



Trabajo de Fin de Grado



Biotecnología del plasma rico en plaquetas (PRP)
aplicada a la regeneración tisular humana

*Biotechnology of platelet-rich plasma (PRP) applied
to human tissue regeneration*

Grado de Biotecnología



Autor

Guillermo Manuel Ramos Román

Directora

Úrsula M. Jariod Ferrer

Departamento de Anatomía e Histología Humanas. Facultad de Medicina

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

2021

Índice

1. Resumen	2
2. Abstract	2
3. Objetivos y justificación del tema	4
4. Introducción	4
4.1. Generalidades del PRP	4
4.2. Composición y estructura	5
4.3. Clasificación	6
4.4. Métodos de obtención.....	6
4.5. Aplicaciones clínicas.....	8
4.5.1.Aplicación sobre células <i>in vitro</i>	8
4.5.2.Aplicación sobre tejidos	10
4.5.3.Aplicación sobre enfermedades	13
5. Metodología	16
6. Discusión	16
7. Conclusiones	20
8. Conclusions	20
9. Bibliografía	21

Resumen

El plasma rico en plaquetas (PRP) es una solución concentrada formada principalmente por plaquetas proveniente de una doble centrifugación de la sangre. Se puede clasificar como L-PRP o como P-PRP según si es rico o pobre en leucocitos, respectivamente, y la diferencia en su efecto radicará esencialmente en su capacidad inflamatoria, dependiente de leucocitos. Promueve la proliferación y diferenciación celular y la reparación tisular gracias a los factores de crecimiento que liberan las plaquetas, y a la malla de fibrina que producen y que sirve de soporte para la migración celular. Esta propiedad le da potencial como tratamiento para diversas patologías ortopédicas, o como adyuvante de cirugía, gracias a que hay evidencia de que alivia el dolor en los pacientes. Además, normalmente es un preparado autólogo, es decir, que proviene de la sangre del propio paciente, de modo que apenas genera efectos adversos. Esta revisión bibliográfica no sistemática reúne sus características y su evidencia clínica sobre los principales tejidos y enfermedades sobre los que se ha experimentado, mediante la búsqueda de estudios y ensayos clínicos en PubMed y Mendeley, y reuniendo aquellos de mayor evidencia. Se ha visto un buen efecto proliferativo sobre fibroblastos, condrocitos y células madre mesenquimáticas (MSC), y un buen efecto reparativo sobre dermis, cartílago articular y huesos. En cuanto a enfermedades, hay evidencia variable pero generalmente buena de que puede superar los tratamientos convencionales de determinadas lesiones crónicas: osteoartritis de rodilla, cadera y tobillo; úlceras crónicas, especialmente las de pie de origen diabético; y diversas tendinopatías, especialmente la epicondilitis lateral. El efecto sobre cada enfermedad puede depender de las propiedades del PRP, así que es importante que los estudios clínicos comparen ambos tipos de PRP sobre las diversas patologías, y que identifiquen las moléculas implicadas para poder dosificarlas en preparaciones de PRP más precisas.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas, ortopedia, dolor, regeneración.

Abstract

Platelet-rich plasma (PRP) is a concentrated solution consisting mainly of platelets from a double centrifugation of blood. It can be classified as L-PRP or as P-PRP depending on whether it is leukocyte-rich or leukocyte-poor, respectively, and the difference in its effect will essentially lie in its inflammatory, leukocyte-dependent capacity. It promotes cell proliferation and differentiation and tissue repair thanks to the growth factors released by the platelets and the fibrin matrix they produce, which serves as a scaffold for cell migration. This property gives it potential as a treatment for various orthopaedic pathologies, or as an adjuvant to surgery, thanks to the evidence that it relieves pain in patients. In addition, it is usually an autologous preparation, which means it comes from the patient's own blood, so that it hardly generates any adverse effects. This non-systematic bibliographic review brings together its characteristics and clinical evidence on the main tissues and diseases on which it has been tested, by searching for studies and clinical trials in PubMed and Mendeley, and gathering those with the

best evidence. A good proliferative effect has been seen on fibroblasts, chondrocytes, and mesenchymal stem cells (MSC), and good reparative effect on dermis, articular cartilage, and bones. In terms of diseases, there is variable but generally good evidence that it can outperform conventional treatments for certain chronic injuries: osteoarthritis of the knee, hip, and ankle; chronic ulcers, especially diabetic foot ulcers; and various tendinopathies, especially lateral epicondylitis. The effect on each disease may depend on the properties of the PRP, so it is important for clinical studies to compare both types of PRP on the various pathologies, and to identify the molecules involved so that they can be dosed in more precise PRP preparations.

Key words: platelet-rich plasma, orthopedic, pain, regeneration.

Objetivos y justificación del tema

El plasma rico en plaquetas se ha estado investigando los últimos años en la biomedicina regenerativa sobre campos como la medicina estética, la ortopedia y la traumatología, donde se suelen emplear biomoléculas propias del medio fisiológico. También se propone como tratamiento para el dolor. Es un tratamiento económico y seguro, con potencial de tratar numerosas afecciones, de ahí el interés de la comunidad científica.

Es interesante que un tratamiento con tanto potencial pueda llegar a ser empleado de rutina. Para poder desarrollar su uso convencional, son necesarios estudios que revisen sus características y los casos en los que se ha empleado, así como los resultados concluidos.

Por todo ello, este trabajo tiene como objetivo aportar información sobre el PRP, así como sobre su clasificación, su obtención, sus mecanismos de acción, sus aplicaciones clínicas, y sus posibles mejoras.

Su rango de aplicación es enorme. No obstante, esta revisión se va a centrar en analizar los resultados del PRP en el campo de la ortopedia. La ortopedia y la traumatología comprenden una gran variedad de enfermedades y lesiones a nivel muscular, óseo y de las articulaciones. No son sólo las lesiones que denominaríamos convencionales, que entrarían dentro de la llamada medicina deportiva, sino que también incluye un gran número de enfermedades crónicas que no tienen por qué venir de lesiones deportivas. Dada esta variedad, es de esperar que los resultados sean heterogéneos.

Introducción

Generalidades del PRP

La primera descripción del plasma rico en plaquetas (PRP) se dio en la década de 1980, cuando se definió como aquel plasma con un número de plaquetas superior al normal en sangre periférica. Es una sustancia que entra dentro del grupo de los llamados concentrados plaquetarios. Se comenzó a emplear en hematología, y pronto pasó a otros campos como la dermatología o la cirugía oral y maxilofacial, y su uso predominante sigue siendo ortopédico.

La cualidad del PRP son las altas concentraciones de moléculas de señalización, como los factores de crecimiento, secretadas desde los alfa gránulos de las plaquetas, que pueden inducir procesos de inflamación local, reclutamiento y división de células madre, adhesión celular y angiogénesis. En definitiva, es un concentrado de sangre autólogo, por lo que la *Food and Drug Administration* (FDA) lo define como tejido mínimamente manipulado. Esto le ha permitido evitar los grandes costes de aprobación y de puesta en mercado que requieren otros tratamientos. Sumando sus buenos resultados *in vitro* y en animales, tenemos el por qué ha habido un uso tan creciente en los últimos años.(1)

Según lo que conoce la comunidad científica, el PRP debería potenciar el efecto reparativo en tejidos conectivos, pero aún no ha habido suficientes estudios, aleatorizados y de doble ciego como para documentarlo correctamente.(2) Ante esta ausencia de estandarización sobre su empleo, así como también sobre su preparación, ya que existen decenas de formas de obtener PRP, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) emitió un informe en mayo de 2013 para regular su uso, las obligaciones de los fabricantes y la información dada a los pacientes, donde el PRP se reconocía como medicamento de uso humano.(3)

Sin embargo, no se han definido unos claros protocolos en cuanto a la preparación, composición, o activación del PRP, por lo que no hay una estandarización global de su uso. Se ha estado probando en campos de la medicina regenerativa, como la ortopedia o la medicina estética.

Gracias a que es un tratamiento normalmente autólogo, el PRP ha demostrado ser capaz de hacer efecto reparativo sin la aparición de efectos adversos graves y con baja prevalencia de infecciones. Si a esto le sumamos que puede superar a los tratamientos convencionales (los cuales a menudo se limitan a aliviar los síntomas), y a que su preparación suele ser sencilla y económica, tenemos un tratamiento con gran potencial en su campo de aplicación. Por tanto, si se reúne la evidencia suficiente se podría lograr su uso de rutina en los hospitales.

Composición y estructura

El número normal de plaquetas en el organismo varía entre 150,000-300,000/ μ L. Se ha demostrado que una concentración de 1,000,000/ μ L tiene efecto reparativo sobre hueso y tejido blando. Por ello, se sugiere que 5 mL de plasma a esta concentración es una definición práctica de PRP. Lo esperable es que la concentración de factores de crecimiento sea de 3-5 veces respecto a la normal.(4)

El componente mayoritario del PRP son las plaquetas, y hay un número variable de leucocitos. Puede haber también un pequeño número de glóbulos rojos. Cuando se extrae sangre, las plaquetas liberan en poco tiempo el contenido de sus gránulos alfa, que contienen gran cantidad de factores de crecimiento y de coagulación. Es importante que estos factores se liberen justo antes de la aplicación del PRP, y para ello se prepara en presencia de anticoagulantes. También hay diversas citoquinas, provenientes tanto de las plaquetas como de los leucocitos.

Los factores de crecimiento son los que provocarán la proliferación celular, mientras que los de coagulación formarán una malla de fibrina que servirá de soporte para la

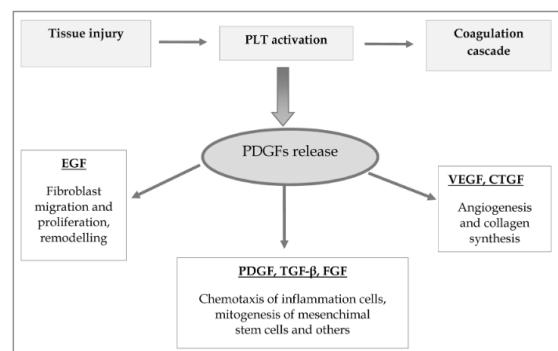


Figura 1: algunos de los factores plaquetarios causantes de las propiedades del PRP. (5)

reparación.(5) Esto es especialmente útil en tejidos con poca capacidad regenerativa como el cartílago articular, ya que no está vascularizado. Algunos factores de crecimiento que intervienen en la reparación tisular general son el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), el factor de crecimiento derivado de plaqueta (PDGF), el factor de crecimiento básico de fibroblastos (bFGF), y el factor de crecimiento de endotelio vascular (VEGF), que aparecen en la figura 1. Entre las sustancias antiinflamatorias se encuentran el antagonista del receptor del IL- 1 (IL-1RA) y el inhibidor tisular de metaloproteinasas (TIMP-1).(6)

La concentración de leucocitos del PRP determinará su concentración de citoquinas. Pueden ser proinflamatorias o antiinflamatorias. La mayoría son antiinflamatorias, lo cual propicia la reparación, pero siempre se necesitará una pequeña concentración de proinflamatorias. En la reparación de una lesión, la primera fase requiere cierta inflamación, pero si persiste demasiado la lesión se vuelve crónica.

Clasificación

El PRP no tiene una clasificación estandarizada, pero se puede dividir en dos tipos principales: el puro (P-PRP) y el rico en leucocitos (L-PRP).(4,7) Ambos se diferencian en su contenido global de leucocitos, que tampoco está bien definido. Se puede considerar que es L-PRP si la concentración de leucocitos supera a su concentración normal sanguínea, y que es P-PRP si esa concentración es menor que la normal sanguínea, aunque normalmente la cantidad de leucocitos es tan baja en el P-PRP que se considera nula.(8) Una concentración mayor de leucocitos aumenta el contenido de factores proinflamatorios. Si bien nos interesa cierto efecto inflamatorio, ya que las reparaciones de lesiones requieren una primera fase de inflamación, si es demasiado intenso puede perjudicar las condiciones de regeneración celular. Por eso, el uso de P-PRP o L-PRP puede depender de los tejidos o células de aplicación, según su necesidad inflamatoria.

Métodos de obtención

Existen multitud de métodos de obtención de PRP. Todos ellos comienzan con la extracción de sangre, a la cual se añaden anticoagulantes, habitualmente citrato. Normalmente el anticoagulante ya se encuentra incorporado en la jeringuilla, de modo que su efecto sea inmediato. Sobre la sangre se realiza una primera centrifugación llamada *softspin*, y se generan tres capas en el tubo: la superior, un plasma acelular denominado plasma pobre en plaquetas (PPP); la intermedia, un concentrado de leucocitos y plaquetas llamado *buffy coat* (BC); y la inferior, compuesta por glóbulos

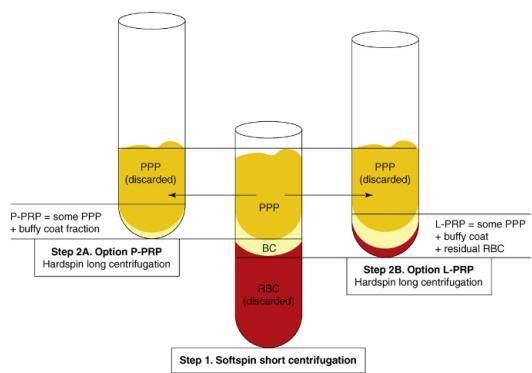


Figura 2: doble centrifugación básica para obtener P-PRP y L-PRP. (9)

rojos (RBC).

A continuación, se realiza una segunda centrifugación más fuerte (*hardspin*), de distinta manera según el tipo de PRP. Para obtener P-PRP, se centrifugan el PPP y la parte superficial del BC, dando lugar a una PPP mayor y un BC más concentrado. Se descarta casi todo el PPP y se resuspende, obteniendo así el P-PRP. En cuanto al L-PRP, tras la primera centrifugación se centrifuga el PPP, el BC entero, y la parte superficial de RBC, para captar mayor número de leucocitos. Se descarta todo el PPP resultante y se resuspende. En la figura 2 se representa este proceso de forma esquemática.

A la hora de aplicar el PRP hay que activar las plaquetas, para lo cual se emplea trombina y/o cloruro de calcio. La desventaja de la trombina es que suele ser bovina y puede generar respuesta inmune.

Un método automatizado para obtener P-PRP es la plasmaférésis, para la cual se emplea un separador celular. Este aparato puede filtrar la sangre a medida que se extrae hasta alcanzar el número de plaquetas deseado, o bien a partir de sangre previamente extraída. Se trata de una ultracentrifugación con un detector óptico, que al detectar plaquetas las transfiere automáticamente a un recipiente diferente. Los glóbulos rojos y los leucocitos son separados a otro recipiente. Esta técnica tiene un rendimiento de unos 40 mL de PRP a partir de 450 mL de sangre, aunque al conectar al paciente a la máquina el límite es de 300 mL. Sin embargo, es cara, laboriosa, y suele requerir la ayuda de un hematólogo.

Hay un método manual de obtención de P-PRP que lo denomina plasma rico en factores de crecimiento (PRGF), desarrollado por Anitua en 1999 y comercializado por el BioTechnology Institute (BTI) de Vitoria. Aquí se realiza la primera centrifugación convencional, y en este caso a la parte superior del PPP la llaman plasma pobre en factores de crecimiento (PPGF), mientras que la inferior es el propio PRGF. Se separa el PRGF tras varios pipeteos y se le añade cloruro de calcio al 10% para que tras 15-20 minutos forme un gel que habrá que emplear inmediatamente, para que no se disuelva. En este método se intenta no recoger nada del BC para evitar la presencia de leucocitos. La eficiencia es baja y el procedimiento tiene muy baja reproducibilidad.

Para obtener L-PRP hay múltiples kits. Los métodos de Curasan (Kleinostheim, Alemania) y Friadent-Schütze (Viena, Austria) siguen los pasos básicos anteriormente mencionados, realizando una segunda centrifugación a partir del PPP y el BC. Y se descarta casi todo el PPP resultante. Los métodos de Plateltex (Bratislava, Eslovaquia) y Regen (Mollens, Suiza) también son manuales y añaden agentes gelificantes como la batroboxina, la cual evita emplear trombina. Estos cuatro métodos tienen baja eficiencia, son laboriosos y producen geles débiles. Además, tienen baja reproducibilidad.

También hay métodos automatizados. El método PCCS (Platelet Concentrate Collection System) (Palm Beach Gardens, EE. UU.) emplea una centrífuga de dos compartimentos.

Tras la primera centrifugación PPP y BC se trasladan al otro compartimento por aire a presión, y se vuelven a centrifugar. El PPP resultante se traslada de nuevo al primer compartimento. El método SmartPReP (Plymouth, EE. UU.) emplea la misma centrífuga, pero en este caso PPP y BC se trasladan automáticamente por su peso y velocidad de centrifugación. El método Magellan (Minneapolis, EE. UU.) emplea un aparato llamado APS (Autologous Platelet Separator), similar a la centrifugadora de doble cámara, pero emplea un lector óptico, es más compacta y tiene mayor eficiencia. Por último, el método GPS (Gravitational Platelet Separation System) (Warsaw, EE. UU.), en el cual emplea también la centrífuga de doble cámara, pero aquí se descarta el primer PPP y la segunda centrifugación se realiza sobre los glóbulos rojos, y se extrae el BC superficial resultante. Todas estas técnicas automáticas son caras, y los geles que pueden generar se disuelven rápido.(9)

Aplicaciones clínicas

Aplicación sobre células *in vitro*

Antes de emplear PRP sobre los tejidos, es importante comprobar sus efectos sobre células *in vitro*. El PRP puede estabilizar el cartílago controlando los procesos metabólicos de los condrocitos y del hueso subcondral, mediante el mantenimiento de la homeostasis de proteoglicanos extracelulares y la proliferación de los condrocitos. Un estudio sobre condrocitos porcinos los cultivó en PRP al 10%, PPP al 10% o suero fetal bovino (SFB) al 10%, por 3 días, tras los cuales se detectó un mayor crecimiento del DNA en el cultivo en PRP. También influye en la diferenciación de condrocitos, dado que en ese mismo ensayo se vio que en el cultivo de PRP había mayor síntesis de proteoglicanos como el colágeno tipo II (Col II) o el agrecano.(10) También se estudió sobre condrocitos osteoartríticos humanos, en los que tras aplicar PRP aumentaba la expresión de ARN mensajero (mRNA) de esos dos proteoglicanos, y también aumentaba la síntesis de glicosaminoglicanos (GAGs). Aumenta además la expresión de Sox9, un factor de transcripción asociado a la rediferenciación de condrocitos.(11) Otro estudio demostró que la diferenciación condrogénica estaba relacionada con un aumento de la expresión de los receptores cannabinoideos 1 y 2.(12) Sin embargo, otros estudios comparativos entre PRP, PPP y sangre entera no concluyen ninguna diferencia en cuanto a la producción de dichas sustancias(13), o incluso que el PRP provoca desdiferenciación de los condrocitos hacia fibroblastos(14).

Por último, el PRP puede tener efecto sobre la inflamación en condrocitos. Un estudio los cultivó en medio con IL-1 β para simular un entorno osteoartrítico, con o sin PRP al 10%. IL-1 β inhibe la expresión de Col II y de agrecano, pero su efecto se vio mermado por el PRP.(15) Otro estudio mostró que el PRP inhibe la activación de NF- κ B al aumentar la expresión del factor de crecimiento de hepatocito (HGF).(16) Además, el factor de crecimiento insulínico (IGF-1) y PDGF-bb presentes en el PRP pueden inhibir la activación

de las vías Src/PI3K/Akt, inhibiendo así la apoptosis y la inflamación inducidas por IL-1 β .(17)

Otro tipo celular muy importante en el cartílago son las células madre mesenquimáticas (MSC). Tienen una gran disponibilidad, actividad condrogénica y producción de matriz, a parte de su multidiferenciación. Las células madre de la médula ósea (BMSC) son altamente empleadas en la reparación de cartílago. Al cultivar una monocapa de ellas en PRP al 10% se vio un aumento de cinco veces el número inicial tras 7 días. Los marcadores condrogénicos alcanzaron un número 10 veces mayor.(18) Los marcadores fueron estudiados en profundidad en otro estudio donde, mediante Western blot y qRT-PCR, se comprobaron los niveles de expresión de algunos marcadores de proliferación y de diferenciación condrogénica. El PRP mostró mayores niveles de Col I, Col II, aggrecano y Sox9 que el SFB control en ambas pruebas. Diferenciando entre L-PRP y P-PRP, este último presentó mayores valores en todos salvo en Col I, y la mayor diferencia estuvo en Sox9. Por los mismos métodos se detectaron los niveles de la subunidad p65 del NF- κ B, que era mucho mayor en L-PRP, mientras que en P-PRP era similar al valor en SFB.(19) Otro estudio evaluó también la proliferación sobre BSMC de conejo, hasta los 21 días. En este mismo estudio se cultivaron también MSC derivadas de tejido adiposo (ADSC) en PRP, y respondieron de manera similar en cuanto a proliferación y aumento de marcadores.(20) Este mismo cultivo aplicado a MSC derivadas del músculo (MDSC) promueve el mismo efecto.(21) Al aplicarlo sobre MSC del hueso subcondral se estimula su migración vertical, así como la producción de matriz cartilaginosa, formando cartílago hialino. La diferenciación condrogénica aumenta, a diferencia de la adipogénica y la osteogénica.(22) Además de la proliferación de las MSC estimulada por el PRP, se forma una estructura de fibrina que actúa de andamio, facilitando así la migración celular. Al cultivar MSC sobre PRP inactivado, tras activarlo con cloruro de calcio se vislumbró por microscopía electrónica una microestructura en forma de panal, con las plaquetas agregadas a lo largo del esqueleto de fibrina, donde también se agregaron las MSC.(20) También se pueden cultivar células sobre geles de fibrina procedentes de PRP ya activado, cuya inestabilidad se puede disminuir añadiendo inhibidores fibrinolíticos como el ácido tranexámico. Así pueden mantenerse estables in vitro por hasta 4 semanas. Además, al inhibir la degradación de la fibrina se provoca una liberación más lenta pero más sostenida de los factores de crecimiento del PRP, dando un mayor efecto reparador.(23)

Se ha estudiado también el efecto del PRP sobre los fibroblastos. Algunos estudios han indicado que un PRP muy concentrado (20%) inhibe su proliferación y la producción de colágeno, y se atribuye a las altas concentraciones que alcanza el TGF- β 1 (unas 81 veces la inicial). No obstante, dichos estudios son de duración muy corta (1-3 días) y obvian la medición de TGF- β 2 y TGF- β 3, implicados en reparación tisular sin cicatrización. Otro estudio más extensivo, de 7 días, vio que a partir del cuarto la proliferación aumentaba con PRP al 20%, pero que la mejor concentración para ello era al 5%.(24) Otros estudios

concluían resultados diferentes, probablemente debido a diferencias de preparación y aplicación. Uno de ellos concluyó que la mayor proliferación se daba a una concentración de $2 \cdot 10^6$ plaquetas/ μ l. Por otra parte, vieron que la mayor migración y motilidad de fibroblastos, así como la mayor expresión de las metaloproteinasas (MMP) 2 y 9, se dieron en $1,5 \cdot 10^6$ plaquetas/ μ l. Además, la producción de colágeno es 15 veces mayor que en concentraciones bajas, y el contenido en factores de crecimiento era 107 veces mayor respecto al control.(25) Cuando los fibroblastos se exponen a radiación UVA crónica se acortan sus telómeros, se inhibe la expresión del receptor de TGF- β 1, aumenta la de MMP-1, disminuye la síntesis de colágeno y la proliferación. Esta senescencia inducida se cree que es irreversible, pero los factores de crecimiento y los leucocitos la pueden corregir parcialmente. PRP al 25% y al 50% fue capaz de incrementar la proliferación, la migración, y el colágeno de estas células dañadas, aunque en menor medida que sobre fibroblastos sanos. Este efecto se atribuye al TIMP-1 y TGF- β 1 del PRP.(26) Otros fibroblastos dañados son los presentes en úlceras crónicas, donde también se suprime su proliferación, migración y colágeno. Para simular esta condición, un estudio privó de suero un cultivo de fibroblastos durante 24 horas, y se les aplicó PRP al 25, 50 y 100%. La mayor capacidad de migración se dio al 50%, y la mayor recuperación de colágeno se dio al 100%.(27) Por ello, el PRP podría usarse como adyuvante contra las úlceras crónicas.(28)

Aplicación sobre tejidos

El principal uso del PRP se da en tejidos con lesiones crónicas, que provocan condiciones (normalmente inflamación) en las que el tejido no se puede reparar por su propia capacidad. Para reparar una herida es necesaria una primera fase de inflamación, que no debe ser muy intensa. Esta inflamación estaría condicionada según el tipo de PRP empleado, y dependiendo del tejido sería más útil uno u otro.

Los mediadores de este proceso son por supuesto los factores de crecimiento y las citoquinas de los que ya hemos hablado, pero se ha visto que algunos lípidos también pueden intervenir. La lipoxina A₄ (LXA₄), proveniente del ácido araquidónico, es capaz de inhibir la infiltración en el entorno de la herida de los neutrófilos, que la mantienen en un estado inflamatorio permanente. Además, también promueve el reclutamiento de monocitos no inflamatorios, que fagocitarán a los neutrófilos. La LXA₄ es sintetizada en las plaquetas a partir del leucotrieno A₄, que es secretado por los neutrófilos. Para ello, neutrófilos y plaquetas deben estar próximos, y el PRP facilita ese acercamiento. Además, el PRP contiene una sustancia llamada ácido 15-hidroxieicosatetranóico (HETE), que induce la síntesis de otro tipo de lipoxinas, las LXB₄, por parte de los neutrófilos, las cuales también median la inhibición de la inflamación.(29,30)

El cartílago, en especial el articular, tiene una capacidad reparativa limitada, así que se ha estado investigando si el PRP pudiera servir como terapia. Un estudio comprobó los

efectos *in vivo* de L-PRP y P-PRP sobre reparación de cartílago y hueso subcondral en conejo. Seis semanas después de la cirugía, por observación microscópica, se vio que en el grupo P-PRP el cartílago aparecía cubierto de blanco, lo cual indica una buena integración del cartílago, aunque la superficie no estaba tan lisa como es lo habitual. En cambio, el grupo L-PRP mostraba una cubierta de tejido óseo, con una capa externa de cartílago a medio formar. Doce semanas tras la cirugía, el aspecto en ambos grupos de PRP era similar, aunque el de P-PRP era más opaco. Un grupo control mostró defectos parcialmente cóncavos, y llenos de tejido fibroso.

La formación de mineral óseo fue analizada por microtomografía computacional (micro-CT), también sobre un grupo sin tratar con cirugía (control positivo). Las mediciones fueron la ratio de volumen hueso/tejido (BV/TV), el número trabecular, la densidad conectiva, el factor de patrón trabecular y el índice de modelo estructural. Los tres primeros parámetros fueron significativamente más altos en los grupos de PRP y en el control positivo a las 12 semanas. Los dos últimos parámetros fueron significativamente más altos en el grupo control que en los demás, y mayor en los grupos de PRP que en el control positivo. No hubo diferencias significativas entre los dos grupos de PRP en ningún parámetro. Una tinción H&E a las 6 semanas remarcó las observaciones macroscópicas, y se vio que en el grupo L-PRP la superficie del cartílago está parcialmente rellena de tejido fibroso. En el grupo P-PRP, se vio además la formación de hueso subcondral en el fondo del cartílago, y de células redondas regeneradas al otro lado. A las 12 semanas, ambos grupos PRP presentaban mayor formación de cartílago, pero el del grupo L-PRP era más fino. Una tinción de azul de toluidina a las 6 semanas reveló mucha más cantidad de matriz cartilaginosa en los grupos PRP que en el control, siendo entre ellos mayor en el grupo P-PRP. Una tinción inmunohistoquímica a las 12 semanas mostró un descenso en los niveles de Col I y un aumento en los de Col II respecto al control, destacando el grupo P-PRP.

Por último, se evaluó el aspecto macroscópico e histológico mediante las puntuaciones de International Cartilage Repair Society (ICRS) y de Osteoarthritis Research Society International (OARSI), respectivamente. Según ICRS, los resultados eran significativamente mayores (favorables) en los grupos PRP, sin diferencia entre ellos. Según OARSI, los resultados eran menores (favorables) en los grupos PRP, siendo menores aún en el grupo P-PRP. Todos estos resultados demuestran que P-PRP proporciona el mejor efecto de reparación, la cual es debida a la diferenciación de rBMSC. Su escasez de citoquinas como IL-1 β y TNF- α previenen la inducción de inflamación mediada por la activación de NF- κ B, favoreciendo así la reparación. Por tanto, el P-PRP es una terapia prometedora en la reparación de cartílago articular, que requiere mayor investigación en humanos.(19)

También se han visto buenos resultados sobre cartílago porcino. Un estudio generó una estructura 3D a partir de la descelularización de un injerto de cartílago porcino, y comprobó su regeneración tras añadir condrocitos y PRP. Vieron mayor regeneración en comparación a un blanco (solo condrocitos) y un control (sin nada). También mostró mayores niveles de marcadores como Col II mediante inmunotinción y SDS-PAGE.(31)

Un tejido de aplicación es el hueso, donde hasta ahora se ha tratado mediante autoinjertos, que pueden provocar morbidez. Además, en el 5-10% de los casos se desarrollan uniones intercelulares deficientes. Un tratamiento alternativo fueron los xenoinjertos y aloinjertos, que pueden provocar rechazo y transmisión de enfermedades. Para solventar esos problemas, se comenzó a emplear el fosfato de beta-tricalcio (β -TCP), una cerámica artificial que es osteoconductiva, pero que carece de propiedades osteogénicas, por lo que por sí sola no presenta efecto reparador. Unos elementos reparadores muy importantes son las proteínas morfogenéticas del hueso (BMP), que aceleran su reparación. Sin embargo, las BMP tienen una vida media corta y poca actividad. Los factores de PRP principales como el PDGF, también presentan capacidad osteogénica, así que se empezó a combinar con β -TCP. En este caso, el empleo de L-PRP es contraproducente, ya que contiene citoquinas proinflamatorias como el factor de necrosis TNF- α , que inducen la activación del factor de transcripción NF- κ B, el cual activa la expresión de proteasas. Por tanto, el L-PRP tendría un efecto catabólico que no nos interesaría, así que en este caso se aplica P-PRP.(32) El P-PRP contiene un número mínimo de sustancias inflamatorias para poder realizar la primera fase de la reparación, que es dependiente de inflamación, pero las justas para que no sea una inflamación exagerada.

Los estudios clínicos han dado resultados variados. Algunos no han empleado PRP autólogo y puede ser la causa, porque la mayoría de los estudios que han usado el autólogo han obtenido buenos resultados. Un estudio evaluó a 132 pacientes con fracturas en huesos largos que tardaban en unirse. De ellos, 108 (81,8%) respondieron bien al PRP, y en el resto no se terminó de unir la fractura. Se vio que la mayor eficacia estaba relacionada con los casos de fractura de la tibia proximal, y la menor eficacia con las fracturas del húmero proximal. De ahí se concluye que la respuesta depende de la localización de la fractura, aunque es necesario un grupo control para corroborarlo mejor. Además, también se vio que la respuesta dependía del tipo de intervención quirúrgica previa a este tratamiento, ya que las operaciones de clavos intramedulares dieron lugar a una incidencia menor de uniones fallidas que las de placas de clavos, y el tiempo medio de tratamiento fue de 4 meses tras la cirugía.(33) El PRP se puede combinar con autoinjertos o con injertos sintéticos para reforzar su efecto. El uso de geles proteicos como el de colágeno podría servir como soporte para el PRP, permitiendo una liberación más sostenida de factores de crecimiento. No obstante, se ha visto que su combinación con matriz ósea desmineralizada alogénica en conejo no ha producido osteoconductividad.(29)

Aplicación sobre enfermedades

Ahora vamos a valorar la efectividad del PRP sobre diversas enfermedades de la piel, el hueso, el cartílago, etc., que pueden considerarse ortopédicas. Una de las mayores caracterizadas en cuanto a su tratamiento por PRP es la osteoartritis (OA), una patología que puede tener lugar en numerosas articulaciones. Una de las más comunes es la rodilla, donde los mejores resultados se han dado con P-PRP. Un ensayo clínico aleatorio de doble ciego empleó PRP a partir del sistema ACP (*Autologous Conditioned Plasma*) de Arthrex®. El objetivo de ese ensayo es comprobar la eficacia del tratamiento con PRP en comparación a HA. Los resultados se miden según análisis del líquido sinovial, y según diversas escalas de dolor. Las escalas de dolor son una especie de encuestas que se le hacen a los pacientes para comprobar su dolor y molestia en ese momento, y así darles una puntuación, aunque por supuesto es algo subjetivo. La escala más empleada es la de WOMAC (*Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index*), y es la que se mide principalmente en este estudio, aunque también se emplean otras más secundarias como VAS (*Visual Analog Scale*) o IKDC (*International Knee Documentation Committee*). Otro resultado es la medición de TNF- α en el tobillo, cuya concentración debería ser menor en el grupo de PRP. Se valoraron un total de 2299 pacientes registrados en *ClinicalTrials.gov*, de los cuales se seleccionaron 111 pacientes con lesiones de cartílago y/o OA, suficientes ya que el número estimado para obtener resultados significativos era de 37. Es importante recalcar que en ningún caso la OA es grave, sino que va de suave a moderada. Los casos de OA se pueden clasificar en 3 grados según la clasificación Kellgren-Lawrence (K-L). Además, también se recogieron datos demográficos.

Se formaron dos grupos aleatorios, que recibirían inyección intraarticular de HA o PRP. Durante el ensayo 12 pacientes abandonaron el tratamiento, así que los grupos de PRP y HA se quedaron con 49 y 50 miembros, respectivamente. Se extrajo líquido sinovial mediante guía de ultrasonido antes y después del tratamiento para realizar un *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA), con propósito de medir niveles de citoquinas antes del tratamiento y en las siguientes 2, 3, 6 y 24 semanas. Después del tratamiento se pidió a los pacientes restringir el uso de la pierna afectada por 24 horas, y mantenerla en frío en caso de molestia. Se ejecutaron tres inyecciones intraarticulares semanales por un clínico no relacionado con el estudio. Los resultados se midieron antes del tratamiento, en las semanas 2 y 3 durante el tratamiento, y en las semanas 6, 12, 24 y 52 tras el tratamiento. Por último, se realizaron análisis de regresión entre los resultados y los datos demográficos, y se calculó el grado de correlación entre los resultados y los cambios bioquímicos en el líquido sinovial.

Las medidas se evaluaron con un modelo de efectos mixtos según tiempo, grupo, grado K-L, edad, índice de masa corporal (BMI), dolor preoperatorio y sexo. Entre los pacientes que terminaron el ensayo no había diferencias significativas de edad, sexo o grado K-L, pero sí una pequeña en BMI, dado que el grupo de HA tenía un poco más, pero no es significativa

porque ambos entran en la categoría de sobrepeso según la clasificación del CDC (*Centers for Disease Control and Prevention*). En base a todas las puntuaciones de dolor empleadas hubo una mejora en los dos grupos hasta las 24 semanas, y a las 52 comenzó a bajar esa diferencia. La escala WOMAC no mostró diferencias significativas entre ambos grupos en ninguna semana, pero sí otras escalas como IKDC o VAS, mostrando mejores resultados en el grupo de PRP. La puntuación de IKDC (0-100, siendo 100 la más sana), mostraba mayor puntuación cuanto menor es el grado K-L, y mayor puntuación a menor BMI (clasificado en peso normal u obeso). No se dieron efectos significativos por edad o sexo. El contraste lineal identificó una puntuación IKDC significativamente más alta en el grupo PRP a las 24 semanas, y también a las 52 semanas. Por puntuación VAS (0-100, siendo 100 el mayor dolor) no se encontraron correlaciones con la edad, sexo, BMI y grado K-L. El contraste lineal sí que mostró una mejora significativa en el grupo de PRP respecto al de HA a las 24 semanas y a las 52 semanas.

El ensayo de ELISA buscaba evaluar tanto citoquinas proinflamatorias como antiinflamatorias (IL-1 β , IL-1Ra, IL-6, IL-8, TNF- α). No se encontró correlación ninguna respecto a los grupos de tratamiento, salvo a las 12 semanas en cuanto a IL-1 β y TNF- α , que eran menores en el grupo de PRP. Estos resultados implican una mejor capacidad antiinflamatoria en el PRP.(34)

También ha habido ensayos en osteoartritis de cadera, en comparación al HA. Un estudio de 111 pacientes evaluó el efecto de tres inyecciones intraarticulares semanales de PRP, HA o ambas. Hubo resultados favorables para el PRP a los 2 y 6 meses, pero no a los 12, en cuanto a puntuaciones de dolor. Además, la inyección de ambos dio mejores resultados que solo el HA, pero la mejora no se consideró significativa. Se determinó una cierta correlación entre la disminución del dolor y la presencia de IL-10. Hacen faltas más ensayos, ya que en este caso son aún más escasos.(35)

Sobre OA de tobillo ha habido pocos ensayos que han mostrado evidencia prometedora, aunque durante menos tiempo. En ellos se ha asociado la mejora del dolor por parte del PRP con un descenso en los niveles de TNF- α , IL-1 β , peróxidos lipídicos (LPO), e IL-17, y con el aumento de IL-4, glutatión (GSH) y glutatión S-transferasa (GST), lo cual demuestra que, además del ambiente inflamatorio, influye también un ambiente poco oxidativo.(36,37)

Un grupo de enfermedades donde se ha ensayado el PRP son las tendinopatías, que como su nombre indica son lesiones de los tendones. La capacidad anabólica del PRP sería especialmente útil en aquellas que son crónicas. La epicondilitis lateral afecta a tendones del antebrazo, y se le conoce también como codo de tenista. Un ensayo clínico aleatorizado de doble ciego evaluó a 230 pacientes cuyo tratamiento convencional fracasó al menos durante tres meses. Se les trató con L-PRP, y tras 24 semanas presentaron mayor disminución del dolor que el grupo control, que fueron tratados con

un anestésico local, (71,5% de los pacientes del grupo de PRP frente a 56,1% del grupo control, $P= 0,019$). Esto demuestra que el L-PRP es eficaz a largo plazo contra esta enfermedad.(38)

Otra tendinopatía importante es la tendinopatía patelar, también llamada rodilla de saltador, que afecta al tendón que conecta la rótula con la tibia. Se han llevado a cabo numerosos estudios sobre el uso de L-PRP como tratamiento. Uno de ellos evaluó a 23 pacientes en los que el tratamiento convencional había fallado. Se inyectó L-PRP a un grupo, y se ejecutó una punción en seco al grupo control. Tuvo un seguimiento de 26 semanas. El dolor tuvo una clara mejora a las 12 semanas ($P= 0,02$), pero a las 26 ya no lo era ($P= 0,66$), lo cual sugiere que el PRP podría emplearse para una mejora temprana de los síntomas.(39) Otro estudio lo comparó con otro tratamiento, la terapia de choque extracorpóreo, sobre 46 pacientes totales, y resultó en una mejora a los 6 y 12 meses ($P < 0,05$), lo cual indicaría un tratamiento a largo plazo, pero el número de pacientes es muy bajo como para corroborarlo.(40)

Otra tendinopatía de interés es la del tendón de Aquiles. Se han dado numerosos estudios fallidos, pero uno de ellos reportó buenos resultados. Empleó P-PRP mediante cuatro inyecciones cada dos semanas, y como controles se emplearon placebo y una inyección de gran volumen (salina y con esteroides y anestésico local). Se efectuó sobre 60 pacientes con enfermedad crónica de al menos 3 meses, y se siguió durante 6 meses en los que practicaron rehabilitación. El grupo de PRP tuvo una clara mejora en puntuaciones de dolor, funcionalidad y actividad a las 6, 12 y 24 semanas. Esto demuestra que esta terapia es más efectiva que la rehabilitación por sí sola, pero a falta de más ensayos aún está lejos de emplearse de rutina.(41)

También es relevante la tendinopatía del manguito rotador, que es un conjunto de tendones y músculos localizado en el hombro. Los pocos ensayos dedicados a ello no han empleado una inyección directa en el tendón, sino por inyección subacromial, justo encima de él. Uno de ellos evaluó a 40 pacientes con PRP sin especificar (aunque por su preparación debería ser L-PRP) comparando con corticosteroides. Hubo mejora significativa en las puntuaciones de dolor tras 12 semanas, pero a los 6 meses dejó de ser significativo. Además, por resonancia magnética no se vio una clara mejora. Se necesitan estudios adicionales, incluyendo inyecciones directas. (42)

Hay una enfermedad que ha sido ensayada que es similar a las tendinopatías. Se trata de la fascitis plantar, que afecta a la fascia plantar, una capa gruesa de tejido conectivo que une el hueso del talón con los dedos del pie. El empleo de corticosteroides sobre este tejido puede causar su ruptura o atrofia, de modo que una terapia alternativa es importante. Dos metaanálisis de diversos estudios han concluido que el PRP es una

alternativa viable respecto a los corticosteroides en cuanto a eficacia y duración, y por supuesto, también en seguridad. Son necesarios más ensayos de mayor tamaño.(43)

Metodología

Esta es una revisión no sistemática sobre el uso clínico del PRP, y sobre las propiedades celulares y moleculares que explican sus efectos clínicos. Se ha llevado a cabo una búsqueda bibliográfica en los motores de búsqueda de PubMed y Mendeley, empleando los términos “PRP” y “platelet-rich plasma” solos y en combinación con “classification”, “kits”, “trial”, “orthopedic”, “cartilage”, “bone”, “osteoarthritis”, “tendinopathy”, “epicondylitis”, “patellar”, “achilles”, “rotator cuff”, “fasciitis”, “knee”, “hip”, “ankle”, “foot”, “ulcer” y “pain”. Los estudios y los ensayos clínicos escogidos han sido los de mayor nivel entre los que han sido revisados. De ello dependen principalmente su uso en humanos, el número de pacientes y determinadas características, como la presencia de un grupo control, la aleatorización de grupos o el doble ciego a la hora de la administración del tratamiento.

Tras una búsqueda inicial en Mendeley, con los términos “PRP” y “platelet-rich plasma”, se seleccionaron 17 artículos en base al título, el resumen, y su fecha, dando prioridad a los fechados a partir de 2015. La búsqueda inicial se centra en artículos que hablen desde una visión general de las características del PRP, de su clasificación, de su obtención, y de tipos de enfermedades sobre las que se ha ensayado. A partir de estos artículos, se revisan algunas de sus referencias sobre las que se quiera ahondar más, en base a su resumen, y se seleccionan 39 artículos más. Tras sintetizar la información recabada se descartan los artículos con información redundante, o cuyo contenido se consideró irrelevante al final, y de los 17 artículos iniciales se redujo a 13.

Se busca información complementaria en PubMed sobre diversos temas y con los mismos criterios de inclusión, y tras seleccionar el número de artículos total queda en 56. Hay algunos temas concretos, como la aplicación clínica sobre ciertas enfermedades, donde la información es muy escasa, lo que ha resultado en que algunos artículos sean anteriores a 2015, o en emplear algunos ensayos en animales para reforzar la escasa evidencia en humanos. Se han buscado artículos específicos del uso clínico de PRP en la osteoartritis de rodilla, cadera y tobillo, en la epicondilitis lateral, en tendinopatía patelar, del tendón de Aquiles y del manguito rotador, y en la fascitis plantar.

Discusión

La obtención del PRP es sencilla y económica, ya que requiere únicamente de dos centrifugaciones. Para acelerar el proceso, se han desarrollado numerosos kits que permiten su obtención automatizada. Sin embargo, esta automatización provoca un aumento del coste, un bajo rendimiento, y una baja reproducibilidad de la composición del PRP resultante. Además, es necesario emplear diferentes equipos en función de si se quiere obtener P-PRP o L-PRP.(9)

En mi opinión, una posible solución desde el punto de vista biotecnológico sería el empleo de la citometría de flujo. Al configurar correctamente el citómetro de flujo, podemos hacer que, al pasar la sangre extraída, se separen plaquetas y leucocitos en función de determinadas características de sus membranas celulares. La eficiencia no sería perfecta, pero obtendríamos soluciones con ambos tipos celulares como componentes mayoritarios. También podríamos separar los glóbulos rojos, ya que hay que descartarlos. Una vez que se han separado, podemos administrar las células en el plasma según la composición deseada del PRP.

Hay evidencias de que sobre los condrocitos el PRP ejerce efectos beneficiosos. Algunos estudios han demostrado una mayor proliferación de ellos en cultivo con PRP, comparando con control, lo cual se puede medir por su contenido en DNA. También se ha evidenciado un aumento de diferenciación de condrocitos, cuyos marcadores son los proteoglicanos que secretan al medio.(10) Otro marcador útil de la diferenciación es el factor de transcripción Sox9, ya que su expresión es necesaria durante la condrogénesis.(11) También se ha demostrado en algunas ocasiones que el PRP inhibe el ambiente inflamatorio sobre los condrocitos.(15–17) Sin embargo, en otros casos no se ha visto ningún resultado favorable para el PRP.(13,14) Esta disparidad de resultados puede deberse a la falta de estandarización en los métodos de obtención y aplicación del PRP. Si no se define una composición ni una dosis óptima, es normal que los efectos sobre los condrocitos puedan diferir de un estudio a otro. Son necesarios más experimentos que avalen su eficacia. Serían especialmente útiles aquellos que comparan su efecto según parámetros como la concentración de plaquetas.

El PRP ha demostrado efectos beneficiosos sobre diversos tipos de MSC, las cuales son importantes en la reparación tisular. Los estudios se han concentrado sobre todo en las BSMC, que son capaces de diferenciarse en muchos tipos celulares, pudiendo formar varios tejidos como huesos o cartílagos. En sus ensayos de cultivo en PRP se ha visto predominancia de diferenciación condrogénica, especialmente en P-PRP, que mostraba mayores niveles de marcadores.(18,19) Esto podría significar que un ambiente inflamatorio inhibe la formación de cartílago. Su efecto es también beneficioso en otros tipos de MSC, de las cuales nos interesan las que se encuentran en el hueso subcondral, puesto que es la parte del hueso adyacente al cartílago, y por lo tanto requiere también cierta reparación.(22) Se necesita mayor evidencia del uso de P-PRP. Las enfermedades crónicas más relacionadas con estos tejidos son las artritis o similares, así que ensayos clínicos sobre ellas serían idóneos.

Los resultados sobre fibroblastos son algo contradictorios en los estudios analizados. Por una parte, a una concentración elevada de PRP (20%) se le atribuye un descenso en la proliferación, y se postula que la causa es el TGF- β 1.(24) Por otra parte, se cree que ese mismo factor es beneficioso en concentraciones elevadas sobre fibroblastos senescentes.(26) Tampoco se sabe una concentración plaquetaria óptima(25), así que futuros estudios podrían encargarse de ello. Si además se descubre con precisión el papel de TGF- β 1, se podría ajustar la dosis de PRP según su concentración deseada. Si se confirma una buena evidencia sobre

fibroblastos, la aplicación clínica inmediata podría ser sobre las úlceras crónicas, entre otras afecciones.

El empleo de PRP sobre cartílago intraarticular muestra un mayor efecto regenerativo con el P-PRP tanto por vista macroscópica como por marcadores moleculares.(19,31) Es probablemente debido a su menor capacidad inflamatoria. Ya habíamos visto que el P-PRP es beneficioso para condrocitos y MSC así que, si sumamos además estos resultados, podemos tener suficiente evidencia de que el PRP se podría emplear como tratamiento en lesiones de cartílago. Son necesarios más estudios, especialmente sobre cartílagos humanos. En la regeneración del cartílago es importante no solo su reparación *in vivo*, sino también *in vitro*, ya que se pueden emplear injertos cartilaginosos en lesiones graves. Si el PRP demuestra que aumenta su regeneración, podría comenzar a utilizarse con regularidad en la práctica clínica diaria.

El efecto del PRP sobre la regeneración ósea ha sido evidenciado en multitud de estudios. No solo se puede emplear en pequeñas fracturas, siendo así un tratamiento no invasivo, sino que también se puede utilizar sobre fracturas graves de huesos largos tras la cirugía. Puede depender del hueso afectado y del procedimiento quirúrgico empleado. Se ha probado en pacientes que tras la cirugía no llegaron a presentar una correcta unión ósea, y los resultados fueron favorables.(33) Si se consiguen identificar las mejores condiciones para el empleo del PRP sobre tejido óseo, se podría administrar durante o poco después de la cirugía, y el porcentaje de éxito podría aumentar. Futuros estudios deberían estudiarlo. Además, se podrían estudiar qué características del PRP son beneficiosas en según qué hueso, para así poder cubrir más lesiones. En la reparación ósea es mejor evitar un ambiente inflamatorio, así que se sugiere que es más favorable el P-PRP(32), y también se ha probado con PRP en forma de gel(29). No obstante, algunos de los artículos revisados no especifican qué tipo de PRP han empleado, y ese puede ser el motivo por el que su efectividad es condicional.

En el principal ensayo revisado sobre osteoartritis se ha visto una clara mejora con PRP como tratamiento en comparación con HA, aunque habría sido más claro con un grupo control.(34,35) Otros ensayos de mayor tamaño y con grupo control han visto una mayor mejora en escalas de dolor usando la combinación de ambos comparado al PRP solo, y durante más tiempo, llegando a haber mejora significativa hasta los 12 meses. No obstante, no se comparó con una inyección de HA solo.(44) Se ha ensayado también, aunque en menor medida, sobre OA de tobillo, donde los resultados parecen prometedores, aunque hay carencia de ensayos controlados.(36) De momento no hay ensayos estructurales sobre la reparación de la OA, pero hay evidencia de que el PRP alivia el dolor, o al menos a corto plazo. La mejora se ha asociado con niveles bajos de factores proinflamatorios como TNF- α y IL-1 β , lo cual se ve favorecido por el P-PRP.(34) También se ha asociado con agentes antioxidantes.(36) Conociendo estas propiedades moleculares, podemos generar PRP de acuerdo con sus concentraciones óptimas, las cuales habrá que investigar. El PRP ha demostrado buena

evidencia en el alivio de los síntomas de varios tipos de OA, pero aún queda demostrar su mejora estructural, y la combinación o no del PRP con otros agentes terapéuticos.

Los resultados del PRP sobre diversas tendinopatías crónicas no son demasiado concluyentes, aunque el número de ensayos y su calidad aún es pequeño. Depende mucho de la tendinopatía en cuestión. El ensayo anteriormente revisado sobre el tendón de Aquiles muestra evidencia favorable para el P-PRP(41), aunque otros numerosos estudios no han encontrado una mejora significativa del dolor con el PRP, aunque no se especifica el tipo.(45,46) La epicondilitis lateral muestra mejores resultados, y tras más investigación podría ser tratada con PRP.(38,47,48) La tendinopatía patelar no tiene demasiados ensayos, pero de los pocos que hay los resultados son prometedores.(39,40,49,50) La tendinopatía del manguito rotador ha tenido resultados variables. En el ensayo revisado anteriormente no hubo una clara evidencia(42), pero en otros sí, comparando con corticosteroides, y curiosamente los efectos del PRP le superan significativamente solo a largo plazo (unas 24 semanas).(51,52) En cuanto a la fascitis plantar, la mayoría de ensayos comparan el tratamiento con PRP con corticosteroides. De ellos, la mayoría muestran resultados favorables para el PRP, sobre todo a largo plazo. Además, son ensayos con más de 200 pacientes, lo cual representa una buena evidencia.(43,53–55)

Parece que la efectividad del PRP depende de la tendinopatía en cuestión, pero, de nuevo, es posible que se puedan tratar todas según las características del PRP. Se cree que en la reparación de tendones es importante una alta concentración de leucocitos(56), pero es posible que si se tratan de lesiones crónicas la cosa cambie, y prueba de ello es que el P-PRP ha mostrado algunos buenos resultados. Lo más importante por ahora es identificar qué tipo de PRP es idóneo para cada tendinopatía, y a partir de ahí se podrían investigar los factores más relevantes. Ya hay bastante evidencia de que el efecto del PRP supera al de los corticosteroides, y además su número de efectos adversos es menor, por lo que es probable que en el futuro el PRP se emplee contra diversas tendinopatías, ya sea como tratamiento directo o como adyuvante en una cirugía.

Empleando regularmente técnicas de análisis molecular como el Western blot en los estudios, se podría determinar qué factores del PRP son adecuados para cada aplicación clínica. Estas moléculas se podrían aislar por técnicas como la inmunocromatografía, y se podría determinar su dosis óptima en el PRP. Así se crearía una mayor variedad de PRP más allá del rico o pobre en leucocitos.

Más allá de los ensayos clínicos, se podría investigar *in silico* las interacciones que ejercen los factores de las plaquetas, para así poder predecir la efectividad de su concentración. Si esos estudios se trasladan a un paciente en cuestión, podría desarrollarse una medicina personalizada para él, que resultaría en un PRP determinado.

Conclusiones

1. El PRP ha demostrado un efecto mayor o similar que las terapias convencionales sobre numerosas patologías de índole ortopédica y traumatológica, principalmente a causa de los factores de crecimiento que contiene, los cuales promueven la regeneración a nivel celular y tisular.
2. El PRP se obtiene a través de un análisis de sangre del propio paciente por lo que es autólogo, y su nivel de antigenicidad es mínimo. Esto se demuestra gracias a la falta de efectos adversos recogidos en todos estos estudios, y a los pocos casos de infecciones registrados.
3. El PRP posee diversos niveles de evidencia sobre su uso clínico en numerosas enfermedades, en muchas de las cuales es favorable el P-PRP, debido a que tiene menor cantidad de factores proinflamatorios que el L-PRP. La reparación de tejidos es generalmente mayor en el empleo de P-PRP, mientras que el L-PRP destaca en algunas situaciones donde cierto efecto antimicrobiano es ventajoso.
4. Futuros estudios podrían encargarse de investigar qué factores plaquetarios o leucocitarios influyen en qué sentido en la aplicación clínica en cuestión, y determinar su concentración óptima. Es importante saber qué factores tienen propiedades inflamatorias o no, y de cuáles depende la reparación de determinados tejidos.
5. En un futuro es posible que el PRP se administre en según qué situaciones dependiendo de su composición molecular, más allá de que sea pobre o rico en leucocitos. La mayoría de las patologías ortopédicas que hemos visto tienen potencial para emplear PRP como tratamiento, aunque sea de alivio del dolor.
6. Son necesarios más estudios y más trabajos donde se estandaricen los métodos de obtención, de aplicación y de activación del PRP, para que los datos sean más reproducibles y fiables. También son necesarios ensayos clínicos mayores, para poder emplearlo como tratamiento de rutina.

Conclusions

1. PRP has demonstrated a greater or similar effect than conventional therapies on numerous orthopedic and traumatological pathologies, mainly due to the growth factors it contains, which promote regeneration at the cellular and tissue level.
2. PRP is obtained through a blood test of the patient himself, so it is autologous, and its level of antigenicity is minimal. This is demonstrated by the lack of adverse effects reported in all these studies, and the few cases of infections recorded.
3. PRP has varying levels of evidence for its clinical use in numerous diseases, in many of which PRP is favorable because it has fewer pro-inflammatory factors than L-PRP. Tissue repair is generally greater in the use of P-PRP, while L-PRP excels in some situations where some antimicrobial effect is advantageous.

4. Future studies could investigate which platelet or leukocyte factors influence the clinical application in question and determine their optimal concentration. It is important to know which factors have inflammatory or non-inflammatory properties, and on which ones the repair of certain tissues depends.
5. In the future, it is possible that PRP may be administered in certain situations depending on its molecular composition, beyond whether it is leukocyte-poor or leukocyte-rich. Most of the orthopedic pathologies we have seen have the potential to use PRP as a treatment, even if only for pain relief.
6. More studies and more works are needed to standardize the methods of obtaining, applying and activating PRP, so that the data can be more reproducible and reliable. Larger clinical trials are also necessary in order to be able to use it as a routine treatment.

Bibliografía

1. Henning PR, Grear BJ. Platelet-rich plasma in the foot and ankle. Vol. 11, Current Reviews in Musculoskeletal Medicine. 2018. p. 616–23.
2. Knezevic NN, Candido KD, Desai R, Kaye AD. Is Platelet-Rich Plasma a Future Therapy in Pain Management? Medical Clinics of North America. 2016.
3. Conde Montero E, Fernández Santos ME, Suárez Fernández R. Platelet-rich plasma: Applications in dermatology. Actas Dermo-Sifiliograficas. 2015.
4. Le ADK, Enweze L, DeBaun MR, Dragoo JL. Platelet-Rich Plasma. Vol. 38, Clinics in Sports Medicine. 2019. p. 17–44.
5. Piccin A, Di Pierro AM, Canzian L, Primerano M, Corvetta D, Negri G, et al. Platelet gel: A new therapeutic tool with great potential. Blood Transfusion. 2017.
6. Knop E, De Paula LE, Fuller R. Platelet-rich plasma for osteoarthritis treatment. Revista Brasileira de Reumatologia. 2016.
7. Xie X, Zhang C, Tuan RS. Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. Arthritis Research and Therapy. 2014.
8. Devereaux J, Nurgali K, Kiatos D, Sakkal S, Apostolopoulos V. Effects of platelet-rich plasma and platelet-poor plasma on human dermal fibroblasts. Maturitas [Internet]. 2018;117:34–44.
9. Dohan Ehrenfest DM, Rasmussen L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in Biotechnology. 2009.
10. Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. Trends Biotechnol. 2006;24(5):227–34.

11. Stokes DG, Liu G, Dharmavaram R, Hawkins D, Piera-Velazquez S, Jimenez SA. Regulation of type-II collagen gene expression during human chondrocyte dedifferentiation and recovery of chondrocyte-specific phenotype in culture involves Sry-type high-mobility-group box (SOX) transcription factors. *Biochem J.* 2001;360(2):461–70.
12. Lee HR, Park KM, Joung YK, Park KD, Do SH. Platelet-rich plasma loaded hydrogel scaffold enhances chondrogenic differentiation and maturation with up-regulation of CB1 and CB2. *J Control Release* [Internet]. 2012;159(3):332–7.
13. Pettersson S, Wetterö J, Tengvall P, Kratz G. Human articular chondrocytes on macroporous gelatin microcarriers form structurally stable constructs with blood-derived biological glues in vitro. *J Tissue Eng Regen Med.* 2009;3(6):450–60.
14. Gaissmaier C, Fritz J, Krackhardt T, Flesch I, Aicher WK, Ashammakhi N. Effect of human platelet supernatant on proliferation and matrix synthesis of human articular chondrocytes in monolayer and three-dimensional alginate cultures. *Biomaterials.* 2005;26(14):1953–60.
15. Van Buul GM, Koevoet WLM, Kops N, Bos PK, Verhaar JAN, Weinans H, et al. Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes. *Am J Sports Med.* 2011;39(11):2362–70.
16. Bendinelli P, Matteucci E, Dogliotti G, Corsi MM, Banfi G, Maroni P, et al. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: Mechanisms of NF-κB inhibition via HGF. *J Cell Physiol.* 2010;225(3):757–66.
17. Montaseri A, Busch F, Mobasheri A, Buhrmann C, Aldinger C, Rad JS, et al. IGF-1 and PDGF-bb suppress IL-1β-induced cartilage degradation through down-regulation of NF-κB signaling: Involvement of Src/PI-3k/AKT pathway. *PLoS One.* 2011;6(12).
18. Mishra A, Tummala P, King A, Lee B, Kraus M, Tse V, et al. Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. *Tissue Eng Part C Methods.* 2009;15(3):431–5.
19. Xu Z, Yin W, Zhang Y, Qi X, Chen Y, Xie X, et al. Comparative evaluation of leukocyte-and platelet-rich plasma and pure platelet-rich plasma for cartilage regeneration. *Sci Rep.* 2017;
20. Xie X, Wang Y, Zhao C, Guo S, Liu S, Jia W, et al. Comparative evaluation of MSCs from bone marrow and adipose tissue seeded in PRP-derived scaffold for cartilage regeneration. *Biomaterials* [Internet]. 2012;33(29):7008–18.
21. Mifune Y, Matsumoto T, Takayama K, Ota S, Li H, Meszaros LB, et al. The effect of platelet-rich plasma on the regenerative therapy of muscle derived stem cells for articular cartilage repair. *Osteoarthr Cartil.* 2013;21(1):175–85.
22. Krüger JP, Honke S, Endres M, Pruss A, Siclari A, Kaps C. Human platelet-rich plasma stimulates migration and chondrogenic differentiation of human subchondral progenitor cells. *J Orthop Res.* 2012;30(6):845–52.
23. Sitek P, Wysocka-Wycisk A, Kępski F, Król D, Bursig H, Dyląg S. PRP-fibrinogen gel-like chondrocyte carrier stabilized by TXA-preliminary study. *Cell Tissue Bank.*

2013;14(1):133–40.

24. Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, Kushida S, Notodihardjo FZ, Kusumoto K. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts. *Plast Reconstr Surg.* 2008;122(5):1352–60.
25. Giusti I, Rughetti A, D'Ascenzo S, Di Stefano G, Nanni MR, Millimaggi D, et al. The effects of platelet gel-released supernatant on human fibroblasts. *Wound Repair Regen.* 2013;21(2):300–8.
26. Wirohadidjojo YW, Budiyanto A, Soebono H. Platelet-Rich fibrin lysate can ameliorate dysfunction of chronically uva-irradiated human dermal fibroblasts. *Yonsei Med J.* 2016;57(5):1282–5.
27. Radiono S, Wirohadidjojo YW, Budiyanto A. The Effect of PRF on Serum Starved Human Dermal Fibroblast. *J the Med Sci (Berkala Ilmu Kedokteran).* 2016;48(02):110–8.
28. Devereaux J, Nurgali K, Kiatos D, Sakkal S, Apostolopoulos V. Effects of platelet-rich plasma and platelet-poor plasma on human dermal fibroblasts. *Maturitas.* 2018 Nov 1;117:34–44.
29. Oryan A, Alidadi S, Moshiri A. Platelet-rich plasma for bone healing and regeneration. *Expert Opin Biol Ther.* 2016;
30. Maderna P, Godson C. Lipoxins: Revolutionary road. *Br J Pharmacol.* 2009;158(4):947–59.
31. Chen Y-T, Lee H-S, Hsieh D-J, Periasamy S, Yeh Y-C, Lai Y-P, et al. 3D composite engineered using supercritical CO₂ decellularized porcine cartilage scaffold, chondrocytes, and PRP: Role in articular cartilage regeneration. *J Tissue Eng Regen Med.* 2021 Feb;15(2):163–75.
32. Yin W, Qi X, Zhang Y, Sheng J, Xu Z, Tao S, et al. Advantages of pure platelet-rich plasma compared with leukocyte- and platelet-rich plasma in promoting repair of bone defects. *J Transl Med.* 2016;
33. Gołos J, Waliński T, Piekarczyk P, Kwiatkowski K. Results of the use of platelet rich plasma in the treatment of delayed union of long bones. *Ortop Traumatol Rehabil.* 2014;16(4):397–406.
34. Cole BJ, Karas V, Hussey K, Pilz K, Fortier LA. Hyaluronic Acid Versus Platelet-Rich Plasma. *Am J Sports Med.* 2017;
35. Dallari D, Stagni C, Rani N, Sabbioni G, Pelotti P, Torricelli P, et al. Ultrasound-Guided Injection of Platelet-Rich Plasma and Hyaluronic Acid, Separately and in Combination, for Hip Osteoarthritis. *Am J Sports Med.* 2016;44(3):664–71.
36. Fukawa T, Yamaguchi S, Akatsu Y, Yamamoto Y, Akagi R, Sasho T. Safety and Efficacy of Intra-articular Injection of Platelet-Rich Plasma in Patients With Ankle Osteoarthritis. *Foot ankle Int.* 2017 Jun;38(6):596–604.
37. Ragab GH, Halfaya FM, Ahmed OM, Abou El-Kheir W, Mahdi EA, Ali TM, et al. Platelet-Rich Plasma Ameliorates Monosodium Iodoacetate-Induced Ankle Osteoarthritis in the

Rat Model via Suppression of Inflammation and Oxidative Stress. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021;2021:6692432.

38. Mishra AK, Skrepnik N V., Edwards SG, Jones GL, Sampson S, Vermillion DA, et al. Efficacy of platelet-rich plasma for chronic tennis elbow: A double-blind, prospective, multicenter, randomized controlled trial of 230 patients. *Am J Sports Med.* 2014;42(2):463–71.
39. Dragoo JL, Wasterlain AS, Braun HJ, Nead KT. Platelet-rich plasma as a treatment for patellar tendinopathy: A double-blind, randomized controlled trial. *Am J Sports Med.* 2014;42(3):610–8.
40. Vetrano M, Castorina A, Vulpiani MC, Baldini R, Pavan A, Ferretti A. Platelet-rich plasma versus focused shock waves in the treatment of Jumper’s knee in athletes. *Am J Sports Med.* 2013;41(4):795–803.
41. Boesen AP, Hansen R, Boesen MI, Malliaras P, Langberg H. Effect of High-Volume Injection, Platelet-Rich Plasma, and Sham Treatment in Chronic Midportion Achilles Tendinopathy: A Randomized Double-Blinded Prospective Study. *Am J Sports Med.* 2017;45(9):2034–43.
42. Shams A, El-Sayed M, Gamal O, Ewes W. Subacromial injection of autologous platelet-rich plasma versus corticosteroid for the treatment of symptomatic partial rotator cuff tears. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2016;26(8):837–42.
43. Le ADK, Enweze L, DeBaun MR, Dragoo JL. Current Clinical Recommendations for Use of Platelet-Rich Plasma. *Curr Rev Musculoskelet Med.* 2018;11(4):624–34.
44. Zhao J, Huang H, Liang G, Zeng LF, Yang W, Liu J. Effects and safety of the combination of platelet-rich plasma (PRP) and hyaluronic acid (HA) in the treatment of knee osteoarthritis: A systematic review and meta-analysis. *BMC Musculoskelet Disord.* 2020;21(1):1–12.
45. Madhi MI, Yausep OE, Khamdan K, Trigkilidas D. The use of PRP in treatment of Achilles Tendinopathy: A systematic review of literature. Study design: Systematic review of literature. *Ann Med Surg.* 2020 Jul;55:320–6.
46. Nauwelaers A-K, Van Oost L, Peers K. Evidence for the use of PRP in chronic midsubstance Achilles tendinopathy: A systematic review with meta-analysis. *Foot ankle Surg Off J Eur Soc Foot Ankle Surg.* 2020 Jul;
47. Li A, Wang H, Yu Z, Zhang G, Feng S, Liu L, et al. Platelet-rich plasma vs corticosteroids for elbow epicondylitis: A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore).* 2019 Dec;98(51):e18358.
48. Arirachakaran A, Sukthuayat A, Sisayanarane T, Laoratanavoraphong S, Kanchanatawan W, Kongtharvonskul J. Platelet-rich plasma versus autologous blood versus steroid injection in lateral epicondylitis: systematic review and network meta-analysis. *J Orthop Traumatol Off J Ital Soc Orthop Traumatol.* 2016 Jun;17(2):101–12.
49. Everhart JS, Cole D, Sojka JH, Higgins JD, Magnussen RA, Schmitt LC, et al. Treatment Options for Patellar Tendinopathy: A Systematic Review. *Arthrosc J Arthrosc Relat Surg Off Publ Arthrosc Assoc North Am Int Arthrosc Assoc.* 2017 Apr;33(4):861–72.

50. Andriolo L, Altamura SA, Reale D, Candrian C, Zaffagnini S, Filardo G. Nonsurgical Treatments of Patellar Tendinopathy: Multiple Injections of Platelet-Rich Plasma Are a Suitable Option: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Sports Med.* 2019 Mar;47(4):1001–18.
51. Lin M-T, Chiang C-F, Wu C-H, Huang Y-T, Tu Y-K, Wang T-G. Comparative Effectiveness of Injection Therapies in Rotator Cuff Tendinopathy: A Systematic Review, Pairwise and Network Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. *Arch Phys Med Rehabil.* 2019 Feb;100(2):336-349.e15.
52. Chen X, Jones IA, Togashi R, Park C, Vangsness CTJ. Use of Platelet-Rich Plasma for the Improvement of Pain and Function in Rotator Cuff Tears: A Systematic Review and Meta-analysis With Bias Assessment. *Am J Sports Med.* 2020 Jul;48(8):2028–41.
53. Jain SK, Suprashant K, Kumar S, Yadav A, Kearns SR. Comparison of Plantar Fasciitis Injected With Platelet-Rich Plasma vs Corticosteroids. *Foot ankle Int.* 2018 Jul;39(7):780–6.
54. Yang W-Y, Han Y-H, Cao X-W, Pan J-K, Zeng L-F, Lin J-T, et al. Platelet-rich plasma as a treatment for plantar fasciitis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Medicine (Baltimore).* 2017 Nov;96(44):e8475.
55. Hurley ET, Shimozono Y, Hannon CP, Smyth NA, Murawski CD, Kennedy JG. Platelet-Rich Plasma Versus Corticosteroids for Plantar Fasciitis: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *Orthop J Sport Med.* 2020 Apr;8(4):2325967120915704.
56. Barber FA. PRP as an Adjunct to Rotator Cuff Tendon Repair. *Sports Med Arthrosc.* 2018 Jun;26(2):42–7.