiedades térmicas.

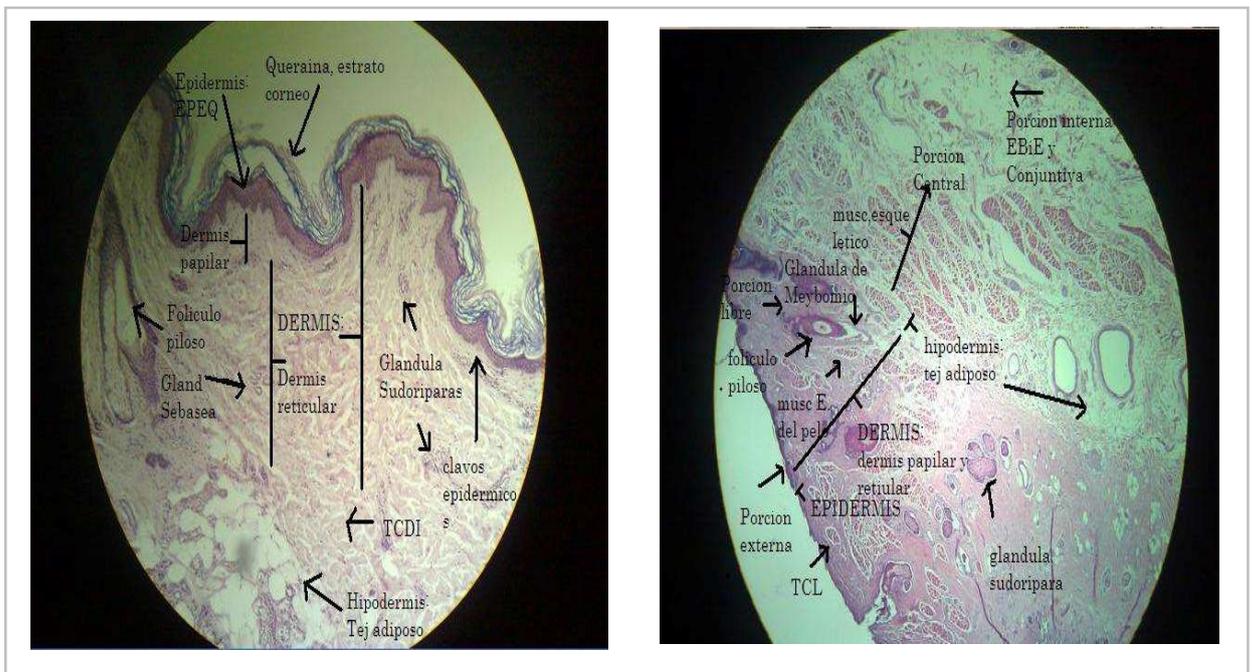


Figura 4: HIPODERMIS. Fuente http://vero-garcia-228.wix.com/labhistodrsolis#!__sistemas

Los **anexos cutáneos** se originan a partir de pequeñas yemas de células epidérmicas de la capa basal que se introducen en la dermis (20):

- Unidad folicular pilo-sebácea-apocrina.
- Glándulas sudoríparas
- Las uñas

3.3 Epidemiología

Desde el primer estudio serio realizado en España en 1999, en la comunidad de La Rioja (7), se han seguido diversos estudios correspondientes a los años 2003, 2007 y 2011 de ámbito nacional y el último denominado 4º Estudio Nacional de Prevalencia (21).

En sus resultados de este último estudio destacan que se obtuvieron 509 cuestionarios válidos, un 66,7% son de hospitales, un 21,6% de atención primaria y un 16,7% de Centros Socio Sanitarios (CSS). Las cifras de prevalencia obtenidas son: en hospitales, en adultos 7,87% (IC 95%: 7,31-8,47%); en unidades pediátricas de hospitales, 3,36% (IC 95%: 1,44-7,61%); en CSS, 13,41% (IC 95%: 12,6-14,2%), y en atención primaria, 0,44% (IC 95%: 0,41-0,47%) entre mayores de 65 años y 8,51% (IC 95%: 7,96-9,1%) entre pacientes en programas de atención domiciliaria. El mayor porcentaje de las lesiones es de categoría 2, con un tiempo de evolución de 30 días (mediana) y un área de 6 cm² (mediana).

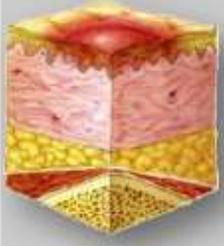
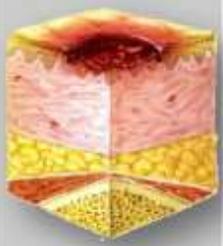
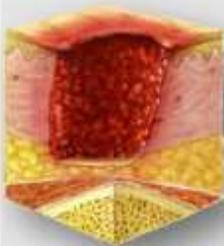
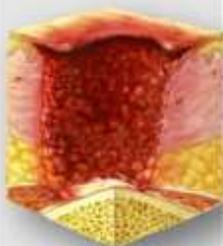
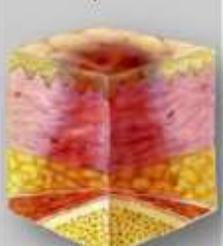
Y entre las conclusiones se destaca qué: la prevalencia de UPP en España no ha disminuido en 2013 respecto a años anteriores, e incluso se ha duplicado en los CSS.

En hospitales, las UCI son las unidades con mayor prevalencia. En los CSS, hay una prevalencia más alta en los privados frente a los públicos. Casi dos tercios de todas las UPP son de origen nosocomial (Hospitales o CSS), lo que indica un fallo en la prevención de estas lesiones.

3.4 Clasificación de las UPP

El propósito de usar un sistema de clasificación de UPP es estandarizar el método de sus registros y proporcionar una descripción común de la evolución de una úlcera que permita a los profesionales sanitarios mantener un mismo lenguaje a efectos de la práctica clínica, de revisión y de investigación en este campo (22).

El sistema de clasificación internacional de las úlceras de presión de la NPUAP (National Pressure Ulcer Advisory Panel) /EPUAP (European Pressure Ulcer Advisory Panel) que desarrolló en 1989 una clasificación que contenía 4 grados.

<p>CATEGORIA I</p> 	<p>Categoría/Estadio I. En pacientes con piel clara eritema cutáneo que no palidece en piel intacta; en individuos de piel oscura puede ser difícil la detección de la palidez. Estas lesiones suelen acompañarse de induración, dolor, insensibilidad, edema, aumento o disminución de la temperatura en la periferia.</p>	<p>CATEGORIA II</p> 	<p>Categoría/Estadio II. Pérdida parcial del grosor de la piel que puede afectar a epidermis y/o dermis. La úlcera es una lesión superficial que puede tener aspecto de abrasión, flictena, o pequeño cráter superficial.</p>
<p>CATEGORIA III</p> 	<p>Categoría/Estadio III. Pérdida total del grosor de la piel, con lesión o necrosis del tejido subcutáneo, pudiéndose extender más hacia dentro pero sin afectar la fascia subyacente. La lesión presenta el aspecto de un cráter que puede socavar o no al tejido subyacente.</p>	<p>CATEGORIA IV</p> 	<p>Categoría/Estadio IV. Plena lesión de todo el grosor de la piel con destrucción masiva, necrosis tisular o daño en el músculo, hueso o elementos de sostén. Las lesiones de estadio IV pueden presentar trayectos sinuosos y socavados.</p>
<p>Categoría No clasificable</p> 	<p>No clasificable. Existe una pérdida total del tejido y el tejido necrótico presente en la base de la úlcera no permite valorar la profundidad de la misma. La base puede estar cubierta por una escara o placa de coloración amarillenta, verdosa, gris o café. La lesión puede categorizarse una vez que se haya retirado el tejido necrótico.</p>	<p>Sospecha de lesión profunda</p> 	<p>Sospecha de lesión profunda no determinada. Lesiones con pérdida coloración de la piel o lesiones marmóreas, azuladas o grises en piel íntegra. O bien presentarse como una flictena hemorrágica derivada de la presión o el cizallamiento.</p>

Adaptado de: EPUAP/NPUAP/PPPIA. European Pressure Ulcer Advisory Panel, National Pressure Ulcer Advisory Panel and Pan Pacific Pressure Injury Alliance. Prevention and treatment of pressure ulcers: quick reference guide. Emily Haesler (Ed.). Cambridge Media; Osborne Park, Western Australia; 2014.

Figura 5: Esquema de clasificación de los diferentes grados de úlceras por presión con su grado de afectación. Fuente: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/104GRR.pdf>

Este sistema, fue adoptado por la European Pressure Ulcer Advisory Panel (EPUAP) en 1999, tras realizarse algunos cambios menores (23). Y es actualmente, el sistema que el Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas (GNEAUPP) toma como referencia. Según este sistema las UPP pueden clasificarse en 4 grados o estadios diferentes (24):

✓ **Categoría/Estadio I: Eritema no blanqueante en piel intacta**

Piel intacta con eritema no blanqueante de un área localizada, generalmente sobre una prominencia ósea. Decoloración de la piel, calor, edemas, endurecimientos o dolor también pueden estar presentes. Las pieles oscuras pueden no presentar una palidez visible. *Otras características:* El área puede ser dolorosa, firme, suave, más caliente o más fría en comparación con los tejidos adyacentes. La Categoría / Estadio I puede ser difícil de detectar en personas con tonos oscuros de piel. Puede indicar personas "en riesgo" de desarrollar una úlcera por presión.



Figura 6: Úlceras grado I. Fuente: <http://atensalud.blogspot.com.es/2012/11/ulceras-por-presion-upp.html>

✓ **Categoría/Estadio II: pérdida parcial del espesor de la piel o ampolla**

La pérdida de espesor parcial de la dermis se presenta como una úlcera abierta poco profunda con un lecho de la herida entre rosado y rojizo, sin esfácelos. También puede presentarse como una ampolla intacta o abierta/rota llena de suero o de suero sanguinolento. *Otras características:* Se presenta como una úlcera superficial brillante o seca sin esfácelos o hematomas. Esta categoría / estadio no debería emplearse para describir desgarros de la piel, quemaduras provocadas por el esparadrapo, dermatitis asociada a la incontinencia, la maceración o la excoriación.



Figura 7: Úlcera grado II. Fuente: <http://atensalud.blogspot.com.es/2012/11/ulceras-por-presion-upp.html>

✓ **Categoría/Estadio III: pérdida total del grosor de la piel (grasa visible)**

Pérdida completa del grosor del tejido. La grasa subcutánea puede resultar visible, pero los huesos, tendones o músculos no se encuentran expuestos. Pueden aparecer esfácelos. Puede incluir cavitaciones y tunelizaciones. *Otras características:* La profundidad de las úlceras por presión de categoría/estadio III varía según su localización en la anatomía del paciente. El puente de la nariz, la oreja, el occipital y el maléolo no tienen tejido subcutáneo (adiposo) y las úlceras de categoría/estadio III pueden ser poco profundas. Por el contrario, las zonas con adiposidad significativa pueden desarrollar úlceras por presión de categoría/estadio III extremadamente profundas. El hueso o el tendón no son visibles o directamente palpables.



Figura 8: Úlcera grado III. Fuente: <http://atensalud.blogspot.com.es/2012/11/ulceras-por-presion-upp.html>

✓ **Categoría/Estadio IV: pérdida total del espesor de los tejidos (músculo/hueso visible)**

Pérdida total del espesor del tejido con hueso, tendón o músculo expuestos. Pueden aparecer esfácelos o escaras. Incluye a menudo cavitaciones y tunelizaciones. *Otras características:* La profundidad de la úlcera por presión de categoría/estadio IV varía según su localización en la anatomía del paciente. El puente de la nariz, la oreja, el occipital y el maléolo no tienen tejido subcutáneo (adiposo) y estas úlceras pueden ser poco profundas. Las úlceras de categoría/estadio IV pueden extenderse al músculo y/o a las estructuras de soporte (por ejemplo, la fascia, tendón o cápsula de la articulación) pudiendo provocar la aparición de una osteomielitis u osteítis. El hueso/músculo expuesto es visible o directamente palpable.



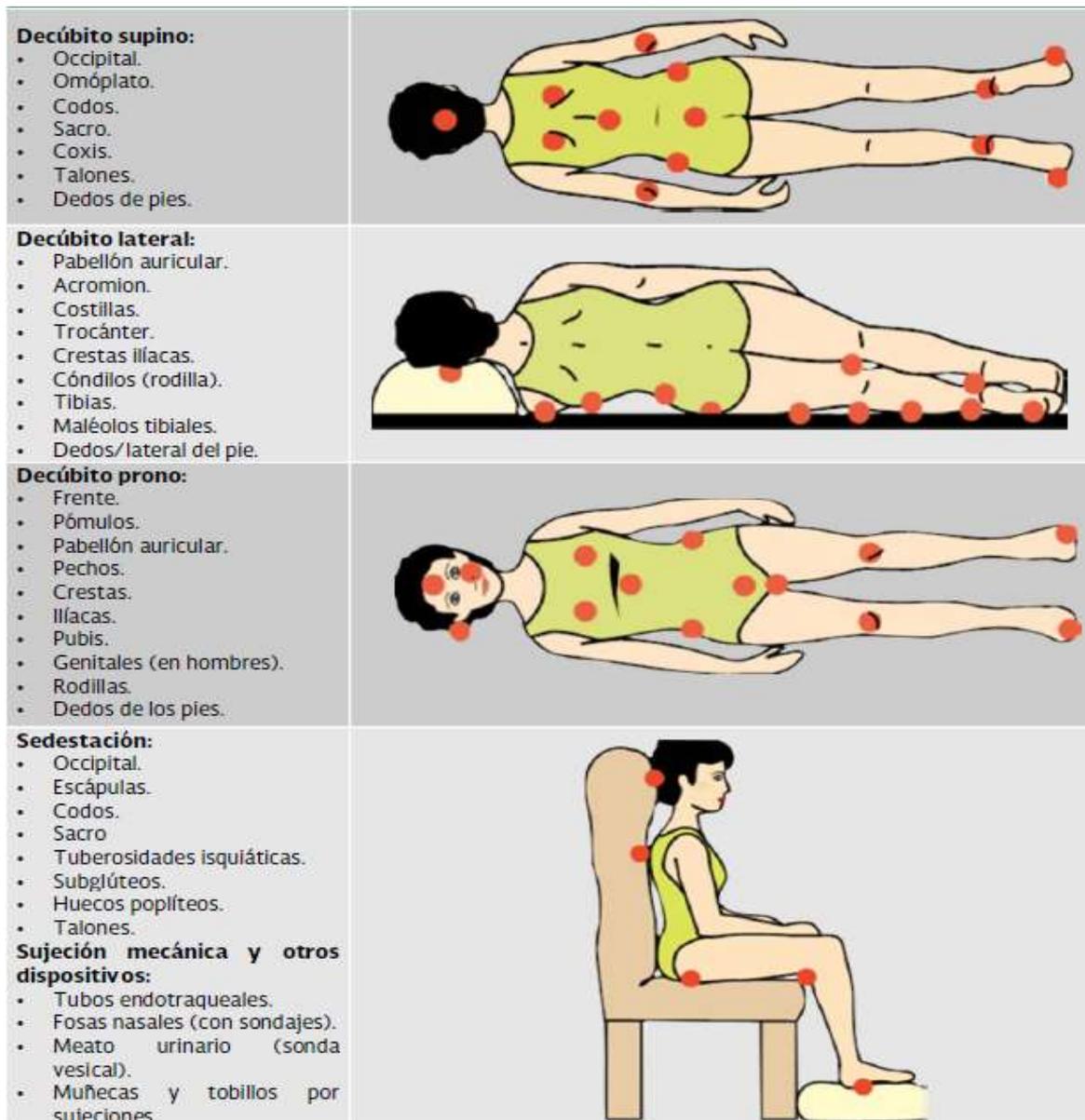
Figura 9: Úlcera grado IV. Fuente:<http://atensalud.blogspot.com.es/2012/11/ulceras-por-presion-upp.html>

3.5 Localizaciones más frecuentes de las UPP (25).

Dada la etiología de las UPP, éstas pueden aparecer en cualquier lugar del cuerpo en función de la zona de la piel que esté sometida a la presión, la fricción o la cizalla sobre una prominencia ósea. Por tanto, siguiendo este patrón, se pueden encontrar diferentes zonas anatómicas, que, resultando de la posición del paciente, pueden ser de riesgo de aparición de UPP:

- En la posición de decúbito supino, aumenta el riesgo de UPP en el coxis, glúteos, talones, codos, omóplatos y occipital.
- En la posición de decúbito lateral, son susceptibles los maléolos, trocánteres, costillas, hombros o acromion, orejas, crestas ilíacas o la cara interna de las rodillas.

- En decúbito prono, pueden aparecer UPP en los dedos de los pies, rodillas, genitales masculinos, mamas, mejillas, nariz o crestas ilíacas.
- En sedestación, en los omóplatos, el isquion, el coxis, el trocánter, los talones o en los metatarsianos, son zonas con mayor riesgo de padecer UPP.



Adaptado de: GTUPPLR. Grupo de trabajo de úlceras por presión (UPP) de La Rioja. Guía para la prevención, diagnóstico y tratamiento de las úlceras por presión. Logroño: Consejería de Salud de La Rioja; España, 2009.

Figura 10: Localizaciones más frecuentes de las UPP.

Fuente: <http://www.imss.gob.mx/sites/all/statics/guiasclinicas/104GRR.pdf>

Según un estudio realizado en diferentes países en 2005, la localización anatómica más frecuente de todas las UPP es el sacro (28,3%), seguido por el talón (23,6%) y los glúteos (17,2%).

3.6 Complicaciones

Las morbilidades asociadas con las UPP representan un problema de salud considerable, particularmente cuando no se produce la total curación (26). Aproximadamente el 50% de UPP de grado II y el 95% de UPP de grado III y IV, tienen una evolución de más de 8 semanas de duración, lo que las hace considerarlas crónicas, aumentando la probabilidad de que aparezcan complicaciones (27, 28).

Las complicaciones de las UPP derivan de su evolución, y se podrían agrupar en directas o indirectas. Las complicaciones directas son las que se producen en el propio paciente y comprenderían el dolor en la zona de la UPP, infección local de la herida o sistémica (sepsis) si la evolución es desfavorable; necrosis de los tejidos del lecho de la herida y/o perilesionales, osteomielitis, anemia o depresión (26).

Las complicaciones indirectas son las que derivan de la hospitalización ya que los pacientes con UPP frecuentemente requieren mucho tiempo de hospitalización o frecuentes reingresos hospitalarios. La presencia o desarrollo de una úlcera puede aumentar la duración de la estancia hospitalaria de un paciente en un promedio de 10 días y aumentar los costes económicos (29).

3.7 Valoración del riesgo de UPP

Inicialmente todos los pacientes deberían ser considerados “en riesgo”, hasta ser valorados de forma adecuada. Es necesaria una valoración detenida de su estado antes de considerar que no presenta riesgo de aparición de UPP y por tanto excluirlo de la aplicación de medidas preventivas.

Cuando se producen cambios en el estado clínico del paciente (intervención quirúrgica, modificación de alguno de los factores de riesgo conocidos, cambio del cuidador habitual) se requiere una nueva valoración del riesgo. Para llevar esto a cabo, se recomienda la utilización de una escala de valoración de riesgo de aparición de UPP (EVRUPP), que es una herramienta metodológica para valorar y determinar el riesgo de padecer UPP en un individuo (30).

Como anteriormente se comentó, la escala de Braden tiene una mayor sensibilidad (83%) y una mayor especificidad (64%) respecto a la escala de Norton y es por ello que se

recomienda el uso de la escala de Braden como EVRUPP ya que es una de las escalas con mayor capacidad predictiva y un nivel de evidencia alta (31).

3.8 Proceso de reparación tisular

Ante una agresión, nuestro organismo puede recuperarse de diferente manera, bien puede reparar el tejido lesionado o realizar la regeneración tisular.

La Reparación de un tejido consiste en la restauración sin que se conserve su arquitectura original ni su función por lo que las propiedades físicas y mecánicas son diferentes a las originales.

La Regeneración tisular es la obtención de un tejido restaurado cuyas propiedades son indistinguibles del tejido original.

Por tanto, el objetivo es la regeneración de los tejidos lesionados y no solo la reparación. Cómo lo podemos conseguir, ésta es la cuestión. El éxito es estimular los mecanismos de regeneración tisular para promover la migración, proliferación y diferenciación de las células. Deben interactuar multitud de elementos; desde diversos componentes celulares, hasta diversas proteínas, metabolitos y electrolitos, todos ellos englobados dentro de un ambiente adecuado. En el proceso de reparación tisular participan diversas etapas que incluyen la angiogénesis, la proliferación tisular y el depósito de matriz extracelular (32).

El proceso de reparación tisular se basa en una compleja cascada de eventos biológicos controlados por una larga lista de factores de crecimiento y proteínas con actividad biológica. La acción espacio-temporal de este conjunto de mediadores sobre la zona tisular dañada regula los mecanismos y fases que gobiernan la reparación y regeneración tisular. A lo largo de este proceso, otro conjunto de factores regulará el equilibrio dinámico entre estimulación e inhibición de la proliferación celular, así como de la angiogénesis y de la formación de la matriz extracelular (33, 34).

3.9 Tratamiento actual de las UPP.

3.9.1.- Tratamiento de las Úlceras por Presión.

Actualmente, el tratamiento habitual de las heridas crónicas viene determinado por la concatenación de estos 7 objetivos:

1. Eliminación de la presión sobre el(las) área(s) afectada(s).
2. Proteger la piel sana adyacente
3. Mejorar la autodefensa del cuerpo y permitir una condición favorable en el cuerpo que facilite el proceso natural de curación.
4. Proporcionar alivio al dolor.
5. Eliminar y curar infecciones
6. Eliminación de tejidos desvitalizados o necróticos
7. Tratar al paciente para controlar la diabetes, la hipercolesterolemia, la desnutrición y la anemia etc.

En este sentido, la tecnología PRGF-Endoret se postula como una terapia biológica con alto potencial para el cierre de heridas y regeneración de la piel. Su tecnología se basa en la obtención de un plasma 100% autólogo rico en factores de crecimiento a partir de un pequeño volumen de sangre del paciente.

Esta terapia lleva más de 20 años demostrando su eficacia y seguridad en numerosas áreas de la medicina como la cirugía oral y maxilofacial, traumatología y medicina del deporte, oftalmología, neurobiología y dermatología. La literatura científica recoge numerosos estudios tanto in vitro como a nivel clínico del potencial regenerativo del plasma rico en factores de crecimiento en úlceras cutáneas de diferente tipo y severidad.

3.9.2.- Qué tratamiento terapéutico utilizar

Cuando realizamos una intervención terapéutica nos basamos en conocimientos que adquirimos por transmisión de los mismos de otras muchas personas que antes de nosotros han realizado esos cuidados.

La necesidad de unificar criterios en la práctica clínica y conseguir los mejores resultados posibles, nos ha llevado a la práctica y utilización de la evidencia científica.

La definición de medicina basada en la evidencia, práctica basada en la evidencia (PBE) o enfermería basada en la evidencia es proporcionada por distintos autores precursores del movimiento en las disciplinas correspondientes siendo: *“la toma de decisiones relativas al cuidado o atención de los pacientes (práctica clínica) integrando los siguientes elementos la mejor evidencia externa derivada de la investigación (I), la Experiencia clínica (entendida por maestría clínica) (II) y los valores, necesidades, expectativas, preferencias, en definitiva la perspectiva del paciente (III), posteriormente añaden el elemento de considerar los recursos existentes”* (35, 36).

Las guías de práctica clínica (GPC) han experimentado una enorme transformación durante las últimas dos décadas. El sistema para clasificar la calidad de la evidencia y graduar la fuerza de la recomendación es uno de los aspectos que más se ha modificado (<http://www.fisterra.com/guias-clinicas/la-evaluacion-calidad-evidencia-graduacion-fuerza-recomendaciones-sistema-grade/.2017>)

El sistema GRADE (Clasificación de la evaluación, desarrollo y valoración de las recomendaciones), para clasificar la calidad de la evidencia y graduar la fuerza de las recomendaciones. Este sistema define la calidad de la evidencia como el grado de confianza que tenemos en que la estimación de un efecto es adecuada para apoyar una recomendación.

3.9.3.- Evaluación de la calidad de la evidencia

La calidad de la evidencia, también denominada confianza o, más recientemente, certidumbre, en las GPC refleja el grado de confianza que tenemos en que la estimación de un efecto es adecuada para apoyar una recomendación y se evalúa para cada uno de los desenlaces de interés (idealmente los claves y, en ausencia de éstos, los importantes).

Aunque la calidad de la evidencia es un espectro continuo, GRADE propone una clasificación en cuatro categorías (37):

Calificación	Juicio	Características
A	Alta	Es muy poco probable que nuevos estudios cambien la confianza que se tiene en el resultado estimado.
B	Moderada	Es probable que nuevos estudios tengan un impacto importante en la confianza que se tiene en el resultado estimado y que estos puedan modificarlo.
C	Baja	Es muy probable que nuevos estudios tengan un impacto importante en la confianza que se tiene en el resultado estimado y que estos puedan modificarlo.
D	Muy baja	Cualquier resultado estimado es muy incierto.

Tabla 1. Niveles de evidencia según la metodología GRADE.

Fuente: <http://www.fisterra.com/guias-clinicas/la-evaluacion-calidad-evidencia-graduacion-fuerza-recomendaciones-sistema-grade/.2017>

La fuerza de una recomendación, refleja hasta qué punto podemos confiar en que su puesta en práctica, conlleva más beneficios que riesgos, para la población diana. El sistema GRADE (http://www.gradeworkinggroup.org/_ES/FAQ/index.htm) utiliza las siguientes definiciones para calificar la calidad de la evidencia:

- ✓ **Alta:** es muy poco probable que nuevos estudios modifiquen la confianza que tenemos en el resultado estimado.
- ✓ **Moderada:** es probable que nuevos estudios tengan un impacto importante en la confianza que tenemos en el resultado estimado y que éstos puedan modificar el resultado.
- ✓ **Baja:** es muy probable que nuevos estudios tengan un impacto importante en la confianza que tenemos en el resultado estimado y que éstos puedan modificar el resultado.
- ✓ **Muy baja:** cualquier resultado estimado es muy incierto.

En el sistema GRADE, la calidad de la evidencia para un determinado desenlace arranca con el diseño de los estudios: inicialmente considera a los ensayos clínicos aleatorizados (ECA) como fuente de calidad alta, y a los estudios observacionales sin limitaciones importantes como fuente de calidad baja. En las revisiones sistemáticas, la evaluación de los factores que afectan a la calidad de la evidencia debe realizarse sobre el diseño y las características de los estudios que incluye la revisión (ya sea un conjunto de estudios o de un único estudio). Las series de casos son estudios observacionales no controlados en los que la

calidad de la evidencia debería bajarse automáticamente de baja a muy baja. La opinión de experto no se considera un tipo de evidencia científica al que aplicar los factores modificadores de la calidad de la evidencia, sino que refleja la interpretación de los resultados de la evidencia, o de la ausencia de ésta, en función de su conocimiento y experiencia.

A partir de este punto inicial (calidad alta para ensayos clínicos y baja para estudios observacionales), aplica los siguientes factores para bajar o subir la calidad de la evidencia (36) (tabla 2):

Factores que permiten bajar la calidad de la evidencia	
Limitaciones en el diseño o ejecución de los estudios	↓ 1 ó 2 grados
Inconsistencia entre los resultados de diferentes estudios	↓ 1 ó 2 grados
Disponibilidad de evidencia indirecta	↓ 1 ó 2 grados
Imprecisión de los estimadores del efecto	↓ 1 ó 2 grados
Sesgo de publicación	↓ 1 grado
Factores que permiten aumentar la calidad de la evidencia	
Magnitud del efecto importante	↑ 1 ó 2 grados
Gradiente dosis-respuesta relevante	↑ 1 grado
Impacto de las variables de confusión plausibles	↑ 1 grado

Tabla 2: Factores que modifican la calidad de la evidencia.

Fuente : <http://www.fisterra.com/guias-clinicas/la-evaluacion-calidad-evidencia-graduacion-fuerza-recomendaciones-sistema-grade/.2017>

Factores que pueden bajar la calidad de la evidencia (36)

Limitaciones en el diseño o la ejecución de los estudios (riesgo de sesgo).

- ✓ Inconsistencia entre los resultados de diferentes estudios
- ✓ Ausencia de evidencia directa.
- ✓ Imprecisión. se debe considerar su intervalo de confianza
- ✓ Sesgo de publicación.

Factores que pueden aumentar la calidad de la evidencia

- ✓ Fuerza de la asociación.
- ✓ Gradiente dosis-respuesta.
- ✓ Impacto de las variables de confusión plausibles

Una vez evaluada la calidad de la evidencia científica para cada desenlace, se debe realizar una **clasificación global de la calidad de la evidencia**, lo que implica realizar un juicio general de la calidad entre los desenlaces clave para una determinada pregunta clínica. En este proceso, se deberían considerar sólo los desenlaces clave, aunque no siempre existen datos.

3.9.4.- Formulación de las recomendaciones

La fuerza de una recomendación refleja el grado de certeza de que los efectos deseables de una intervención recomendada superan sus efectos no deseables, o viceversa, en la población de interés. El sistema GRADE considera dos categorías en relación a la fuerza de las recomendaciones (Grupo de trabajo sobre GPC, 2016):

- **Recomendación fuerte:** se refiere a una recomendación con confianza en que los efectos deseados de la intervención superan a los indeseables (recomendación fuerte a favor), o en que los efectos indeseados de la intervención superan los deseados (recomendación fuerte en contra).
- **Recomendación débil:** se refiere a una recomendación según la cual los efectos deseables probablemente superan los efectos no deseables (recomendación débil a favor de una intervención) o los efectos no deseables probablemente son mayores que los efectos deseados (recomendación débil en contra de una intervención), pero con una incertidumbre apreciable.

En la tabla 3 se resumen las implicaciones de la fuerza de las recomendaciones desde diferentes perspectivas (pacientes, clínicos y gestores).

	Recomendación fuerte	Recomendación débil
Para pacientes	<p>La mayoría de las personas estarían de acuerdo con la acción recomendada y sólo una pequeña proporción no lo estaría.</p> <p>Las herramientas formales para la toma de decisiones probablemente no serán necesarias para ayudar a las personas a tomar decisiones coherentes con sus valores y preferencias.</p>	<p>La mayoría de las personas en esta situación estarían de acuerdo con la acción sugerida, pero muchos no lo estarían.</p> <p>Las herramientas para la toma de decisiones pueden ser útiles como ayuda para la toma de decisiones coherentes con los valores y preferencias de cada persona.</p>
Para profesionales sanitarios	<p>La mayoría de las personas debería recibir la intervención recomendada.</p>	<p>Reconoce que diferentes opciones serán apropiadas para cada paciente individual y que se deberá alentar a que cada paciente alcance una decisión de manejo coherente con sus valores y preferencias.</p> <p>Las herramientas para la toma de decisiones pueden ser útiles como ayuda para la toma de decisiones coherentes con los valores y preferencias de cada persona.</p>
Para decisores/gestores	<p>La recomendación puede ser adaptada a la política sanitaria en la mayoría de las situaciones.</p> <p>La adherencia a esta recomendación incluida en la guía, puede ser utilizado como un criterio de calidad o indicador de rendimiento.</p>	<p>El desarrollo de políticas sanitarias requerirá considerables debates y la participación de los diversos grupos de interés.</p> <p>La documentación adecuada del proceso de toma de decisiones para una recomendación débil podría utilizarse como una medida de calidad, en particular, si está basada en evidencia de alta calidad.</p>

Tabla 3: Implicaciones de la fuerza de las recomendaciones.

Fuente: <http://www.fisterra.com/guias-clinicas/la-evaluacion-calidad-evidencia-graduacion-fuerza-recomendaciones-sistema-grade/.2017>

3.10 Plaquetas (38)

Las plaquetas se forman en elevado número provenientes de los megacariocitos, que son células poliploides que se diferencian en la médula ósea. Las plaquetas circulan por sangre periférica durante 7-10 días hasta su destrucción.

La tasa normal se sitúa entre 150.000 y 400.000 plaquetas/μlitros de sangre. La primera función atribuida a las plaquetas fue su papel hemostático, donde impiden la pérdida de sangre en las zonas de lesión vascular. Para ello, se adhieren, agregan y forman una superficie procoagulante que conducen a la generación de trombina y rápida formación del coágulo de fibrina (39, 40).

Además, en estudios posteriores se ha observado cómo las plaquetas expresan y liberan sustancias que promueven la reparación de los tejidos, han demostrado ser capaces de liberar ciertas sustancias que juegan un papel vital en la reparación tisular, mediando en procesos como la angiogénesis, la inflamación y la respuesta inmunológica.

Aunque sean células anucleadas poseen en su interior lisosomas que les permiten la síntesis de factores tisulares e interleuquinas (IL). Existe una relación de las plaquetas sobre funciones biológicas como la movilización, adhesión, proliferación, supervivencia, activación y diferenciación, no sólo de las células madre mesenquimales sino de diferentes tipos celulares humanos (41).

3.10.1.- Qué hacen las plaquetas

Las plaquetas son células sanguíneas de tamaño pequeño cuya principal misión es garantizar la interrupción del sangrado al producirse lesiones vasculares. Dicho mecanismo utiliza las propiedades adhesivas de las plaquetas ante una lesión (42, 43).

La forma que tienen las plaquetas es discoide cuando están en reposo, pero experimentan cambios morfológicos tras una activación con estímulos solubles como el ADP o la trombina (44).

Cuando se produce una lesión en la piel, las plaquetas inician el proceso hemostático taponando los vasos dañados. Este proceso se inicia cuando se une la membrana plaquetaria al factor de Von Willebrand a través de la glicoproteína Ib (GP-Ib-IX) y la integrina GP-IIb-IIIa, a través de la cual, la plaqueta se une al colágeno expuesto de la pared vascular y al subendotelio dañado iniciando así la adhesión plaquetaria.

Desde este momento la plaqueta cambia su forma, para pasar a ser esférica, con unos filamentos denominados pseudópodos que la ayudarán a agregarse y adherirse entre sí mediante una redistribución de los receptores (45).

Esta agregación plaquetaria se produce por la unión entre las glicoproteínas de membrana plaquetaria, por puentes de fibrinógeno, y será la responsable de la formación de un trombo

Las plaquetas contienen tres grandes compartimentos de almacenamiento que son los gránulos alfa, los gránulos densos y los lisosomas (46).

Estos gránulos secretores contienen FC, proteínas para la coagulación, moléculas de adhesión celular, moléculas de activación, citoquinas, y moléculas inflamatorias, entre otras (47). La mayoría de estas moléculas son contenidas en los gránulos alfa.

Estos gránulos constituyen el lugar de almacenamiento de proteínas biológicamente activas (48). Las plaquetas una vez activadas secretan hasta el 95% de las proteínas presintetizadas en una hora. Posteriormente a la descarga inicial las plaquetas sintetizan y secretan más factores durante varios días más de su vida útil (9). Las actividades beneficiosas relacionadas con la actividad plaquetaria, son debidas principalmente a las sustancias que éstas son capaces de almacenar en el interior de su citoplasma.

Tras los episodios de agregación se produce una degranulación con la liberación del contenido de los gránulos alfa (49). Esta activación plaquetaria o degranulación puede realizarse por varios mecanismos, los más potentes son la adhesión de las plaquetas al colágeno y al subendotelio, o también la presencia de trombina. Esta degranulación se hace posible por la activación de las fosfolipasas de la membrana celular que promueven la liberación de iones Ca^{++} , los cuales por sí solos producen agregación y secreción. En la degranulación plaquetaria se libera tromboxano A₂, adenosindifosfatos (ADP) y serotonina que estimulan el reclutamiento y activación de las plaquetas circundantes.

Después de activarse las plaquetas se liberan nuevos factores agregantes, que, junto con la fase plasmática de la coagulación, van a originar la formación de trombina y posteriormente la sustitución del fibrinógeno soluble por la red de fibrina.

La utilidad del concentrado de plaquetas se debe justamente a la posibilidad de utilizar una gran cantidad de FC que se secretan in situ en el lugar de la lesión (50)

3.10.2.- Contenido plaquetario

Gránulos α de las plaquetas

Los gránulos α de las plaquetas contienen numerosas proteínas que influyen poderosamente en la cicatrización de las heridas. Entre ellas el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) (que incluye los isómeros, $\alpha\alpha$, $\beta\beta$ y $\alpha\beta$), el factor de crecimiento transformante (TGF)- β (que incluye los isómeros β 1 y β 2), el factor plaquetario 4 (PF4), la interleuquina (IL)-1, el factor angiogénico derivado de las plaquetas (PDAF), el factor de crecimiento endotelial (VEGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento endotelial derivado de las plaquetas (PDEGF), el factor de crecimiento de células epiteliales (ECGF), el factor de crecimiento insulinalike (IGF), la osteocalcina, la osteoconectina, el fibrinógeno, la vitronectina, la fibronectina y la trombospondina (TSP)-1.

Estas proteínas, denominadas proteínas secretoras, componen las familias de los factores de crecimiento, citoquinas y quimioquinas.

Las proteínas secretadas por los gránulos α también juegan un papel en la defensa celular ante agentes exógenos en el lugar de la herida, mediante la producción de proteínas de señal que atraen a los macrófagos. Además, el PRP contiene un pequeño número de células leucocitarias que también contribuyen a la defensa celular mediante la síntesis de interleuquinas que intervienen en la respuesta inmune inespecífica.

La activación, también conocida como degranulación, provoca que los gránulos α se fundan con la membrana celular de las plaquetas, donde algunas de las proteínas secretoras (por ejemplo, PDGF y TGF- β) pasan al estado activo al añadirseles histonas y cadenas laterales de carbohidratos.

Así, las proteínas son secretadas, permitiendo que se enlacen a los receptores de las células diana (por ejemplo, células madre mesenquimales, osteoblastos, fibroblastos, células endoteliales, o células epidérmicas). Una vez unidas a los receptores transmembrana, se activan las proteínas señalizadores intracelulares, lo que lleva a la expresión de una secuencia de genes (distintos en cada tipo celular) que dirigen la proliferación celular, la formación de la matriz, la producción osteoide, la síntesis de colágeno, y otras acciones, en función del tipo de célula sobre el que actúen.

Las plaquetas empiezan a secretar activamente estas proteínas en los 10 minutos siguientes a la formación del coágulo, completando la secreción de más del 95% de los factores de crecimiento presintetizados en el plazo de 1 hora. Tras esta salva inicial de proteínas liberadas, las plaquetas sintetizan y secretan proteínas adicionales mientras se mantienen vivas (entre 5 y 10 días).

Cuando empieza a disminuir la influencia directa de las plaquetas, los macrófagos que llegan arrastrados por el torrente vascular estimulados por las plaquetas asumen la responsabilidad de la regulación de la cicatrización secretando sus propios factores. De esta forma, las plaquetas, en última instancia, establecen la pauta en el lugar de reparación de la herida.

Las principales proteínas secretadas por las plaquetas activadas influyen en muchos aspectos de la cicatrización:

- ✓ PDGF es quimiotáctico para macrófagos; PDGF, TGF- β e IGF actúan colectivamente en la quimiotaxis y mitogénesis de las células madre y de los osteoblastos, en la angiogénesis de los nuevos capilares, en la formación la matriz ósea, y en la síntesis del colágeno; PDGF y TGF- β también participan en la mineralización ósea.
- ✓ Como grupo, las proteínas adhesivas fibrinógeno, fibronectina, vitronectina y TSP-1 participan en la formación del trombo y algunas también parecen tener propiedades mitogénicas.

Factores de crecimiento

Los factores de crecimiento o GF (Growth Factors) son un conjunto de sustancias de naturaleza peptídica cuya misión es la comunicación intercelular a nivel molecular. Son capaces de modificar las respuestas biológicas celulares, ya que regulan la migración, proliferación, diferenciación y metabolismo celular, e incluso la apoptosis. La función principal de los factores de crecimiento es la del control externo del ciclo celular, mediante el abandono de la quiescencia celular (G0) y la entrada de la célula en fase G1. Los factores de crecimiento estimulan el aumento del tamaño celular al incrementar la síntesis proteica de las células sobre las que actúan.

En cuanto a su clasificación, los factores de crecimiento se pueden clasificar según sea su especificidad: amplia o reducida.

Los de especificidad amplia como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) actúan sobre muchas clases de células, entre las cuales tenemos: fibroblastos, fibras musculares lisas, células neurogliales, y el EGF, además, sobre células epiteliales y no epiteliales. Como ejemplo de factor de crecimiento de especificidad reducida tenemos a la eritropoyetina, que solo induce la proliferación de los precursores de los hematíes.

Los factores de crecimiento actúan de manera local. La estimulación celular se realiza bien por un sistema autocrino en el que las células producen y responden al mediador biológico, o por un sistema paracrino en el que la célula que produce el factor se encuentra en las proximidades de las células a las que afecta.

En general, los factores de crecimiento son sintetizados en forma de precursores, siendo necesario para la liberación del factor en forma «activa» un proceso específico de proteólisis.

Su mecanismo de acción siempre comienza al unirse a receptores específicos de membrana. Para cada tipo de factor de crecimiento existe un receptor o conjunto de receptores específicos. Las células responden a un FC solo si disponen de la proteína receptora apropiada. El proceso está mediado por un sistema de segundos mensajeros que activan una cascada de señales que acaba en la activación de uno o varios genes (transducción de señales). Debido a este mecanismo, la acción de los factores en el lugar de la lesión continúa, aunque hayan desaparecido los mismos del medio, ya que han activado el sistema de segundos mensajeros (9).

Entre los tipos celulares productores de los factores de crecimiento están los fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales, leucocitos, monocitos y macrófagos. Además, existen lugares de almacenamiento, como son las plaquetas (en los gránulos α) y el hueso (adheridos a la matriz ósea) (9).

Por el contenido de estos gránulos de múltiples proteínas de vital importancia funcional, son los más importantes de todos. Es mejor clasificar las partículas contenidas según su funcionalidad, de este modo nos encontramos con proteínas adhesivas (fibrinógeno, fibronectina, vitronectina) que participan directamente en la formación y la consolidación del trombo; proteínas mitógenas (factor de crecimiento derivado de las plaquetas, factor de crecimiento transformante, vascular, fibroblástico, epidérmico e insulínico) que estimulan la quimiotaxis y la proliferación/maduración celular, y fibrinolíticas (plasminógeno activador-inhibidor tipo I) entre otras. Al mismo tiempo, en su interior también encontramos proteoglicanos, como las diversas isoformas del condroitín sulfato, citoquinas con actividad proinflamatoria, y otras muchas sustancias que juegan sus papeles en diversos procesos vitales.

Por otro lado, se encuentra también la glicoproteína CD40L que cuando se une su receptor, CD40, una vez activado permite la inflamación e integración de otros productos como las IL que estimulan la respuesta inflamatoria inicial.

El contenido granular se vierte en el área de la lesión e iniciará ciertas funciones plaquetarias. En los gránulos alfa se localizan toda una serie de factores de crecimiento (PDGF, TGF, PF4, IGF, HGF, VEGF...) que como se comentaba previamente participan en

los procesos de proliferación, migración y/o diferenciación de distintos tipos celulares durante la reparación tisular (51, 52).

Gránulos densos: Las sustancias contenidas en su interior, una vez liberadas, participan principalmente en la agregación plaquetaria. Además, promueven la migración y proliferación celular y el tono vascular entre otros efectos. Entre las sustancias que se albergan en su interior cabe destacar Calcio, Magnesio, adenosina, serotonina e histamina por sus efectos vasculares y pro- anti- inflamatorios (53, 54).

Gránulos Lisosomiales: Los gránulos Lisosomiales contienen enzimas catabólicas como la catepsina D y E, y la elastasa entre otros.

Síntesis de otros metabolitos activos

Las plaquetas tienen una gran relación con la síntesis de eicosanoides, procedentes del ácido araquidónico liberado desde la membrana fosfolipídica. El tromboxano A₂. Es un potente vasoconstrictor, además de estar relacionado con los procesos de reparación vascular. Otros metabolitos que cabe destacar son la esfingosina-1-fosfato por su actividad mitogénica, y el factor de activación plaquetario como mediador del arresto y activación de los leucocitos en las células endoteliales y en la adherencia plaquetaria (55, 56)

Generación de trombina

Forma parte de la activación de la protrombina en trombina mediante proceso Ca²⁺ dependiente. Fundamental en el mecanismo hemostático

3.10.3.- Factores de Crecimiento.

La secuencia de cicatrización de heridas es un proceso complejo que se desarrolla a través de la superposición de diversas etapas, que comienza con la hemostasia e inflamación y termina con la remodelación del tejido dañado

Durante todo el proceso regenerativo se produce la mediación e interrelación de una serie de factores que actúan interrelacionados entre sí, entre los que destacan los factores de crecimiento (FC) y las citoquinas, además de otros factores vasculares, hormonales y genéticos.

Los FC son polipéptidos biológicamente activos cuya función es la regulación de la diferenciación, proliferación, migración y metabolismo en las células diana, regulando la síntesis de moléculas de adhesión específicas.

Los FC pueden ser secretados por diferentes tipos de células que participan en el proceso de cicatrización como plaquetas, células mediadoras de inflamación, fibroblastos, células endoteliales, vasculares o epiteliales y dependiendo de cómo son secretados, esos FC tienen diferentes acciones (57):

- ***Estimulación Autocrina***, se produce cuando el FC se une a la misma célula que lo ha secretado o a otras células con un fenotipo idéntico al de dicha célula, suponiendo una auto-estimulación metabólica.
- ***Estimulación Paracrina***, se produce cuando el FC actúa sobre células adyacentes. Este efecto ocurre en las células colindantes para producir proliferación e incremento de la síntesis de la matriz extracelular proteica.
- ***Estimulación Endocrina***, el FC interacciona o estimula a una célula que tiene un fenotipo distinto al de la célula que lo secretó y que está ubicada en una zona anatómica lejana.
- ***Estimulación Yuxtacrina***, el FC se une al receptor de la membrana celular de una célula y ésta interacciona con otra adyacente.

Factores de crecimiento que intervienen en la cicatrización de heridas.

Entre los FC que participan en el proceso de cicatrización se encuentran: el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento análogo a la insulina (IGF) y entre éstos, el IGF-I y IGF-II, los factores de crecimiento transformantes (TGFs) y en concreto el TGF- β , el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y especialmente el FGFácido y el FGF-básico, el factor estimulador de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), entre otros. También juegan un papel importante en los procesos de reparación, concretamente en las fases de inflamación, las citoquinas, producidas por las células blancas sanguíneas, entre las que se citan las Interleuquinas (IL): IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, entre otras (58).

Factor de Crecimiento derivado de plaquetas, PDGF (Platelet-Derived Growth Factor).

- Tipos: $\alpha\alpha$, $\beta\beta$, $\alpha\beta$
- Promueve indirectamente la angiogénesis a través de los macrófagos, por un mecanismo de quimiotaxis
- Activador de macrófagos;
- Mitógeno de células mesenquimales;
- Facilita la formación de colágeno tipo I;
- Promueve la proliferación de las células adiposas y de los fibroblastos dérmicos.

Factor de crecimiento transformante β (TGF- β)

- Quimiotaxis
- Proliferación y diferenciación de las células mesenquimales
- Síntesis de colágeno por los osteoblastos;
- Promueve la proliferación de adipocitos y fibroblastos dérmicos humanos
- Pro-angiogénesis
- Inhibe la formación de osteoclastos
- Inhibe la proliferación de células epiteliales en presencia de otros factores.

Factor de Crecimiento BMPs (Bone Morphogenetic Proteins)

- Inducen la cicatrización de las heridas. BMP-2, BMP-4, BMP-7
- BMP-6. Reparación de las heridas
- BMP-6 Inhibe la proliferación de queratinocitos y la inducción de su diferenciación

Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)

- Estimulación y coordinación de la mitogénesis de células mesenquimales como los fibroblastos, los osteoblastos, condrocitos, células musculares lisas y mioblastos esqueléticos
- Inhibe los osteoclastos
- Promueve la proliferación de los fibroblastos e induce la secreción de fibronectina.
- Pro-angiogénesis por acción quimiotáctica sobre células endoteliales.

Factor de crecimiento epidérmico (EGF)

- Efectos mitogénicos y quimiotácticos en fibroblastos y células epiteliales
- Induce la migración celular
- Los fibroblastos, los proosteoblastos y precondrocitos expresan un alto número de receptores para EGF
- Estimula la formación de tejido de granulación.

Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)

- Induce la quimiotaxis y proliferación de las células endoteliales
- Provoca una hiperpermeabilidad de los vasos sanguíneos
- Mitógeno, proapoptótico, promotor de la quimiotaxis y la diferenciación de células epiteliales, renales, gliales y fibroblastos.

Factor de crecimiento insulina-like (IGF)

- Promueve la proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento
- Estimula la síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno tipo I por los osteoblastos
- Actúa como agente quimiotáctico para las células vasculares endoteliales.

Angiopoyetina

- Además de los VEGFs, la angiopoyetina comprende una segunda familia de FC cuya función es la regeneración del endotelio vascular.
- Las isoformas Angiopoyetina-1 y -4, son activadoras de los receptores, mientras que las isoformas -2 y -3 se sospecha que bloquean los receptores (58).
- la angiopoyetina no regula la proliferación de las células endoteliales; sin embargo, la angiopoyetina-1 es responsable de la estabilización de los vasos sanguíneos, mientras que la angiopoyetina-2 causa desestabilización y remodelación (59).

SF (Scatter Factor)

La familia de los factores de dispersión está compuesta por dos miembros: el factor de crecimiento derivado del hepatocito (HGF/SF) y la proteína estimulante de los macrófagos (MPS). Ambos son secretados como precursores inactivos (60).

El HGF es producido por las células mesenquimales y sus funciones las realiza a través de una conexión de alta afinidad con el receptor transmembrana tirosinaquinasa, presente en diversos tipos de células, denominado Mesenchymal-Epithelial Transition Factor (MET). Esta molécula estimula la migración, la proliferación y la producción de queratinocitos (61), así como la angiogénesis (62), por tanto, juega un papel importante en la cicatrización de heridas. Este efecto sobre la angiogénesis en la herida parece ser mediado a través de VEGF-A, según se ha podido comprobar en ratones (63).

NGF (Nerve Growth Factor)

- El factor de crecimiento nervioso (NGF) es un polipéptido que además de su función protectora de las fibras nerviosas del sistema nervioso central y periférico, desempeña un papel clave en la iniciación y mantenimiento de la inflamación en diversos órganos
- Estimula la proliferación celular e inhibe la apoptosis de los queratinocitos *in vitro* (64) aumenta la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales (65).
- Tiene un potente efecto sobre la migración de fibroblastos a la zona de la herida y aumenta la expresión de actina en el músculo liso, así como la contracción de estas células. Esto ha sugerido que quizás el NGF puede actuar regulando diversos procesos durante la cicatrización de heridas cutáneas (66).

CTGF (Connective Tissue Growth Factor)

- El factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) es un miembro más de una familia de proteínas que, junto con el cysteine-rich 61 (cyr61), actúan en el proceso de reparación de heridas.
- El CTGF es sintetizado por muchos tejidos y órganos y su función es la estimulación y proliferación de fibroblastos y el aumento de la quimiotaxis (67).
- Además es un importante inductor de matriz extracelular, aumentando el colágeno tipo I y la fibronectina, y actúa como mediador del TGF-1 en el proceso de cicatrización (68).
- En estudios *in vitro* se ha demostrado la capacidad de cyr61 para la regulación de la inflamación, la angiogénesis y la interacción de las células con la matriz (69).

Citoquinas

Las citoquinas son polipéptidos secretados por linfocitos, macrófagos, células endoteliales, hepatocitos, células glias y otros tipos celulares que poseen actividad hormonal y por lo general, actúan de una forma paracrina regulando diferentes respuestas inmunitarias, regulando actividades celulares y participando como mediadoras de diversos procesos.

Citoquinas que intervienen en la cicatrización de heridas

Las citoquinas son moléculas activas que participan en el proceso de cicatrización de heridas, ya que estimulan la migración de múltiples tipos de células a la zona de la herida, particularmente las células implicadas en la respuesta inflamatoria. Además, la presencia de receptores de citoquinas en determinadas células de la zona de la herida sugiere que también contribuyen a la regulación de la reepitelización, la remodelación de tejidos, y la angiogénesis. Entre ellas podemos destacar las interleuquinas (IL), las linfoquinas y varias moléculas relacionadas con la señalización, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF-) y los interferones (70).

Existe un grupo de citoquinas denominadas quimiocinas (citoquinas quimiotácticas) que estimulan la quimiotaxis y extravasación de leucocitos en las heridas. Este grupo está compuesto por una gran familia de 50 moléculas que se subdividen en 4 subfamilias, dependiendo de si las dos primeras cisteínas de su estructura molecular están o no separadas por otro aminoácido, de esta forma se dividen en las quimiocinas CXC (cis-X-cis), las quimiocinas CC (cis-cis), las quimiocinas CX3C o linfotactinas, y las C-quimiocinas o fractalquinas (71).

En general las CXC son potentes quimioatrayentes para neutrófilos mientras que las CC atraen más eficientemente a los monocitos. Dado que las respuestas inflamatorias se inician con la migración de estas células hacia el foco inflamatorio, dirigidas por la acción de las quimiocinas, estas moléculas son altamente inducibles en una amplia variedad de células por estímulos proinflamatorios como el LPS bacteriano, la IL-1, el TNF- o el IFN-.

Algunas CC son también potentes atrayentes de eosinófilos, basófilos, macrófagos, mastocitos y células T memoria, iniciando así una respuesta inflamatoria como consecuencia de una respuesta inmune específica en la zona de la herida (72, 73).

Además, se ha detectado la presencia de receptores de quimiocinas en las células del tejido reepitelizado, lo que sugiere que también participan en la remodelación del tejido epitelial y en la angiogénesis.

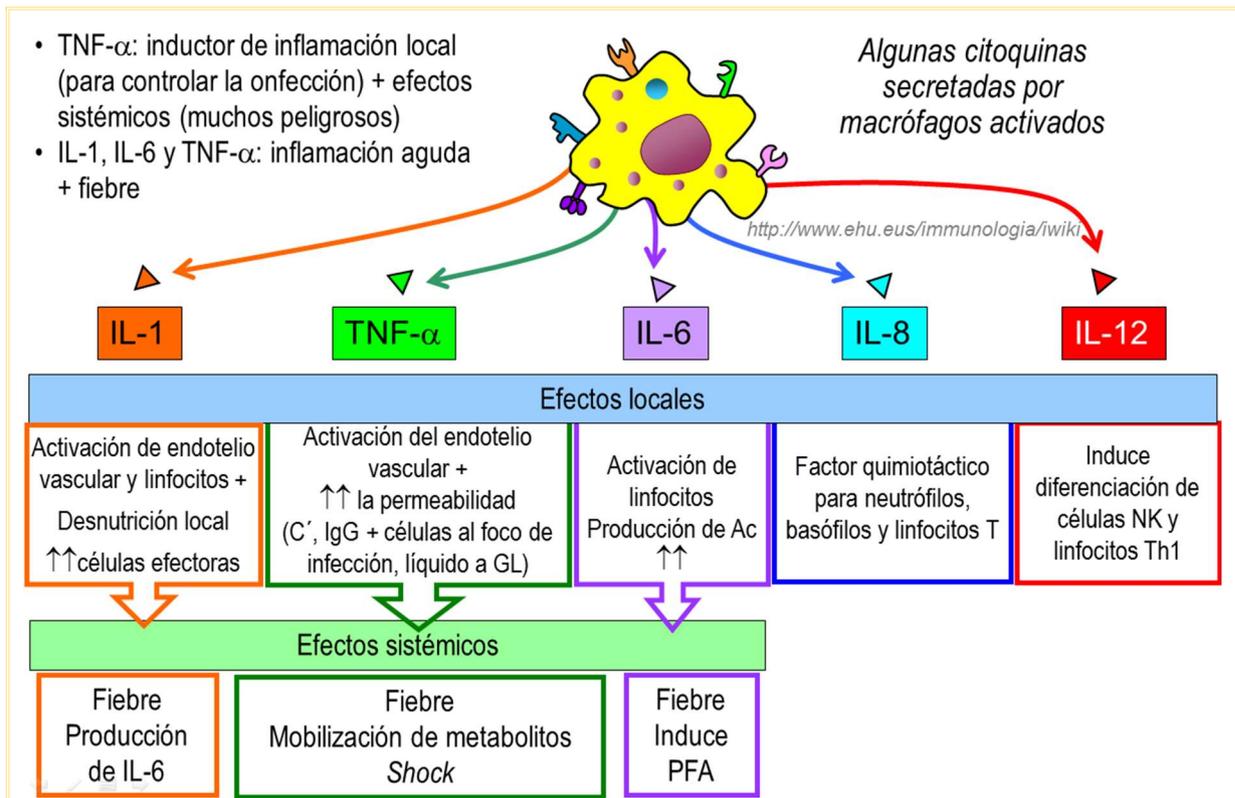
Todo ello hace pensar que las quimiocinas participan en el proceso de cicatrización de heridas cutáneas de una manera activa (74).

Las citoquinas proinflamatorias, incluyendo la IL-1 α , la IL-1 β , las IL-6 y TNF α , desempeñan procesos como la estimulación de la proliferación de queratinocitos y fibroblastos, quimiotaxis de fibroblastos, regulación de la respuesta inmune y la síntesis y estructuración de matriz extracelular.

Los polimorfonucleares, los macrófagos y los leucocitos expresan estas moléculas, además de otros tipos celulares en la herida cutánea, y se conoce que los glucocorticoides inhiben la expresión de estas citoquinas proinflamatorias (75).

La IL-10 regula y limita el proceso de inflamación, por ello es una citoquina antiinflamatoria que también participa en el proceso de cicatrización. Además, regula el crecimiento y/o diferenciación de las células inmunológicas implicadas, queratinocitos y células endoteliales en la herida (76).

El factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF) es una citoquina pleiotrópica que, además de su efecto sobre las células hematopoyéticas, muestra una acción mitogénica para los queratinocitos (77) y es capaz de estimular la migración y proliferación de las células endoteliales, desempeñando un papel importante en la cicatrización de heridas (78).



Como consecuencia de su activación los macrófagos producen diferentes familias de citoquinas:

- ◇ Citoquinas que inducen una respuesta inflamatoria aguda, local o sistémica: IL-1 (IL-1 α , IL-1 β), TNF- α e IL-6.
- ◇ Citoquinas que median el reclutamiento de leucocitos en el tejido inflamado: quimiocinas.
- ◇ Citoquinas que inducen la proliferación y/o diferenciación de precursores leucocitarios en la médula ósea: G-CSF, M-CSF y GM-CSF.
- ◇ Citoquinas que orientan el tipo de la respuesta inmune adaptativa: IL-12 e IL-18, IL-1 β , TGF- β .
- ◇ Citoquinas que inhiben la activación del macrófago en el foco inflamatorio, con el fin de regular estos eventos y evitar lesiones inflamatorias en el huésped: IL-10 y TGF- β

Figura 11: Diferentes familias de citoquinas por activación de los macrófagos;

Fuente: http://www.ehu.es/immunologia/iwiki/?2_1_Immunidad_innata_frente_a_bacterias_extracelulares

3.10.4.- Proceso de regeneración tisular (79)

La lesión de un tejido activa una serie de acontecimientos que se inician desde el mismo momento de la lesión y que forman parte del proceso de cicatrización. Este proceso puede dividirse de forma amplia en **regeneración** y **reparación** (80). La regeneración permite la recuperación completa del tejido dañado o lesionado, mientras que la reparación puede recuperar algunas estructuras originales, ocasionando algunas alteraciones estructurales.

La **regeneración** se refiere a la proliferación de células y tejidos para reemplazar estructuras perdidas; cuando se trata de tejidos complejos a veces este proceso no puede producirse y es entonces cuando se produce la reparación.

En la **reparación**, la proliferación de las células viene regulada por mecanismos de señalización celular entre los FC y los receptores, que tienen capacidad incluso para modificar el ciclo celular.

Si la lesión del tejido es grave o crónica, y resultan dañadas las células parenquimatosas y el soporte estructural del tejido, como es el caso de las heridas crónicas profundas, no será posible la curación mediante regeneración, sino que será posible mediante la reparación por el depósito de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular, causando la formación de una cicatriz.

En contraste, con la regeneración que implica la restitución de los componentes del tejido, la reparación es una respuesta fibroproliferativa que “parchea” el tejido en lugar de recuperarlo. En la mayor parte de los procesos de cicatrización se produce una combinación de reparación y regeneración (80).

Durante el proceso biológico de cicatrización de heridas se pueden distinguir dos tipos de procesos de reparación: por segunda intención; es decir, cuando la pérdida de células o tejido es extensa y la reparación precisa de un intervalo temporal más amplio, este proceso de reparación es más complejo, que el proceso de reparación por primera intención, donde se realiza una aproximación de los bordes de la herida mediante sutura quirúrgica y la pérdida de la piel sólo causa una interrupción focal de la continuidad de la membrana basal epitelial y la muerte de un número relativamente escaso de células epiteliales y de tejido conjuntivo.

El proceso de cicatrización de heridas cutáneas se divide en 3 fases diferenciadas que son: fase de hemostasia e inflamación, fase proliferativa y fase de maduración y remodelación (81).

Conceptos generales sobre la cicatrización de heridas.

Hay 3 etapas distintas pero solapadas en el proceso de cicatrización: la inflamatoria, la proliferativa y la de remodelación.

✓ ***Fase de hemostasia e inflamación.*** Toda esta fase tiene lugar desde el momento de la lesión hasta el día 4-6. Cuando se produce un daño en los tejidos, los vasos sanguíneos resultan afectados, y es en estos donde se inicia el proceso de cicatrización mediante una serie de mecanismos que se ponen en marcha para producir un coágulo hemostático. Este primer proceso, el de hemostasia y coagulación, es un proceso que tiene lugar gracias a la cascada de los factores de la coagulación, tanto por la vía extrínseca (activada por los extractos de tejido expuestos en la zona lesionada y que activa al Factor XII), como por la vía intrínseca (la cual activa el Factor VII por la presencia de colágeno expuesto y los cambios en la membrana basal del endotelio lesionado). Ambas vías activan el Factor Xa que será el responsable de activar la vía común que termina con la conversión del fibrinógeno en fibrina. Al mismo tiempo que ocurre la cascada de la coagulación, los vasos lesionados mantienen un estado de vasoconstricción que dura en torno a 5-10 minutos, y se lleva a cabo la agregación y degranulación plaquetaria, consiguiendo así reducir la pérdida de sangre y llenar el hueco del tejido lesionado con un coágulo de sangre formado por citoquinas y FC, entre otros (82).

Una vez transcurrido este tiempo en el que se ha mantenido la vasoconstricción, se produce una vasodilatación que aporta mayor flujo sanguíneo y con ello una mejora de oxígeno que regula el pH y a su vez aporta nuevas plaquetas a la zona del coágulo hemostático.

Estas plaquetas, al degranularse, aportan nuevos factores quimiotácticos, como el GM-CSF, que atrae a los leucocitos, y también aportan citoquinas como la IL-1, la IL-6 o el TNF- α que estimularán el proceso inflamatorio, el inicio de los sucesivos procesos de síntesis de colágeno, la activación de la transformación de los fibroblastos a miofibroblastos o de la angiogénesis. Esta vasodilatación puede ser reconocida por una hiperemia local y edema perilesional (83).

La fase inflamatoria, que se activa durante la fase de hemostasia y coagulación, se caracteriza por la migración de neutrófilos a la herida. La función de los neutrófilos es crucial en los primeros días después de la lesión debido a su capacidad de fagocitosis, a la secreción de proteasas antimicrobianas y a la degradación del tejido necrótico. Por otra parte, actúan como quimioatrayentes para otras células que están implicadas en esta fase ya que los neutrófilos liberan mediadores tales como el TNF- α , la IL-1 β o la IL-6, que amplifican la respuesta inflamatoria y estimulan el VEGF y la IL-8 (84). Los macrófagos son una de las células más activas en la fase inflamatoria y tienen funciones

- ✓ **Fase proliferativa.** Esta fase se desarrolla transcurridos 3 días después de que comience la fase de hemostasia y coagulación y perdura hasta el día 10. En esta fase los fibroblastos juegan un papel importante ya que serán las principales células que, bajo el control y la regulación de FC como el IFN- γ y el TGF- β , construyan una nueva matriz de tejido conectivo compuesto de colágeno, fibronectina y otros elementos de soporte que provoquen el cierre de la herida (85).

La migración de los fibroblastos se realiza desde el tejido sano circundante hasta la matriz de fibrina que se construyó en la fase de hemostasia, además, aparece un aumento de la proliferación de los fibroblastos debido a la estimulación por parte de los FC contenidos en dicha matriz, como el TGF- β 1, el PDGF, el FGF, el EGF o el VEGF, que activan la mitosis celular produciendo el tejido de granulación. La migración de los fibroblastos se hace posible ya que determinadas enzimas y proteasas séricas como la plasmina o la colagenasa, sumadas a otras que secreta el propio fibroblasto, facilitan el desplazamiento celular. Esta degradación proteolítica es regulada por el factor TGF- β , el cual induce la secreción de inhibidores de las proteinasas (86).

Una vez los fibroblastos alcanzan la matriz de fibrina y proliferan, comienzan a fabricar una nueva matriz cuya base será el colágeno, además de la fibronectina y el ácido hialurónico, y que estará regulada por el IFN- γ (87).

Otro de los procesos que ocurren de forma paralela a la proliferación de los fibroblastos es el proceso de angiogénesis. La activación de la mitosis de las células endoteliales, de los vasos lesionados, se realiza mediante FC como el VEGF, el PDGF o el FGF. Esta activación del proceso provoca en las células endoteliales, la síntesis de proteasas locales que son capaces de disolver la lámina basal de endotelio para poder migrar y

proliferar. De esta forma se construyen pequeños canales que se interconectan entre sí formando una red vascular por la que circulará el torrente sanguíneo aportando nuevos FC; resultando un tejido denso que se compone de un alto número de fibroblastos, granulocitos, macrófagos y pequeñas redes vasculares inmersas en una red de colágeno (88).

La reorganización de los componentes de la matriz, así como la maduración de los fibroblastos hacia miofibroblastos son esenciales para finalizar la etapa de proliferación (89).

✓ **Fase de re-epitelización y remodelación.** Esta fase comienza el día 8 y puede llegar a un año, dependiendo del grado de la lesión. La epitelización se logra gracias al crecimiento de los queratinocitos locales del borde de la herida. Este proceso es activado por las vías de señalización de diferentes células epiteliales y no epiteliales del borde de la herida, las cuales liberan citoquinas y FC como el EGF, el KGF, el IGF-1 o el NGF (88). Para que los queratinocitos puedan migrar y cubrir por completo la herida es necesario un cambio en su fenotipo que consiste fundamentalmente en una retracción de sus tonofilamentos y el desarrollo de filamentos de actina, cuya activación se logra mediante la IL-1, resultando una célula con mayor capacidad proliferativa y migratoria (90).

La proliferación ocurre en forma superpuesta a la migración, es decir, mientras las células epiteliales migran a través de la herida, las células proximales proliferan por el estímulo de FC solubles como el EGF, el TGF- α , el PDGF o el FGF. Para que el queratinocito finalice su proliferación y migración es necesario que intervengan FC, como el IFN- γ , el cual lo estimula para secretar citoqueratina que hará al queratinocito más contráctil, o el TGF- β que lo estimula a secretar queratina que lo convertirán en una célula basal (91).

El proceso de remodelación es el último paso de la cicatrización. Este proceso comienza con la apoptosis de los miofibroblastos para frenar la formación del tejido de granulación y con la reestructuración de los componentes de la matriz extracelular. El colágeno tipo III sintetizado en la fase proliferativa es reemplazado por el colágeno tipo I que es más fuerte, el cual se orienta de forma paralela en pequeños paquetes (92). Posteriormente los miofibroblastos comienzan un proceso de contracción que disminuye el tamaño de la herida, a la vez que el proceso de angiogénesis disminuye y se ralentiza el aporte de flujo sanguíneo a la herida, disminuyendo por tanto el aporte

de proteínas de señalización, con lo que se da por concluido el proceso de cicatrización (93).

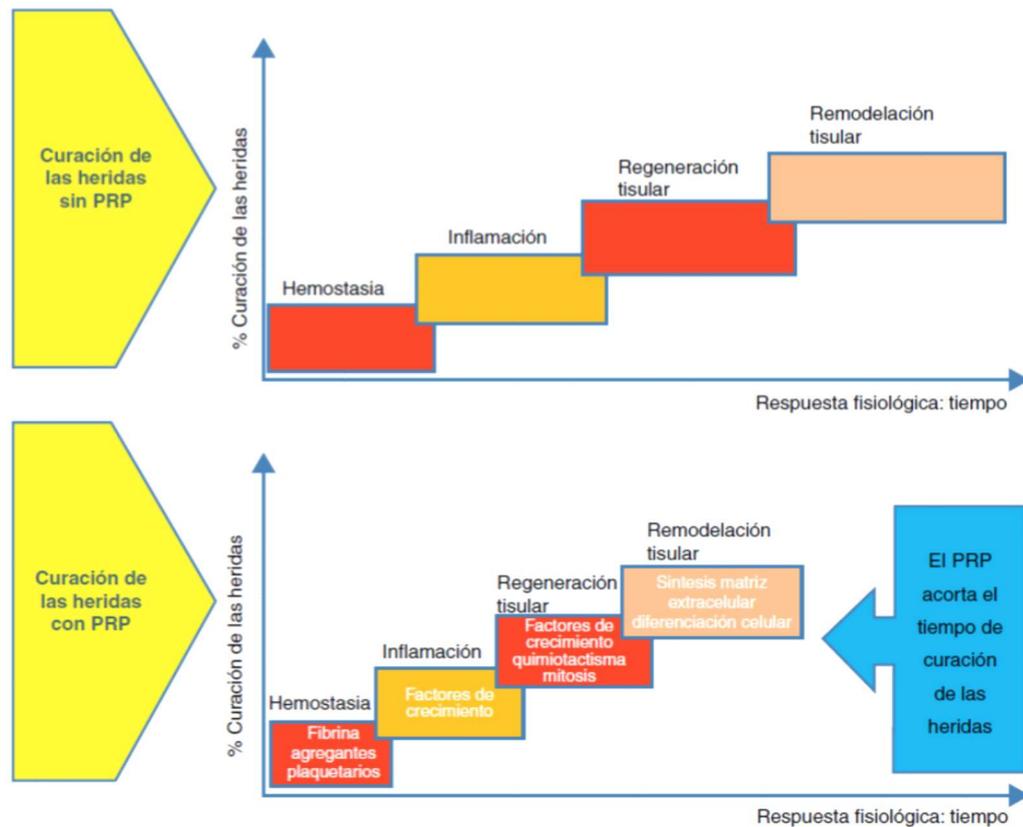


Figura 12: Diagrama esquemático del proceso de curación de las heridas en condiciones normales y de su aceleración cuando se aplica el preparado plasmático rico en plaquetas. Fuente: Elsevier: revesciroralmaxilofac.2012;3 4(1):8–17

3.10.5.- Plasma rico en Plaquetas y plasma rico en factores de crecimiento

El Plasma rico en plaquetas (PRP) y el plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) son dos conceptos distintos, si bien es común que se usen indistintamente. El PRP, contiene la fracción rica en plaquetas del plasma en donde las plaquetas no están activadas ni agregadas, por lo que el contenido de los gránulos alfa no se ha liberado. Tras la activación se producirá la de granulación y pasaremos a tener una concentración elevada de FC, es entonces cuando tenemos plasma rico en FC (PRGF). Por tanto, partimos de plasma rico en plaquetas (PRP) que por activación plaquetaria con cloruro cálcico convertiremos en plasma rico en FC (PRGF) (94, 95).

Para la preparación del PRP se necesita la extracción de sangre periférica del paciente utilizando como anticoagulante el citrato sódico. Posteriormente se centrifuga para separar la fracción rica en plaquetas; tras este procedimiento obtendremos tres fracciones separadas por su densidad, tal y como describe Anitua, (96):

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

Utilidad clínica de PRP

Actualmente el PRP está teniendo diversas aplicaciones clínicas y de formas muy diferentes. Cabe destacar que los resultados encontrados en la literatura son muy distintos dependiendo de cómo se aplica y qué protocolo se sigue. Lo cierto es que son muchos los estudios que analizan la utilidad de los FC de las plaquetas para mejorar los procesos de cicatrización de tejidos. Por lo que hoy día se ha extendido su utilización en muy diferentes campos clínicos con resultados satisfactorios.

Ya desde 1990, se propuso la utilización de PRP autólogo, para la curación de úlceras cutáneas y así favorecer la formación de tejido de granulación. Este producto se comenzó a utilizar en las úlceras crónicas de miembros inferiores. El PRP utilizado era conocido como factor plaquetario derivado de la cicatrización de las heridas.

El mecanismo por el que se explica su efecto es mediante la estimulación de la vascularización y formación del tejido conectivo (97).

Actualmente los estudios realizados no son concluyentes y hay una cierta controversia sobre la utilidad del PRP en el tratamiento de las úlceras crónicas; mientras unos autores muestran que la aplicación tópica de lisados de plaquetas en las úlceras no influyen en la curación (98), otros estudios justifican justo lo contrario (95), tras la aplicación de PRP en diferentes tipos de úlceras cutáneas, entre las que se incluye las UPP, el porcentaje de superficie cicatrizado es significativamente más alto que en el grupo que reciben un tratamiento estándar.

Así mismo, otros autores (99) muestran la utilidad de un gel de plaquetas, compuesto de una mezcla de concentrado plaquetario y de crioprecipitado activado en presencia de cloruro cálcico, el cual al ser aplicado sobre una úlcera crónica de pie diabético supuso su recuperación evitando su amputación.

En el caso de las UPP, un tipo de úlceras crónicas, son limitados los estudios que muestran la utilidad del PRP como alternativa en los cuidados y tratamiento de las mismas.

3.10.6.- Terapia PRGF-ENDORET

EL Plasma Rico en Factores de crecimiento (PRGF®-Endoret®) es una nueva tecnología cuyo objetivo es la regeneración de los tejidos lesionados. Fue a principios de 1990 cuando se realizó la primera descripción como “pegamento biológico”. Se inició su aplicación en cirugía maxilofacial, donde se observó sus propiedades como formador de hueso, efecto antiinflamatorio, así como efecto antibacteriano. Sin embargo, el PRGF no solo contiene plaquetas sino plasma con fibrina y otros factores de crecimiento que le aportan otras propiedades y que influyen en la reparación de los tejidos (9, 100).

Los Factores de Crecimiento (FC) son Polipéptidos que regulan la Mitogénesis, Quimiotaxis, Diferenciación Celular, Metabolismo y fenotipo de numerosos tipos de células. Están producidos por gran variedad de células. Se unen a receptores específicos de membrana en la superficie de la célula. Las células que reciben la señal pueden estar próximas o alejadas de la célula que ha sintetizado y liberado dicho factor. Podemos encontrar en el plasma FC como TGF- β 1, PDGF, IGF-1 que intervienen en casi todos los procesos fisiológicos. Cada FC tiene una o varias acciones específicas en una célula concreta dependiendo del entorno. Participan en la reparación y en la regeneración

La primera descripción que aparece en la literatura es la de “Pegamento biológico”, descrita por Matras y cols., en 1970 (101), como polímero biológico con fibrinógeno, trombina y calcio. Posteriormente en 1990 Gible y Ness (102) introdujeron el término de “gel de fibrina autólogo”, mostrando sus propiedades hemostáticas y adhesivas.

Fue posteriormente cuando se añadieron las plaquetas con los factores de crecimiento. Paralelamente se han intentado utilizar factores recombinantes, pero su alto coste de obtención, y que al ser un solo factor en ausencia de otros factores que modulan la respuesta celular y las elevadas dosis necesarias teóricamente han facilitado el desarrollo de los estudios

con concentrados de plaquetas por ser más baratos, fáciles de obtener y coste-beneficio (9, 103).

Las células de todos los tejidos del cuerpo humano están en un proceso continuo de renovación. Están embebidas en la matriz extracelular que participa activamente en el metabolismo celular y regulación del comportamiento de las células que están en contacto con ella. En esta matriz se encuentran las proteínas morfogenéticas y los Factores de Crecimiento. Las plaquetas son esenciales durante las diferentes fases de cicatrización de los tejidos, tanto en la fase inflamatoria aguda como en la de proliferación celular y posterior remodelado (104, 105).

No sólo a su participación activa en la hemostasia, sino también en su actividad quimiotáctica y sobre el crecimiento, morfogénesis y diferenciación celular (39).

Técnica de preparación de PRGF

En 1994, Tayapongsak y cols., aplicaron por primera vez la innovadora idea del material adhesivo de fibrina autólogo para favorecer la integración de injertos óseos en la reconstrucción de defectos mandibulares (106).

El plasma rico en plaquetas ha sido definido como, el volumen de plasma autólogo que tiene una concentración plaquetaria superior a la normal (107).

En la bibliografía podemos encontrar como sinónimos al PRP: PRP-gel, gel plaquetario, coágulo plaquetario o plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) (108). Uno de los problemas que se plantean es la incorrecta denominación de los diferentes productos pues presentan diferente preparación y concentración de factores y otras células. Esto hace que a la hora de comparar resultados exista disparidad de resultados. El PRP es una sustancia con un importante contenido en citoquinas, factores de crecimiento y otros elementos (catecolaminas, serotonina, iones calcio, ATP, albúmina, fibrinógeno, osteonectina, osteocalcina, factores de coagulación, entre otros) (109, 110).

Ha sido en estos últimos años cuando se ha establecido una diferenciación entre PRP y PRGF, al considerar que en este último, además de existir un incremento de la concentración plaquetaria, debe coexistir una ausencia de glóbulos blancos y una confirmación cualitativa y cuantitativa de los principales factores de crecimiento conocidos; obteniéndose también un incremento con respecto a los valores en plasma (111). Esta nomenclatura, confiere una nueva

importancia al plasma como fuente de factores de crecimiento de origen plasmático, con importancia similar a las plaquetas.

Aunque queda claro que los PRP en general son un concentrado de plaquetas, no está claro a día de hoy cuál debe ser la concentración ideal o mínima de plaquetas que deben alcanzar estos preparados; no existen datos definitivos ni concretos (110, (112).

Son pocos los estudios que hacen referencia a una teórica concentración ideal, siendo una concentración de 1.000.000 plaquetas/ μ l, a partir de la cual podría observarse una cicatrización tisular acelerada; teniendo en cuenta que el promedio normal de plaquetas en sangre periférica es de aproximadamente 200.000 plaquetas/ μ l (50, **¡Error! Marcador no definido.**, 113). De hecho, la Cruz Roja considera PRP una concentración mínima de 200.000 plaquetas/ μ l (114).

Lo mismo sucede con la concentración de factores de crecimiento, que sabiendo que debe ser significativamente más elevada que la encontrada en sangre, algún trabajo ha descrito que para alguna de estas citoquinas (PDGF y TGF- β), las concentraciones obtenidas fueron de entre 10 y 25 veces más que en plasma normal (115). Al mismo tiempo, el PRP contiene también diversas proteínas en suspensión, a parte de los factores de crecimiento plasmáticos, que juegan un papel importante en el proceso de reparación/regeneración tisular, entre las que destacan el fibrinógeno, la fibronectina y la vitronectina.

Éstas ayudan a la adhesión de células y de otras moléculas útiles para la conducción celular, actuando como “matriz” base para la reparación tisular, hecho muy evidente en el tejido óseo y conectivo (116, 117).

En los últimos años, se han empleado diversos procesos para la obtención de estos concentrados plaquetarios para su posterior aplicación local. Se diseñaron varios métodos desde, procedimientos estándar de aféresis celular de bancos sanguíneos, preparaciones a partir de “buffy coat”, y a partir de métodos de tubo mediante la separación en centrífuga (118).

Durante los últimos años son muchos los sistemas comercializados (más de 20) para la obtención de PRP, con el objetivo de concentrar mayor cantidad y calidad de producto, teniendo en cuenta entre otros parámetros el contenido celular (densidad plaquetaria), grado de contaminación por células blancas, activación plaquetaria mediante contenido de factores

de crecimiento (mediante el empleo de inmuno-ensayos específicos) (118, 119). Con el propósito de conocer cuál es el apropiado se han realizado diferentes estudios.

Desde el punto de vista práctico por los medios a disposición y clínicamente, el método más viable para obtener la fracción de plasma más rica para su posterior activación y aplicación, es la técnica de diferenciación en tubo. A la hora de fraccionar esta sangre entera, se acude a métodos de centrifugación donde, en función de cada autor, se aplican unos tiempos y unas revoluciones determinadas con el objetivo de separar esta porción de plasma

Existen más de 20 productos comercializados, identificados como PRP o similares tal y como se resume en la Tabla 4:

Sistema de PRP	Volumen sangre	centrifugado	Tiempo	Volumen PRP	Concentración plaquetas	Leucocitos	Activador
ACP-DS (Arthrex)	9 ml	simple	5min	3ml	x2-3	NO	ninguno
Fibrinet (Cascade)	9-18ml	simple	6min	4-9ml	x1-1,5	NO	CaCl ₂
GPS (Biomet)	27-110ml	simple	15min	3-12ml	x3-8	SI	AT/ CaCl ₂
Magellan (Medtronic)	30-60ml	doble	4-6min	6ml	x3-7	SI	CaCl ₂
PRGF-Endoret (BTI)	9-72ml	simple	8min	4-32ml	x2-3	NO	CaCl ₂
SmartPrep (Harvest tech)	20-120ml	doble	14min	3-20ml	x4-6	SI	BT/ CaCl ₂

CaCl₂: Cloruro Cálxico; AT: Trombina autóloga; BT: Trombina bovina

Tabla 4: Características diferentes Sistemas de preparación de PRP. Fuente: Vaquerizo-García, V. Tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de Plasma rico en Factores de Crecimiento, 2013.

Ante dicha variabilidad de sistemas comercializados se han realizado diferentes estudios buscando cuales son los que presentan mayor concentración tanto de plaquetas como de factores. En el estudio realizado por Weibrich y cols., se compararon “Platelet-Rich-in-Growth Factors kit” (PRGF kit; BTI Biotechnology) y “The Platelet Concentrate Collection System” (PCCS; 3i/Implant Innovations, Palm Beach Gardens, FL) (102)

Las principales diferencias entre los dos métodos son los tiempos de centrifugación. En el PCCS se extrae un mayor volumen de sangre (60 ml) y es sometido a dos períodos de centrifugación (1º.- 3,75 minutos a 3000 rpm y la 2º.- 13 minutos a 3000 rpm). En el caso del PRGF kit se extraen tres tubos de 5 ml y son sometidos a una centrifugación de 8 minutos a 1800 rpm. El producto final obtenido con el PCCS presentó una mayor concentración plaquetaria, y, por tanto, mayores niveles de factores de crecimiento (Tabla 5).

Es sabido que los niveles de factores de crecimiento en las preparaciones de PRP pueden variar según las concentraciones obtenidas de plaquetas y leucocitos. Los resultados del

presente estudio confirmaron que, las bajas concentraciones de leucocitos obtenidas con el PRGF kit resultaron en unos bajos niveles de PDGF-AB; además las bajas concentraciones de plaquetas obtenidas con ese mismo método dieron lugar a unos bajos niveles de TGF-β1.

Autor	Especie	Método	Protocolo centrifugación		Plaquetas en sangre periférica (cel/μl)	Plaquetas en PRP (cel/μl)	TGF-β1 en PRP (ng/ml)
			1ª	2ª			
Weibrich ⁽¹⁾	Humana	PCCS Kit	3000 rpm 3,75 minutos	3000 rpm 13 minutos	274200 ± 54050	1641800 ± 426820	289,85 ± 94,6
Anitua ⁽¹⁾	Humana	PRGF Kit	1800 rpm 8 minutos	-	274200 ± 54050	513630 ± 139470	73,3 ± 25,6
Ouyang Xiang-Ying y Qiao Jing ⁽¹⁾	Humana	Manual	1220 rpm 15 minutos	3600 rpm 15 minutos	240900	1300000	-
Sánchez y cols.	Humana	PRGF System II	460 g 8 minutos	-	142000 a 379000	421000 a 1314000	74,99 ± 27,48
Okuda y cols. ⁽¹⁾	Humana	Manual	2400 rpm 10 minutos	3600 rpm 15 minutos	257000 (*) ± 46000	709000 ± 216000	126,2
De Vasconcelos Gurgel y cols.	Canina	Manual	200 g 10 minutos	200 g 15 minutos	148250	460350	-
Carmona y cols.	Caballo	Manual	120 g 5 minutos	240 g 5 minutos	-	250 x 10 ⁸ ± 71,8 x 10 ⁸	12,515 ± 2,443
Grageda y cols. ⁽²⁾ [242]	Ovina	HSPP Kit	-	-	261500 ± 118700	588700 ± 358000	-
Aghaloo y cols.	Conejo	Manual	215 g (1500 rpm) 10 minutos	863 g (3000 rpm) 10 minutos	144000	1050000	-

(*) En este caso, el valor referenciado corresponde a la concentración de plaquetas en plasma no concentrado.(1) Los autores indicados no expresan la velocidad de centrifugación en fuerza centrífuga relativa (g).(2)En este artículo se indica que se utiliza una doble centrifugación, pero no referencian tiempos ni g-rpm.

Tabla 5: Colección de protocolos descritos para la obtención de PRP-PRGF. Fuente: Vaquerizo-García,V. Tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de Plasma rico en Factores de Crecimiento.2013

El PRGF-Endoret es el producto resultante de muchos años de investigación, valorando los diferentes protocolos de centrifugaciones y obtención de la fracción rica de plasma. Es el conjunto de formulaciones con actividad terapéutica que obtienen de la sangre del paciente y sigue un mismo protocolo de elaboración. El PRGF es un producto 100% autólogo e incompatible (120).

El PRGF se elabora a partir de pequeños volúmenes de sangre del paciente (20cc). No se trata de un concentrado plaquetario, sino que se obtiene tras una sola etapa de centrifugación. No contiene elementos leucocitarios sino un plasma rico en plaquetas. Las células de la serie blanca y en especial los leucocitos contienen citoquinas proinflamatorias y expresan metaloproteasas (MMP-8 y 9) capaces de degradar la matriz extracelular. La

activación del PRGF se realiza con una dosis estándar de cloruro cálcico de forma que se aprovecha la propia trombina del paciente, no empleando en ningún caso trombina bovina, lo que evita riesgos de bioseguridad. Presenta una concentración de plaquetas 2 a 3 veces superior a la fisiológica, que es la concentración óptima, puesto que dosis inferiores serían subterapéuticas y concentraciones superiores no inducen efectos superiores e incluso ejercen acciones inhibitorias (121, 122).

Autores	Publicado	Especie	Centrifugación					
			1ª		2ª		3ª	
			g/m	t	g/m	t	g/m	t
Marx y cols.	1998	Humana	1400	20	600	20-30	-	-
Anitua	1999	Humana	160	6	-	-	-	-
Zimmerman y cols.	2001	Humana	1650	10	730	15	-	-
Sánchez y cols.	2003	Oveja	460	8	-	-	-	-
Oyama y cols.	2004	Humana	160	20	400	15	-	-
Anitua y cols.	2004	Oveja	460	8	-	-	-	-
Guillén y cols.	2005	Conejo	400	7	-	-	-	-
	2005	Humana	4100	15	300	6	4000	15

Referencias: g/m: giros por minuto; t: tiempo total en minutos.

Tabla 6: Protocolos referenciados para la obtención del PRP. Fuente: Vaquerizo-García, V. Tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de Plasma rico en Factores de Crecimiento, 2013

4.- HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1.- Hipótesis

Pregunta de investigación: ¿Es efectivo el tratamiento con plasma enriquecido en plaquetas y factores de crecimiento en el tratamiento de heridas por presión en comparación con las curas habituales en ambiente húmedo?

De la pregunta de investigación se desprende la siguiente hipótesis operativa:

- ✓ Las heridas tratadas con Plasma rico plaquetas y factores de crecimiento (PRGF-Endoret) tienen un tiempo de cicatrización completa de la herida menor, con respecto a las heridas tratadas con curas húmedas.
- ✓ Las heridas tratadas con Plasma rico plaquetas y factores de crecimiento (PRGF-Endoret) presentan una menor superficie y volumen a la 4ª y 9ª semana con respecto a las tratadas con cura húmeda. Así mismo presentan menor dolor y puntuación en la escala PUSH

4.2.- Objetivos

Objetivo general: Determinar la eficacia del tratamiento PRGF-Endoret en úlceras por presión de larga duración en pacientes de edad avanzada. Para ello se comparará el efecto regenerativo de esta terapia antológica frente al tratamiento convencional.

Objetivos específicos:

- ✓ Adecuar la técnica diagnóstica y de aplicación de PRGF-Endoret.
- ✓ Identificar puntos críticos en el procedimiento de intervención terapéutica

5.- METODOLOGIA

5.1. Diseño del estudio

Ensayo clínico multicéntrico, controlado y aleatorizado con dos brazos paralelos.

5.2 Ámbito y periodo de estudio

El desarrollo de este estudio piloto, será en los 4 centros que la Fundación Geriatros-Sarquavitae tiene en el País Vasco; Miraflores, Ariznabarra, Villa Sacramento y Berra, que están localizados los dos primeros en Bilbao y Vitoria y en San Sebastián los dos últimos. Se realizará durante los años 2018-2019.

El total de pacientes potenciales es de 542 residentes con una media de 83,5 años, correspondiendo el 62,38% a mujeres y el 37,62% a hombres. De los diferentes grados de dependencia, el 31,2% presentan una dependencia severa y un 62,5% una gran dependencia (Memoria Fundación Sarquavitae 2014).

Grado I	Dependencia moderada	Necesita ayuda para realizar alguna actividad básica de la vida diaria, al menos una vez al día o tiene necesidades de apoyo intermitente o limitado para su autonomía personal.
Grado II	Dependencia severa	Necesita ayuda para realizar varias actividades básicas de la vida diaria dos o tres veces al día, pero no requiere el apoyo permanente de un cuidador o tiene necesidades de apoyo extenso para su autonomía personal.
Grado III	Gran dependencia	Necesita ayuda para realizar varias actividades básicas de la vida diaria varias veces al día y, por su pérdida total de autonomía física, mental, intelectual o sensorial, necesita el apoyo indispensable y continuo de otra persona o tiene necesidades de apoyo generalizado para su autonomía personal.

Tabla 7: Grados y niveles de dependencia. Fuente: Sociedad Española de Gerontología y Geriátrica.2011. Ley 39/2006: BOE nº 299 15 diciembre 2006.Promoción de la autonomía y atención a las personas en situación de dependencia.

	Anciano sano* (adulto viejo)	Anciano frágil (anciano de alto riesgo)	Paciente geriátrico
			
Concepto	Edad avanzada y ausencia de enfermedad objetivable.	Edad avanzada y alguna enfermedad u otra condición que se mantiene compensada (en equilibrio con el entorno) (alto riesgo de descompensarse) (alto riesgo de volverse dependiente).	Edad avanzada y algunas enfermedad/es crónica/s que provocan dependencia, suele acompañarse de alteración mental y/o de problema social.
Actividades instrumentales vida diaria **	Independiente (para todas).	Dependiente (para una o más).	Dependiente (para una o más).
Actividades básicas vida diaria ***	Independiente (para todas).	Independiente (para todas).	Dependiente (para una o más).
Comportamiento ante la enfermedad	Baja tendencia a la dependencia.	Alta tendencia a la dependencia.	Tendencia a mayor progresión de la dependencia.
Probabilidad de desarrollar síndromes geriátricos	Baja.	Alta.	Muy alta.

* El llamado «anciano enfermo» se corresponde con el anciano sano que padece una única enfermedad aguda.

** Referido a actividades instrumentales complejas (comprar, cocinar, lavar ropa, limpieza de hogar, usar teléfono, usar dinero, usar transporte público y tomarse la medicación) pueden ser evaluados mediante el índice de Lawton u otros similares (ver instrumentos de evaluación en anexo).

*** Referido a actividades básicas para el autocuidado (comer, higiene, vestirse, utilizar cuarto de baño, continencia y movilidad) pueden ser evaluados mediante el índice de Barthel u otras similares (Katz, Escala de incapacidad física Cruz Roja).

Figura 13. Tipologías de ancianos: perfiles clínicos orientativos.

Fuente: <https://twitter.com/drtorresprado>

Para la realización de este Estudio se seleccionarán, consecutivamente, a todos los pacientes que reúnan el diagnóstico de úlcera por presión y que residen en alguno de nuestros centros, hasta alcanzar el tamaño muestral previsto de 200 pacientes, en base a los siguientes criterios de inclusión & exclusión:

Criterios de inclusión:

- ✓ Hombre/Mujer residente ≥ 65 años.
- ✓ Consentimiento informado por parte del paciente y/o del tutor responsable del paciente.
- ✓ Pacientes con úlceras por presión (UPP) con más de 30 días de evolución.
- ✓ UPP sin signos de infecciones
- ✓ UPP con exudado nulo, leve o medio (se excluyen las de exudado abundante)
- ✓ UPP con una superficie máxima de 21cm²
- ✓ UPP de grado II, III o IV (preferiblemente grado II o III)

Criterios de Exclusión:

- ✓ Pacientes en los que no se pueda garantizar la no manipulación de los apósitos y del lecho de la úlcera.
- ✓ Paciente con alguna infección o inmunodeprimidos.
- ✓ Sospecha o presencia de osteomielitis.
- ✓ Paciente desnutrido, con hiporexia o cuyo IMC ≤ 17 .
- ✓ Paciente anémico.
- ✓ Pacientes con trombocitopenia moderada-severa: < 90000 plaquetas / μ l
- ✓ Cáncer activo en la zona tratar o cáncer en sangre. (Leucemia, linfoma, mieloma múltiple o síndromes mielodisplásicos.)
- ✓ Radioterapia o quimioterapia actual o en los 3 meses previos.
- ✓ No encontrarse en situación terminal (Criterios de definición enfermo terminal SECPAL.2017).

5.3. Tamaño muestral

Con el tamaño muestral previsto (N=200), el estudio tendría una potencia $>90\%$ para detectar como estadísticamente significativos tamaños del efecto (effect sizes) moderados (d=0,5) en el tiempo de cicatrización, que es nuestra variable resultado principal (primary endpoint), siguiendo las recomendaciones clásicas de Cohen (123), en base a una T Student bilateral y un riesgo alpha del 5%. Este tamaño del efecto (d=0,5) se correspondería con una diferencia mínima clínicamente relevante, según recomendaciones de Norman et al., (124) y Kamper et al., (125).

5.4. Intervención

Trabajando bajo procedimientos de la práctica clínica habitual y una vez firmado el consentimiento informado por parte del paciente, se aleatorizará la intervención mediante una aleatorización por bloques, con un ratio 1:1, de modo que se crearán los siguientes dos brazos paralelos:

- ✓ **Grupo Experimental:** Se aplicará el tratamiento PRGF-Endoret. En cada cura se realizará una limpieza convencional (desbridamiento y limpieza con suero fisiológico) y a continuación se aplicará el tratamiento PRGF-Endoret. Se realizarán un total de 10 curas separadas una semana entre sí.
- ✓ **Grupo Control:** Se aplicará el tratamiento convencional. En cada cura se realizará una limpieza convencional (desbridamiento y limpieza con suero fisiológico). Se realizarán un total de 10 curas separadas una semana entre sí.

De acuerdo a los criterios de inclusión & exclusión previamente referidos, cada una de las intervenciones se aplicarán a un conjunto de pacientes con mínimo 1 úlcera /paciente, con edad igual o superior a los 65 años y úlceras de presión preferentemente de grado II o III (podrá incluirse alguna úlcera de tipo IV en el caso de que sea necesario) de más de 30 días de evolución y menos de 21cm².

En la visita basal (antes de iniciar los tratamientos) y en cada una de las visitas de tratamiento, se tomarán fotografías y se irán anotando las variables de seguridad y eficacia. Adicionalmente, para cada paciente se realizarán tomas de biopsias para su análisis histopatológico a diferentes tiempos: t=0 (antes de iniciar los tratamientos), t=4 semanas y t=9 semanas.

El presente estudio incluye un total de 10 curas comparativas entre el tratamiento PRGF y el tratamiento convencional. Una vez concluidas las 10 curas iniciales y en los casos en los que no se complete el cierre total de la UPP, se llevará un seguimiento mediante tratamiento habitual y se registrarán las variables de eficacia en el momento en que la UPP se cierre por completo (hasta un periodo máximo de 6 meses).

El protocolo para la preparación del tratamiento PRGF-ENDORET se detalla en el Anexo I.

El protocolo para la aplicación de la terapia convencional se detalla en el Anexo II.

5.5. Variables y recogida de datos

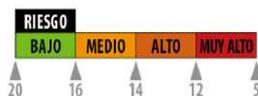
Cada paciente dispondrá de un cuaderno de recogida de datos (CRD) personal donde se irán recogiendo las diferentes variables de eficacia y seguridad descritas a continuación, así como cualquier observación adicional que el profesional clínico considere oportuno anotar.

- ✓ Número de historia clínica (NHC)
- ✓ Edad
- ✓ Sexo
- ✓ Diagnósticos de Diabetes y/o Insuficiencia Venosa y/o Arterial
- ✓ Analítica (eritrocitos, hematocrito, leucocitos, ESR, plaquetas, glucosa, etc)
- ✓ Grado de la UPP
- ✓ Localización de la UPP
- ✓ Fecha de inicio de la UPP (cuándo comenzó la úlcera)
- ✓ Nivel de riesgo de padecer UPP (Escala de Norton). Ver figura xx.
- ✓ Superficie: en mm² (cuantitativa continua)
- ✓ Profundidad de la UPP: en cm³ (cuantitativa continua)
- ✓ Rango de cicatrización: (“Superficie de la herida el día 0” – “superficie de la herida el día N”) / “Superficie de la herida el día 0”.
- ✓ Valor escala PUSH (Pressure Ulcer Scale for Healing): número entero (cuantitativa discreta).
- ✓ Tiempo de cicatrización completa de la herida: días (cuantitativa discreta).
- ✓ Análisis histopatológico de las úlceras de presión
- ✓ Grado de dolor: Dolor nulo / Dolor bajo / Dolor medio / Dolor alto / Dolor muy alto (ordinal), en base a la escala analógica visual EVA.

ESCALA DE NORTON, ¿QUÉ ES Y PARA QUÉ SIRVE?

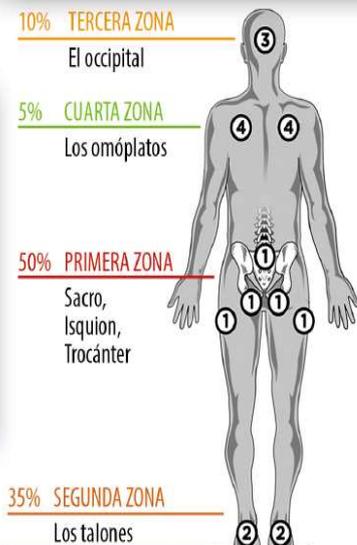
- La escala de Norton mide el riesgo que tiene un paciente de padecer úlceras por presión.
- Fue realizada por Doreen Norton en el año 1962.
- Valora cinco apartados con una escala de gravedad de 1 a 4, cuyos valores son sumados para obtener una puntuación total que estará comprendida entre 5 y 20.

Se consideran pacientes de mayor riesgo a aquellos con una valoración baja (a menor puntuación, mayor riesgo).



! La prevención es con seguridad la mejor estrategia contra las úlceras por presión, y para ello contamos con dos ayudas de gran efectividad por sus resultados contrastados: los sistemas dinámicos de colchón de aire con compresor alternante y los cojines antiescaras.

ZONAS DE MAYOR RIESGO



ANÁLISIS DE RIESGO Y RESULTADOS

ESTADO FÍSICO GENERAL		ESTADO MENTAL		MOVILIDAD		ACTIVIDAD		INCONTINENCIA		TOTAL
Bueno	4	Alerta	4	Total	4	Ambulante	4	Bueno	4	
Regular	3	Apático	3	Disminuida	3	Camina con ayuda	3	Regular	3	
Malo	2	Confuso	2	Muy limitada	2	Sentado	2	Malo	2	
Muy Malo	1	Estuporoso-Comatoso	1	Inmóvil	1	Encamado	1	Muy Malo	1	
RESULTADO		RESULTADO		RESULTADO		RESULTADO		RESULTADO		

Figura 14.: Puntuaciones de la Escala de Norton para evaluar el riesgo de padecer UPP.

Fuente: <http://www.ayudasdinamicas.com/catalogo/elige-el-cojin-adeecuado-siguiendo-la-escala-de-norton.pdf>

VARIABLES DEPENDIENTES (Endpoint o variables resultados)

El tiempo de cicatrización completa de la herida, en días, será considerada la variable resultado principal (primary endpoint). El dolor, superficie y volumen de UPP, y las puntuaciones en la Escala PUSH, serán tratados como variables dependientes.

Para para valorar el grado de curación y cierre de la UPP, se utilizarán dos variables diferentes: % de superficie cicatrizada y volumen de la UPP.

Se tomarán fotografías estandarizadas de las UPP tratadas. Antes de tomar la fotografía, se colocarán dos reglas a lo largo y ancho de la úlcera para anotar la longitud y anchura de la UPP. Ver imagen en la Figura 15:



Figura 15. Proceso de toma de la fotografía

Para determinar la superficie, las heridas serán fotografiadas todos los días con una cámara digital Nikon D300, y empleando una lente de macro de 60mm. Las fotografías se realizarán en buena resolución (4288x2848 pixeles). Las fotografías se realizarán con flash electrónico y se incluirá una escala milimetrada junto a la herida en cada fotografía. Se empleará un soporte para garantizar que todas las fotos son tomadas a la misma distancia y con el mismo ángulo. El aumento de la lente se fijará en 1:3, y la imagen será enfocada moviendo la cámara, por lo que todas las fotografías serán tomadas con el mismo aumento. Una vez completado el estudio, las fotografías serán cargadas en un software de edición de imagen (Adobe Photoshop CS2, version 9.0.2; Adobe Systems, Inc., San Jose, CA). El programa se utilizará para calibrar y trazar la zona abierta de la herida. El tamaño de la herida será medido en mm^2 utilizando para ello otro software de análisis de imagen (Fovea Pro 3.0, Reindeer Graphics, Ashville, NC).

Aplicando la fórmula ($\text{Area}=\text{longitud} \times \text{anchura}$), se anotará el área de la UPP (cm^2). Adicionalmente se medirá la profundidad de la UPP para calcular el volumen aplicando la fórmula ($\text{Volumen}=\text{longitud} \times \text{anchura} \times \text{profundidad}$) (cm^3)

Refiriendo el 100% al área y volumen inicial de cada úlcera en la visita basal, se irá evaluando el grado de disminución de la UPP a lo largo del tiempo.

Escala estandarizada PUSH: la escala estandarizada PUSH (Pressure Ulcer Scale for Healing) permite determinar de forma cuantitativa el grado de curación de una UP. Para ello se califican tres parámetros (área de la herida, cantidad de exudado y tipo de tejido) para obtener una Calificación PUSH (suma de los tres parámetros). Se irá evaluando el grado de disminución de PUSH a lo largo del tiempo. Los valores de esta escala se presentan en la Figura 15.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Puntuación
Área de la UP (longitud x anchura) cm ²	0 cm ²	<0.3 cm ²	0.3-0.6 cm ²	0.7-1 cm ²	1.1-2 cm ²	2.1-3 cm ²	3.1-4 cm ²	4.1-8 cm ²	8.1-12 cm ²	12.1-24 cm ²	>24 cm ²	
Cantidad de exudado	Ninguna	Ligera	Moderada	Pesada								
Tipo de tejido	Cerrado	Tejido epitelial	Tejido de granulación	Esfáculos	Tejido necrótico							
												Calificación total

La organización NPUAP define estos términos como:

- 0 pts - Cerrado: herida completamente cubierta de epitelio.
- 1 pto - Tejido epitelial: tejido rosado (o piel) brillante que crece en los bordes de la úlcera o en el lecho de la misma.
- 2 pts - Tejido de granulación: rosáceo y húmedo con una apariencia granular.
- 3 pts - Esfáculos: tejido fibroso de color amarillento o blanco que se adhiere al lecho de la úlcera.
- 4 pts - Tejido necrótico: tejido muerto, negruzco que se adhiere fuertemente al lecho de la úlcera o a los bordes.

Figura 16. Escala PUSH.

Análisis histopatológico: para proceder al análisis histopatológico de las úlceras de presión, se tomarán 3 biopsias de cada paciente a 3 tiempos diferentes del estudio. Para la toma de biopsias se utilizarán “punch” comerciales estériles de 3mm de diámetro. Se tomará la biopsia de la zona perilesional de la úlcera (ver imagen). Ver imagen en la Figura 16:

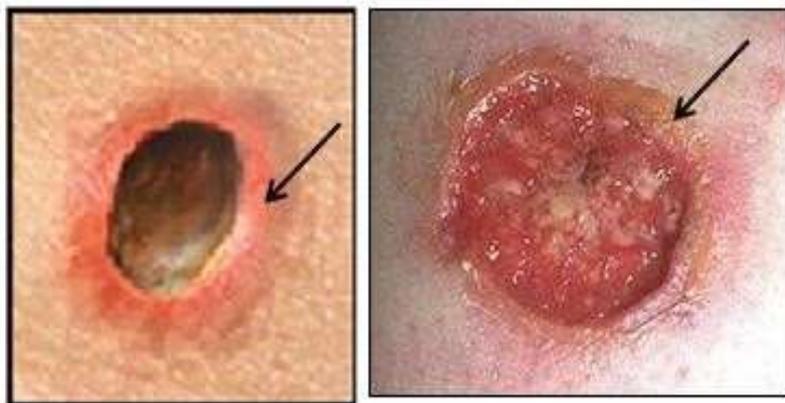


Figura 17. Proceso de toma de la biopsia de la zona peri-lesional de la úlcera.

Una vez extraída la biopsia se introducirá en un tubo de formol 4% correctamente identificado con el NHC y la fecha, para realizar el envío al laboratorio de investigación de BTI Biotechnology Institute (para que las muestras lleguen en correcto estado, no deben pasar más de 24h desde la obtención de la biopsia hasta su entrega en el laboratorio de investigación de BTI Biotechnology Institute).

Tal y como se muestra en el cronograma de estudio, la primera biopsia se tomará en la vista basal después de la toma de fotografías y antes de realizar el primer tratamiento. La segunda biopsia se tomará trascurridas las 4 primeras semanas de tratamiento. La última biopsia se tomará en la última sesión de tratamiento.

5.6. Análisis estadístico

Para las variables categóricas o discretas se estimarán proporciones con sus correspondientes intervalos de confianza al 95% (IC95%) utilizando la prueba ji-cuadrado de Pearson para realizar comparaciones, o Test exacto de Fisher. Para las variables continuas se estimarán medias con su desviación estándar o medianas y rangos intercuartílicos en caso de distribuciones asimétricas. Se utilizarán los tests de Student o ANOVA para analizar la relación entre variables cuantitativas y variables categóricas con 2 niveles, o variables categóricas con más de 2 niveles, respectivamente. La normalidad se estudiará con la prueba de Shapiro-Wilk. En caso de distribuciones muy asimétricas se usará la U de Mann Whitney.

Respecto a las comparaciones en los resultados de las variables respuesta cuantitativas (endpoint primario), se obtendrá la diferencia de medias ajustada por las principales variables

potencialmente confundidoras, usando modelos de regresión lineal múltiple. Como medida de asociación para los resultados de las variables respuesta dicotómicas, se obtendrán Odds Ratios ajustadas (OR) junto con sus Intervalos de confianza mediante modelos de regresión logística no condicional.

El análisis se realizará por intención de tratar, y se complementará con una estrategia de análisis por protocolo.

Se considerará un nivel de significación estadística de 0,05 para todos los contrastes de hipótesis, y todas las pruebas serán bilaterales. El análisis estadístico de los datos se realizará mediante el programa informático SPSS 22.0.

5.7. Consideraciones éticas

En primer lugar, se pondrá en conocimiento de la dirección gerente la realización del estudio y se solicitará el permiso y la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC).

Se intentará respetar el principio de autonomía de los participantes del estudio entregando un consentimiento informado y detallado de acuerdo a la declaración de Helsinki. Por último, los datos c se tratarán de forma confidencial serán anonimizados y tratados de un modo confidencial con arreglo a la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

5.5. Limitaciones

La intervención no se puede enmascarar. No obstante, la persona que recoja las variables dependientes, lo realizará de una forma cegada, sin conocer el grupo al que pertenece cada paciente. Asimismo, el análisis de datos, se realizará bajo condiciones de enmascaramiento.

La subjetividad en la determinación de las variables dependientes es una de las limitaciones del estudio, que puede conducir a un sesgo de información (mala clasificación). Para minimizar este sesgo, durante el seguimiento se ha elegido el método de fotografía digital

con escala milimetrada junto a la lesión. Se ha descartado la medida directa y el método del reloj por ser poco precisos; se ha descartado el método del acetato por ser invasivo y poder producir retraso en la cicatrización y ser posible fuente de infección. El método fotográfico tiene la ventaja de no ser invasivo, de aportar información extra (color de la lesión, presencia de esfacelos, aspecto del tejido de granulación) y de que gracias al software de reconocimiento de imágenes se puede obtener de forma muy precisa las dimensiones de la herida. También tiene una fiabilidad inter-observadores muy buena. Aun así, el método fotográfico cuenta con los inconvenientes de que es muy difícil tomar todas las fotos a la misma distancia de la herida y con el mismo ángulo, lo que puede afectar a las mediciones realizadas. Esto se puede corregir empleando una escala en cada fotografía tomada para tener una referencia del tamaño y un soporte para la cámara.

El sesgo de Confusión se intentará minimizar mediante la aleatorización de la intervención y mediante el uso de modelos multi-variables de regresión.

Se realizará un análisis por intención de tratar para corregir en lo posible el sesgo por mortalidad/abandono experimental.

6.2. Plan de trabajo

Tras la solicitud y aprobación por parte del CEIC, el plan de trabajo será el siguiente:

- **Primera fase:** solicitud de permisos, y formación. Investigador principal.
- **Segunda fase:** inicio del ensayo clínico aleatorizado.
- **Personal facultativo, de enfermería y técnico:** será el responsable de llevar a cabo el estudio usando los protocolos de trabajo (ver anexos) en el grupo intervención y el tratamiento convencional.
- **Estadístico:** Se utilizará un evaluador ciego para realizar el análisis de los datos por medio del programa informático SPSS.
- **Equipo investigador:** Será el encargado de interpretar los datos resultantes del estudio. Redactará la discusión y conclusiones, dando difusión a los hallazgos obtenidos.

ANEXO I

PROTOCOLO PARA LA PREPARACIÓN DEL TRATAMIENTO PRGF-ENDORET

A. Extracción de sangre

Se extraerá la cantidad de sangre estimada para el tratamiento (4 tubos azules de extracción) mediante el uso de la palomilla provista. Estos tubos ya son suministrados con anticoagulante. Mezcle la sangre y el anticoagulante una vez llenado el tubo. No superar 1 hora desde la extracción de sangre hasta la centrifugación de los tubos.

B. Centrifugación

Introduzca los tubos azules con la sangre extraída en los soportes de la centrífuga correctamente equilibrados. Para la centrifugación emplee la centrífuga PRGF System IV con el programa de tubos de 9 c.c.

Notas:

- En caso de extraer un número impar de tubos, rellenar uno con agua para equilibrar la centrífuga.
- Después de la centrifugación, la proporción sangre/plasma dependerá de cada paciente.
- En caso de obtener el plasma de color rojo, se recomienda encarecidamente NO usarlo.
- Realizar el paso 3 de forma inmediata.

C. Fraccionamiento

Después de la centrifugación se debe marcar una línea que marque el límite de la capa de leucocitos (0,5 ml sobre los glóbulos rojos) y una línea de división entre la fracción 1 y 2 en el tubo azul. El volumen de fracción 2 siempre es 2ml, mientras que el volumen de fracción 1 es variable entre pacientes. El proceso de fraccionamiento se lleva a cabo mediante el uso del PTD2 (Plasma Transfer Device). Retirar la palomilla negra del PTD2 ANTES de emplazar el tubo de fraccionamiento. No superar 4 horas desde la centrifugación hasta el fraccionamiento del plasma.

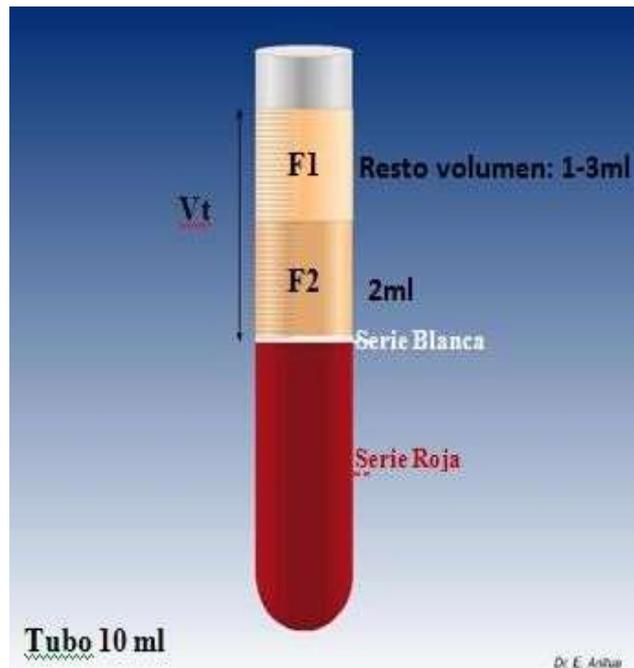


Figura 19: Fraccionamiento

- ✓ Rotular los tubos blancos como F1 y F2 para evitar errores posteriores.
- ✓ El botón rosa del PTD2 solo debe ser presionado cuando la punta del PTD2 esté dentro del plasma, para así evitar que el tubo de fraccionamiento se llene de aire y pierda el vacío.
- ✓ La aspiración del plasma debe realizarse desde el límite superior, moviendo la punta hacia abajo a medida que baja el nivel.

Fraccionamiento de la fracción 1 del plasma de cada tubo de extracción. Una vez conectado el tubo de fraccionamiento rotulado como F1 al PTD2 aspire hasta la marca de separación entre fracción 1 y 2 previamente realizada.

Fraccionamiento de la fracción 2 del plasma de cada tubo de extracción. Aspirar los 2 ml de cada tubo de extracción, mediante el uso del PTD2 y el tubo de fraccionamiento blanco rotulado como F2.

D. Activación

Activación del plasma con el Activador PRGF, cada ml de plasma se activa añadiendo 2 unidades de cloruro de calcio usando la jeringa de activación incluida en el Kit. Infiltrar la formulación líquida antes de los 5 minutos posteriores a su activación. El coágulo de

la F2 se obtendrá entre 8 y 10 minutos tras la activación, mientras que la membrana de fibrina de la F1 se obtendrá entre 20 y 25 minutos después.

Nota:

- No usar nunca más activador que el recomendado, podría bloquear la reacción
- BTI recomienda el uso de recipientes de vidrio o cerámica para la formación del coágulo o membrana de fibrina, así como el uso del Plasmaterm H para acelerar el proceso de coagulación.

E. Protocolo de aplicación de la terapia PRGF-Endoret

Material necesario para el tratamiento PRGF-Endoret

- ✓ 1 blíster monouso de KMU-HE
- ✓ Centrifuga System IV
- ✓ Plasmaterm H
- ✓ Gradilla de trabajo
- ✓ Recipientes de activación



Figura 20: Material necesario para el tratamiento PRGF-Endoret

Protocolo de aplicación

- ✓ Realizar una limpieza adecuada de la úlcera y de la piel perilesional. No aplicar el tratamiento hasta que la herida esté desbridada y libre de infección.
- ✓ Procesar la sangre con el protocolo estándar de la tecnología PRGF-Endoret en un área de trabajo limpia y controlada.
- ✓ Embeber una gasa estéril en la F1 activada y colocarla en la bandeja de activación (4-6ml). Mantener en Plasmaterm H hasta su polimerización.

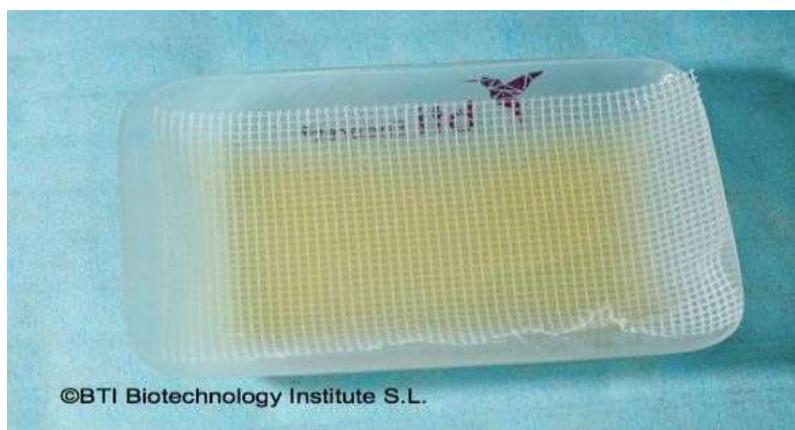


Figura 21: Gasa estéril en proceso de polimerización

- ✓ Rellenar la jeringa con F2 recién activada e infiltrar en la zona perilesional. 2ml. No activar hasta que se esté preparado para la infiltración.
- ✓ Dejar el volumen de F2 remanente para obtener uno o dos coágulos en un recipiente de activación (3ml por cada coágulo). Activar la F2 para que se formen los coágulos.
- ✓ Posicionar uno o dos coágulos de F2 sobre el lecho de la úlcera.



Figura 22: Coágulos formados

- ✓ Posicionar la gasa estéril con F1 (membrana de fibrina) sobre el lecho de la úlcera, encima del/los coágulos de F2.
- ✓ Cubrir la membrana con un apósito adecuado (no absorbente).
- ✓ Si no aparecen señales de infección, descubrir el vendaje 7 días después para evaluar y limpiar la herida antes de la repetición del tratamiento.
- ✓ Si aparecen señales de complicaciones o infección, descubrir el vendaje y realizar el tratamiento convencional para eliminar la infección. Una vez que la infección se resuelva, repetir el tratamiento con PRGF-Endoret.
- ✓ Realizar todo el proceso en una zona de trabajo limpia y controlada.

ANEXO II

PROTOCOLO DE APLICACIÓN DE LA TERAPIA CONVENCIONAL

Para el tratamiento convencional de UPP, realizaremos los siguientes pasos:

- 1. Limpieza:** Para la realización se utilizará suero salino fisiológico, intentando evitar otras soluciones tipo povidona yodada, agua oxigenada ..., que se considera que pueden retrasar la curación, bien por deshidratación de la herida y formación de la costra, o por toxicidad dependiente de la concentración y gases estériles evitando la excesiva fricción contra el lecho de la úlcera.
- 2. Desbridamiento** (según estado de la úlcera): La existencia de escaras necróticas retrasa el proceso de curación y el tejido desvitalizado húmedo favorece el crecimiento de gérmenes patógenos, por lo que es importante eliminar este tejido, siguiendo un método de desbridamiento enzimático, quirúrgico y/o autolítico, siendo aconsejable para obtener mejores resultados, combinar desbridamiento quirúrgico con desbridamiento autolítico o desbridamiento quirúrgico con desbridamiento enzimático.
- 3. Prevención y abordaje de la infección bacteriana** (según estado de la úlcera), si es necesario realizando cultivo del lecho de la UPP con el objetivo de pautar un tratamiento específico según el germen aislado.
- 4. Elección y aplicación de un apósito** que mantenga continuamente el lecho de la úlcera húmedo y a temperatura corporal.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Defloor, T., Schoonhoven, L., Katrien, V., Weststrate, J., Myny, D. Reliability of the European Pressure Ulcer Advisory Panel classification system. *Journal of Advanced Nursing*. 2006 54(2), 189-198. doi:10.1111/j.1365-2648.2006.03801
- 2 Vaquerizo García V. Tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento. (Tesis doctoral en internet) Alcalá de Henares. Universidad de Alcalá 2013. Disponible en: http://dspace.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/20363/TESIS_VAQUERIZO_GARC%C3%8DA.pdf?sequence=1.
- 3 Verdú Soriano J, Nolasco A, García C. Análisis de la mortalidad por úlceras por presión en España. Periodo 1987-1999. *Gerokomos*. 2003;14(4):212-26
- 4 McGinnis E, Briggs M, Collinson M, Wilson L, Dealey C, Brown J, et al. Pressure ulcer related pain in community populations: a prevalence survey. *BMC Nursing*. 2014; 13:16
- 5 Franks PJ, Winterberg H, Moffatt CJ. Health-related quality of life and pressure ulceration assessment in patients treated in the community. *Wound Rep Reg*. 2002; 10:133-40
- 6 Essex HN, Clark M, Sims J, Warriern A, Cullum N. Health-related quality of life in hospital in patients with pressure ulceration: Assessment using generic health-related quality of life measures. *Wound Rep Reg*. 2009; 17:797-805
- 7 Soldevilla Agreda, J. J., Torra i Bou, J. E. Epidemiología de las úlceras por presión en España. Estudio piloto en la comunidad autónoma de la Rioja. *Gerokomos: Revista de la Sociedad Española de Enfermería Geriátrica y Gerontológica*, 1999 10(2), 75-87
- 8 Gerrero Miralles M. Úlceras por presión: un problema potencial en los servicios de urgencias colapsados. *Gerokomos*. 2008;19(2):99-106
- 9 Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of lateletrich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *J Bone Joint Surg Br*. 2009 Aug; 91(8): 987-96
- 10 Park-Lee E, Caffrey C. Pressure ulcers among nursing home residents: United States, 2004. *NCHS Data Brief*. 2009; 14:1-8
- 11 European Wound Management Association. Position document: hard-to-heal wounds: a holistic approach. London: MEP Ltd; 2008
- 12 Soldevilla Agreda JJ. Las úlceras por presión en Gerontología: Dimensión epidemiológica, económica, ética y legal. Santiago de Compostela: Universidad de Santiago de Compostela; 2007
- 13 Skórkowska-Telichowska, K., Czemplik, M., Kulma, A.Szopa, J.. The local treatment and available dressings designed for chronic wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2011 doi:10.1016/j.jaad.
- 14 Ramos Torrecilla Javier. Valoración y estandarización del uso de plasma rico en plaquetas/plasma rico en factores decrecimiento en el tratamiento de las úlceras por presión. (Tesis doctoral en internet). Granada Universidad de Granada 2013 (citada 15 de junio) 11-15 p. Disponible en : <https://hera.ugr.es/tesisugr/22559723.pdf>.
- 15 Dini, V., Bertone, M.Romanelli, M. Prevention and management of pressure ulcers. *Dermatologic therapy*, 2006. 19(6), 356-364. doi:10.1111/j.1529-8019.2006.00094
- 16 Defloor, T. The risk of pressure sores: a conceptual scheme. *Journal of Clinical Nursing*, .1999. 8(2), 206-216
- 17 Agrawal, K.Chauhan, N. Pressure ulcers: Back to the basics. *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India*, 2012. 45(2), 244-254. doi:10.4103/0970-0358.101287
- 18 Hamm, R. L. 2007. Chapter 28 - Tissue Healing and Pressure Ulcers. En *Physical*

-
- 19 Arenas, R.Ávalos-Díaz, E. *Dermatología: Atlas, diagnóstico y tratamiento 2004*. (3.a ed.). McGraw-Hill Interamericana
 - 20 Ferrandiz, C. *Dermatología clínica* (3.a ed.). Elsevier España 2010
 - 21 Pedro L. Pancorbo-Hidalgo, Francisco P. García-Fernández, Joan-Enric Torra i Bou, José Verdú Soriano, J. Javier Soldevilla-Agreda. GNEAUPP 2013
 - 22 Nixon, J., Thorpe, H., Barrow, H., Phillips, A., Andrea Nelson, E., Mason, S. A. Cullum, N. Reliability of pressure ulcer classification and diagnosis. *Journal of advanced nursing*, 50(6), 613-623. 2005. doi:10.1111/j.1365-2648.2005.03439
 - 23 Defloor, T. Schoonhoven, L. Inter-rater reliability of the EPUAP pressure ulcer classification system using photographs. 2004. *Journal of clinical nursing*, 13(8), 952-959. doi:10.1111/j.1365-2702.2004.00974.
 - 24 Beeckman, D., Schoonhoven, L., Fletcher, J., Furtado, K., Gunningberg, L., Heyman, H. Defloor, T. EPUAP classification system for pressure ulcers: European reliability study. *Journal of Advanced Nursing*, 2007. 60(6), 682–691. doi:10.1111/j.1365-2648.2007.04474
 - 25 Ramos Torrecilla Javier. *Valoración y estandarización del uso de plasma rico en plaquetas/plasma rico en factores de crecimiento en el tratamiento de las úlceras por presión*. (Tesis doctoral en internet). Granada Universidad de Granada 2013 (citada 15 de junio) 20,21,23 p. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/22559723.pdf>.
 - 26 Redelings, M. D., Lee, N. E. Sorvillo, F. Pressure ulcers: more lethal than we thought? *Advances in skin & wound care*, 2005. 18(7), 367-372
 - 27 Bergstrom, N., Horn, S. D., Smout, R. J., Bender, S. A., Ferguson, M. L., Taler, G., Voss, A. C. The National Pressure Ulcer Long-Term Care Study: Outcomes of Pressure Ulcer Treatments in Long-Term Care. *Journal of the American Geriatrics Society*, 2005. 53(10), 1721–1729. doi:10.1111/j.1532-5415.2005.53506
 - 28 Graumlich, J. F., Blough, L. S., McLaughlin, R. G., Milbrandt, J. C., Calderon, C. L., Agha, S. A. Scheibel, L. W. Healing pressure ulcers with collagen or hydrocolloid: a randomized, controlled trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, 2003. 51(2), 147-154
 - 29 Brem, H. Lyder, C. Protocol for the successful treatment of pressure ulcers. *The American Journal of Surgery*, 2004. 188(1, Supplement 1), 9-17. doi:10.1016/S0002-9610(03)00285.
 - 30 Pancorbo-Hidalgo, P. L., Garcia-Fernandez, F. P., Lopez-Medina, I. M. Alvarez-Nieto, C. Risk assessment scales for pressure ulcer prevention: a systematic review. *Journal of Advanced Nursing*, 2006. 54(1), 94–110. doi:10.1111/j.1365-2648.2006.03794.
 - 31 Bergstrom, N., Braden, B., Laguzza, A. Holman, V. The Braden Scale for Predicting Pressure Sore Risk. *Nursing research*, 1987. 36(4), 205-210.
 - 32 Sanchez M, Anitua E, Azofra J, Andia I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *AmJ Sports Med*. 2007 Feb; 35(2): 245-51
 - 33 Vaquerizo García V. *Tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento*. (Tesis doctoral en internet) Alcalá de Henares. Universidad de Alcalá 2013 (citada 25 de junio) Disponible en: http://dspace.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/20363/TESIS_VAQUERIZO_GARC%C3%8DA.pdf?sequence=1.
 - 34 Sackett DL, Rosenberg WMC, Gray JAM, Haynes RB. Evidence based medicine: what it is and what it isn't. *BMJ* 1996; 312: 71-2.
 - 35 Dicenso, A., Cullum, N. Ciliska, D. Implementing evidence-based nursing: some misconceptions [Editorial]. *Evid-based Nurs*; 1998;1: 38-40
-

-
- 36 Alonso-Coello P, 2013; Balshem H, 2011. La formulación de recomendaciones en salud:El sistema GRADE.Formulating health care recommendations: The GRQDE System. Elsevier Doyma.Med Cin (Barc).2013;140(8):366-373
 - 37 Balshem H1, Helfand M, Schünemann HJ, Oxman AD, Kunz R, Brozek J, Vist GE, Falck-Ytter Y, Meerpohl J, Norris S, Guyatt GH. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence.J Clinic 2011 Apr;64(4):401-6. doi: 10.1016/j.jclinepi.2010.07.015. Epub 2011 Jan 5.
 - 38 Vaquerizo García V. Tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento. (Tesis doctoral en internet) Alcalá de Henares. Universidad de Alcalá 2013 (citada 25 de junio) 34-44 p. Disponible en: http://dspace.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/20363/TESIS_VAQUERIZO_GARC%C3%8DA.pdf?sequence=1
 - 39 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 Jan; 91(1): 4-15
 - 40 Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Front Biosci.* 2008 May 1; 13: 3532-48
 - 41 Stellos K, Kopf S, Paul A, Marquardt JU, Gawaz M, Huard J et al. Platelets in regeneration. *Semin Thromb Hemost.* 2010 Mar; 36(2): 175-84
 - 42 George JN, Nurden AT, Phillips DR. Molecular defects in interactions of platelets with the vessel wall. *N Engl J Med.* 1984 Oct 25; 311(17): 1084-98
 - 43 George JN. Platelets. *Lancet.* 2000 Apr 29; 355(9214): 1531-9
 - 44 Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andia I. Delivering growth factors for therapeutics. *Trends Pharmacol Sci.* 2008 Jan; 29(1): 37-41
 - 45 Anitua, E. The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Practical Procedures & Aesthetic Dentistry: PPAD*, 2001. 13(6), 487-493; quiz 487-493
 - 46 Rendu, F.Brohard-Bohn, B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*, 2001. 12(5), 261-273. doi:10.1080/09537100120068170.
 - 47 Rozman, P.Bolta, Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and softtissue injuries. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Panonica, Et Adriatica*, 2007. 16(4), 156-165.
 - 48 Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Front Biosci.* 2008 May 1; 13: 3532-48.
 49. Weibrich, G., Hansen, T., Kleis, W., Buch, R.Hitzler, W. E. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*, 2004. 34(4), 665- 671. doi:10.1016/j.bone.2003.12.010
 - 50 Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E.Georgeff, K. R. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 1998. 85(6), 638-646.
 - 51 Stellos K, Kopf S, Paul A, Marquardt JU, Gawaz M, Huard J et al. Platelets in regeneration. *Semin Thromb Hemost.* 2010 Mar; 36(2): 175-84
 - 52 Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andia I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol.* 2006 May; 24(5): 227-34
 - 53 Burnstock G. Purinergic signaling and vascular cell proliferation and death. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002 Mar 1; 22(3): 364-73
 - 54 Landsown AB. Calcium: a potential central regulator in wound healing in the skin. *Wound Repair Regen* 2002; 10: 271-85
 - 55 Weyrich AS, Prescott SM, Zimmerman GA. Platelets, endothelial cells, inflammatory chemokines, and restenosis: complex signaling in the vascular play book. *Circulation.* 2002 Sep 17; 106(12):1433-5.
-

-
- 56 Cheng Y, Austin SC, Rocca B. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A2. *Science* 2002; 296: 474-5
 - 57 Singh, A. B.Harris, R. C. Autocrine, paracrine and juxtacrine signaling by EGFRligands. *Cellular Signalling*, 2005. 17(10), 1183-1193. doi:10.1016/j.cellsig. 2005.03.026
 - 58 Werner, S. Grose, R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 2003. 83(3), 835-870. doi:10.1152/physrev.00031.2002
 - 59 Gale, N. W.Yancopoulos, G. D. Growth factors acting via endothelial cellspecific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes & Development*, 1999. 13(9), 1055-1066.
 - 60 Comoglio, P. M.Boccaccio, C. Scatter factors and invasive growth. *Seminars in cancer biology*,2001. 11(2), 153-165. doi:10.1006/scbi.2000.0366
 - 61 Dunsmore, S. E., Rubin, J. S., Kovacs, S. O., Chedid, M., Parks, W. C.Welgus, H. G. Mechanisms of hepatocyte growth factor stimulation of keratinocyte metalloproteinase production.. *The Journal of biological chemistry*, 1996. 271(40), 24576-24582
 - 62 Bussolino, F., Di Renzo, M. F., Ziche, M., Bocchietto, E., Olivero, M., Naldini, L, Comoglio, P. M. Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *The Journal of cell biology*, 1992.119(3), 629-641
 - 63 Toyoda, M., Takayama, H., Horiguchi, N., Otsuka, T., Fukusato, T., Merlino, Overexpression of hepatocyte growth factor/scatter factor promotes vascularization and granulation tissue formation in vivo. *FEBS letters*, 2001. 509(1), 95-100
 - 64 Pincelli, C. Nerve growth factor and keratinocytes: a role in psoriasis. *European journal of dermatology: EJD*,2000. 10(2), 85-90
 - 65 Raychaudhuri, S. K., Raychaudhuri, S. P., Weltman, H.Farber, E. M. Effect ofnerve growth factor on endothelial cell biology: proliferation and adherence moleculeexpression on human dermal microvascular endothelial cells. *Archives of dermatological research*,2001. 293(6), 291-295
 - 66 Micera, A., Vigneti, E., Pickholtz, D., Reich, R., Pappo, O., Bonini, S., Levi-Schaffer, F. Nerve growth factor displays stimulatory effects on human skin and lung fibroblasts, demonstrating a direct role for this factor in tissue repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001. 98(11), 6162-6167. doi:10.1073/pnas.101130898
 - 67 Bradham, D. M., Igarashi, A., Potter, R. L.Grotendorst, G. R. Connective tissue growth factor: a cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is relatedto the SRC-induced immediate early gene product CEF-10. *The Journal of cell biology*, 1991. 114(6), 1285-1294
 - 68 Kothapalli, D., Frazier, K. S., Welply, A., Segarini, P. R.Grotendorst, G. R. Transforming growth factor beta induces anchorage-independent growth of NRK fibroblasts via a connective tissue growth factor-dependent signaling pathway. *Cell growth & differentiation: the molecular biology journal of the American Association for Cancer Research*, 1997.8(1), 61-68
 - 69 Chen, C. C., Mo, F.Lau, L. F. The angiogenic factor Cyr61 activates a genetic program for wound healing in human skin fibroblasts. *The Journal of biological chemistry*,2001. 276(50), 47329-47337. doi:10.1074/jbc.M107666200
 - 70 Raja, Sivamani, K., Garcia, M. S.Isseroff, R. R. Wound re-epithelialization:modulating keratinocyte migration in wound healing. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 2007. 12, 2849-2868
 - 71 Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H.Tomic-Canic, M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration: oficial publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 2008. 16(5),585-601. doi:10.1111/j.1524-475X.2008.00410

-
- 72 DiPietro, L. A., Polverini, P. J., Rahbe, S. M.Kovacs, E. J. Modulation of JE/MCP-1 expression in dermal wound repair. *The American journal of pathology*,1995. 146(4), 868-875
- 73 Wetzler, C., Kämpfer, H., Stallmeyer, B., Pfeilschifter, J.Frank, S. Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the enetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair. *The Journal of investigative dermatology*,2002. 115(2), 245-253. oi:10.1046/j.1523-1747.2000.00029
- 74 Gillitzer, R.Goebeler, M. Chemokines in cutaneous wound healing. *Journal of Leukocyte Biology*, 2001.69(4), 513-521
- 75 Feiken, E., Rømer, J., Eriksen, J.Lund, L. R. Neutrophils express tumor necrosis factor-alpha during mouse skin wound healing. *The Journal of investigative dermatology*, 1995.105(1), 120-123
- 76 Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L.O'Garra, A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual Review of Immunology*,2001. 19, 683-765. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.683
- 77 Kawada, A., Hiruma, M., Noguchi, H., Ishibashi, A., Motoyoshi, K.Kawada, I. Granulocyte and macrophage colony-stimulating factors stimulate proliferation of human keratinocytes. *Archives of dermatological research*,1997. 289(10), 600-602
- 78 Groves, R. W.Schmidt-Lucke, J. A. Recombinant human GM-CSF in the treatment of poorly healing wounds. *Advances in skin & wound care*, 2000.13(3 Pt 1), 107-112
- 79 Ramos Torrecilla Javier. Valoración y estandarización del uso de plasma rico en plaquetas/plasma rico en factores de crecimiento en el tratamiento de las úlceras por presión.(Tesis doctoral en internet). Granada Universidad de Granada 2013 (citada 15 de junio) 63-68 p. Disponible en : <https://hera.ugr.es/tesisugr/22559723.pdf>
- 80 Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N.Aster, J. C. Robbins & Cotran *Pathologic Basis of Disease*, (8.a ed.). Philadelphia: Elsevier Health Sciences.2002
- 81 Broughton, G., 2nd, Janis, J. E.Attinger, C. E. *The basic science of wound healing. Plastic and reconstructive surgery*,2006. 117(7 Suppl), 12S-34S. doi:10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2
- 82 Martin, P. Wound Healing--Aiming for Perfect Skin Regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81. doi:10.1126/science.276.5309.75.1997.
- 83 Robson, M. C., Steed, D. L.Franz, M. G. Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current problems in surgery*,2001. 38(2), 72-140. doi:10.1067/msg.2001.111167
- 84 Eming, S. A., Krieg, T.Davidson, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *The Journal of investigative dermatology*,2007 127(3), 514-525. doi:10.1038/sj.jid.5700701
- 85 Bauer, S. M., Bauer, R. J.Velazquez, O. C. Angiogenesis, vasculogénesis, and induction of healing in chronic wounds. *Vascular and endovascular surgery*, 2005. 39(4), 293-306
- 86 Reinke, J. M.Sorg, H. Wound repair and regeneration. *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales européennes*, 2002.49(1), 35-43. doi:10.1159/000339613
- 87 Clark, R. A., Folkvord, J. M., Hart, C. E., Murray, M. J.McPherson, J. M. Platelet isoforms of platelet-derived growth factor stimulate fibroblasts to contract collagen matrices. *Journal of Clinical Investigation*,1989. 84(3), 1036-1040. doi:10.1172/JCI114227
- 88 Sorg, H., Krueger, C.Vollmar, B. Intravital insights in skin wound healing usingthe mouse dorsal skin fold chamber. *Journal of Anatomy*, 2007.211(6), 810-818. doi:10.1111/j.1469-7580.2007.00822
-

-
- 89 Hinz, B. Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *The Journal of investigative dermatology*, 127(3), 526-537. 2007. doi:10.1038/sj.jid.5700613
 - 90 Jacinto, A., Martinez-Arias, A., Martin, P. Mechanisms of epithelial fusion and repair. *Nature cell biology*, 2001.3(5), E117-123. doi:10.1038/35074643
 - 91 Reinke, J. M., Sorg, H. Wound repair and regeneration. *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales européennes*, 2012. 49(1), 35-43. doi:10.1159/000339613
 - 92 Urken, M. L. Advances in head and neck reconstruction. *The Laryngoscope*, 2003. 113(9), 1473-1476. doi:10.1097/00005537-200309000-00008
 - 93 Tziotzios, C., Profyris, C., Sterling, J. Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part II. Strategies to reduce scar formation after dermatologic procedures. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2012. 66(1), 13-24; quiz 25-26. doi:10.1016/j.jaad.2011.08.035
 - 94 Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001; 10(4): 225-8.
 - 95 Anitua, E., Aguirre, J. J., Algorta, J., Ayerdi, E., Cabezas, A. I., Orive, G., Andia, I. (2008). Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 2008. 84(2), 415-421. doi:10.1002/jbm.b.30886
 - 96 Anitua, E., Sanchez, M., De la Fuente, M., Zalduendo, M. M., Orive, G. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates tendon and synovial fibroblasts migration and improves the biological properties of hyaluronic acid. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy: Official Journal of the ESSKA*. 2011. doi:10.1007/s00167-011-1697-4
 - 97 Atri, S. C., Misra, J., Bisht, D., Misra, K. Use of homologous platelet factors in achieving total healing of recalcitrant skin ulcers. *Surgery*, 1990. 108(3), 508-512
 - 98 Stacey, M. C., Mata, S. D., Trengove, N. J., Mather, C. A. Randomised doubleblind placebo controlled trial of topical autologous platelet lysate in venous ulcer healing. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery: The Official Journal of the European Society for Vascular Surgery*, 2000.20(3), 296-301. doi:10.1053/ejvs.2000.1134
 - 99 Tarroni, G., Tessarin, C., De Silvestro, L., Casol, D., Giozzet, M., Caloprisco, G., De Paoli Vitali, E. Local therapy with platelet-derived growth factors for chronic diabetic ulcers in haemodialysis patients. *Giornale Italiano Di Nefrologia: Organo Ufficiale Della Società Italiana Di Nefrologia*, 2002. 19(6), 630-633
 - 100 Towheed TE, Maxwell L, Anastassiades TP, Shea B, Houpt J, Robinson V et al. Glucosamine therapy for treating osteoarthritis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2005 Apr 18; (2): CD002946
 - 101 Matras H. [Effect of various fibrin preparations on reimplantations in the ratskin]. *Osterr Z Stomatol*. 1970 Sep; 67(9): 338-59
 - 102 Gibble JW, Ness PM. Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion*. 1990 Oct; 30(8): 741-7
 - 103 Nuesch E, Rutjes AW, Trelle S, Reichenbach S, Juni P. Doxycycline for osteoarthritis of the knee or hip. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Oct 7; (4): CD007323
 - 104 Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg*. 1993 Jun; 165(6): 728-37
 - 105 Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: Part II. Role in normal and chronic wound healing. *Am J Surg*. 1993 Jul; 166(1): 74-81

-
- 106 Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994 Feb; 52(2):161-5; discussion 166
- 107 Grageda E. Platelet-Rich Plasma and Bone Graft Material: A review and standardized research protocol. *Implant Dentistry* 2004; 13(4): 301-9
- 108 Gatter RA, Andrews RP, Cooley DA, et al. American college of rheumatology guidelines for performing office synovial fluid examinations. *J Clin Rheumatol* 1995; 1: 194.
- 109 Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone* 1999; 25: 47-50
- 110 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
- 111 Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andia I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials.* 2007 Nov; 28(31):4551-60
- 112 Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs PCCS PRP system: collection efficiency and platelets counts of two different methods for the preparation of platelet rich plasma. *Clin Oral Implants* 2002; 13: 437-43
- 113 Weibrich G, Kleis WK, Hitzler WE, Hafner G. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2005 Jan-Feb; 20(1): 118-23
- 114 Boswell SG, Cole BJ, Sundman EA, Karas V, Fortier LA. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors. *Arthroscopy.* 2012 Mar; 28(3): 429-39
- 115 Hannon, T. J. Determination of platelet yields from platelet rich plasma for five autotransfusion machines. *Trans Pathophysiology and Techniques of Cardiopulmonary Bypass* 1999; 88: 16.
- 116 Okuda K, Kawase T, Momose M, Murata M, Saito Y, Suzuki H et al. Platelet rich plasma contains high levels of platelet-derived growth factor and transforming growth factor-beta and modulates the proliferation of periodontally related cells in vitro. *J Periodontol.* 2003 Jun; 74(6): 849-57
- 117 Kawase T, Okuda K, Saito Y, Yoshie H. In vitro evidence that the biological effects of platelet-rich plasma on periodontal ligament cells is not mediated solely by constituent transforming-growth factor-beta or platelet-derived growth factor. *J Periodontol.* 2005 May; 76(5): 760-7
- 118 Zimmermann R, Jakubietz R, Jakubietz M, Strasser E, Schlegel A, Wiltfang J et al. Different preparation methods to obtain platelet components as a source of growth factors for local application. *Transfusion.* 2001 Oct; 41(10): 1217-24.
- 119 Appel Tr, Potzsch B, Muller J, von Lindern JJ, Berge SJ, Reich RH. Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clinic Oral Impl Res* 2002; 13 (5): 522-8
- 120 Vaquerizo García V. Tratamiento de la osteoartritis de rodilla mediante la aplicación de plasma rico en factores de crecimiento. (Tesis doctoral en internet) Alcalá de Henares. Universidad de Alcalá 2013 (citada 25 de junio) 45-54 p. Disponible en: http://dspace.uah.es/dspace/bitstream/handle/10017/20363/TESIS_VAQUERIZO_GARC%C3%8DA.pdf?sequence=1
- 121 George JN. Platelets. *Lancet.* 2000 Apr 29; 355(9214): 1531-9.
- 122 Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Nov; 55(11): 1294-9.

-
- 123 Cohen J. *Statistical Power Analysis for the Behavioural Sciences*. 2nd ed. New Jersey: Lawrence Earlbaum; 1988
 - 124 Norman GR, Sloan JA, Wyrwich KW. Interpretation of changes in health-related quality of life: The remarkable universality of half a standard deviation. *Med Care* 2003; 41: 582–592
 - 125 Kamper SJ, Maher CG, Mackay G. Global rating of change scales: a review of strengths and weaknesses and considerations for design. *J Man Manip Ther* 2009; 17(3): 163-70