

MEDICINA REGENERATIVA

Nuevo abordaje para el dolor músculo-esquelético

Autores

Dr. Gonzalo Yamauchi Quintian

Médico especialista en Medicina Familiar. Hospital Italiano de Buenos Aires.

Especialista en Dolor músculo-esquelético.

Director médico de Prolosalud Buenos Aires.

Docente certificado de Sonoskills.

Lic. Daniel Mautor

Licenciado en Hemoterapia e Inmunohematología

Universidad Maimonides

Hopital Ramos Mejía.

Diplomado en Medicina Basada en la Evidencia.

Máster en Medicina Transfusional y Terapia Celular.

Máster en Medicina Regenerativa y Terapia Celular.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	3
PLASMA RICO EN PLAQUETAS.....	4
UTILIDAD CLÍNICA	17
CÉLULAS MADRE	24
CRESTA ILÍACA	26
SANGRE PERIFÉRICA	27
CORDÓN UMBILICAL.....	28
TEJIDO ADIPOSO	28
CONCLUSIONES	30
BIBLIOGRAFÍA	31

INTRODUCCIÓN

¿Qué es la medicina regenerativa? Es una rama especializada en la reparación de tejidos dañados o cuya función es anómala, mediante técnicas que utilizan tejidos autólogos (derivados sanguíneos o células autólogas) que promueven la curación y reparación del tejido afectado. Si bien se la considera la medicina del futuro, ya se utiliza ampliamente en la actualidad.

En todos los tejidos del cuerpo se suceden procesos que hacen que las células se degeneren o dañen, lo que produce el recambio celular. En las personas mayores estos procesos suceden de forma más lenta y con menor capacidad para regenerar. Esto es regla en todos los tejidos del cuerpo, se puede observar en el cabello, músculos, páncreas, próstata, etc. Las células cutáneas, por ejemplo, sufren arrugas, la piel se afina y su calidad se deteriora. Las funciones sexuales, también se ven deterioradas lo que afecta la calidad de vida. Así, en las articulaciones el tiempo produce desgaste de las células del cartílago lo que genera artrosis y lleva a la deformación con dolor asociado.

Dentro de las posibilidades y nombres genéricos de la Medicina Regenerativa, se incluyen muchas subespecialidades, unas con mayor aplicación clínica actual que otras, sencillamente por aspectos normativos. Hoy en día la medicina que más se practica dentro de la Medicina Regenerativa es la Medicina Traslacional, en la que consiste la extracción y procesamiento, bien de factores de crecimiento de la sangre venosa "Plasma Rico en Plaquetas" del paciente y su implantación de forma autóloga y en el mismo acto. También está incluida la extracción de células mesenquimales adultas derivadas del tejido adiposo (ADSC), la fracción estromal vascular (SVF) o de tejido hematopoyético de sangre periférica o cresta iliaca, y la implantación en la zona a tratar, sin la realización de una manipulación sustancial, realizado de forma autóloga.

La medicina regenerativa se encuentra muy desarrollada en ciertas subespecialidades, la principal utilización en la actualidad es en la medicina musculo-esquelética utilizando medicina regenerativa para aliviar y mejorar el desgaste tanto en articulaciones, tendones y ligamentos. La segunda subespecialidad es la medicina estética, odontología y capilar.

Este tipo de tratamientos no solo sirve en aquellos pacientes que ya padecen deterioro como la artrosis o desgaste articular, por ejemplo, sino que se puede realizar preventivamente en aquellos pacientes con mínimo o nada de dolor para prevenir el desgaste del tiempo tanto en articulaciones como por ejemplo en cara o cuero cabelludo.

Hoy en Estados Unidos se utilizan dos técnicas, Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y Células Madre Adultas, para la regeneración de tejidos asociadas a la realización de ejercicios y una alimentación adecuada.

El objetivo de esta separata es entender la fisiopatología y el motivo por el cual se utilizan este tipo de tratamientos para estimular la reparación celular, y describir los distintos tipos de técnicas y utilizaciones del mismo, en distintas especialidades de la medicina.

PLASMA RICO EN PLAQUETAS

Inicialmente, los concentrados de plaquetas eran utilizados en medicina transfusional para el tratamiento y prevención de hemorragias, asociadas a patologías como trombocitopenia grave, aplasia medular, leucemias agudas o en una significativa pérdida durante cirugías de larga duración. Se considera que un concentrado de plaquetas contiene alrededor de $0,5 \times 10^{11}$ Plaquetas/unidad, obtenido de un donante y por aféresis: la cifra suele estar en torno a 3×10^{11} .

Las plaquetas contienen además: proteínas adhesivas, que intervienen en la comunicación intercelular, en la formación del coagulo y en la composición de la matriz extracelular (MEC); Factores coagulantes (F XI y V) que junto con otras proteínas intervienen en la producción de trombina y en la angiogénesis; Factores fibrinolíticos y proteínas asociadas que influyen en la producción de plasmina y en la modulación vascular; proteasas y antiproteasas: intervienen en la angiogénesis, modulación vascular, coagulación y supervivencia celular. Se han identificado que las plaquetas liberan sustancias que promueven la reparación de tejidos, éste hecho significa que su uso podría tener un efecto positivo en situaciones clínicas que requieran una rápida cicatrización de tejido. Su administración como coagulo de fibrina, proporciona un soporte adhesivo que favorece la curación y regeneración de tejidos, en la actualidad, el uso de geles de fibrina a partir del plasma humano se ha utilizado ampliamente en procedimientos de cirugías cardiovasculares, ortopédicas y maxilofaciales.

Las plaquetas juegan un papel en la hemostasia y son una fuente natural de diversos factores de crecimiento, Aunque estas células son anucleadas no poseen ADN nuclear, pero se ha descubierto que posee pequeñas cantidades RNAm derivados de los megacariocitos, ellas también contienen retículo endoplasmático rugoso y polirribosomas por lo que se le atribuye la capacidad de la biosíntesis de proteínas, ellas están constituidas por una bicapa lipídica con glicoproteínas que funcionan como receptores de los agonistas fisiológicos de las plaquetas (ADP, TXA₂, trombina), proteínas adhesivas (fibrinógeno, fibronectina laminina, trombospondina, vitronectina, factor de von Willebrand) y ligandos fibrosos como el colágeno. También poseen enzimas, integrinas y fosfolípidos.

Las plaquetas o trombocitos son fragmentos citoplasmáticos pequeños irregulares, anucleados de tamaños entre 2 a 3µm, (figura 1) en forma discoide derivadas de los megacariocitos multinucleados ubicados en la medula ósea, circulan en la sangre de 7 a 10 días en concentraciones de 150 a 450 x10³ µL. Fueron descubiertas por primera vez por Max Schultze, un anatomista alemán quien las describió como “esferulas” o “platos” de un tamaño más pequeños que los eritrocitos, que en ocasiones se agrupaban.

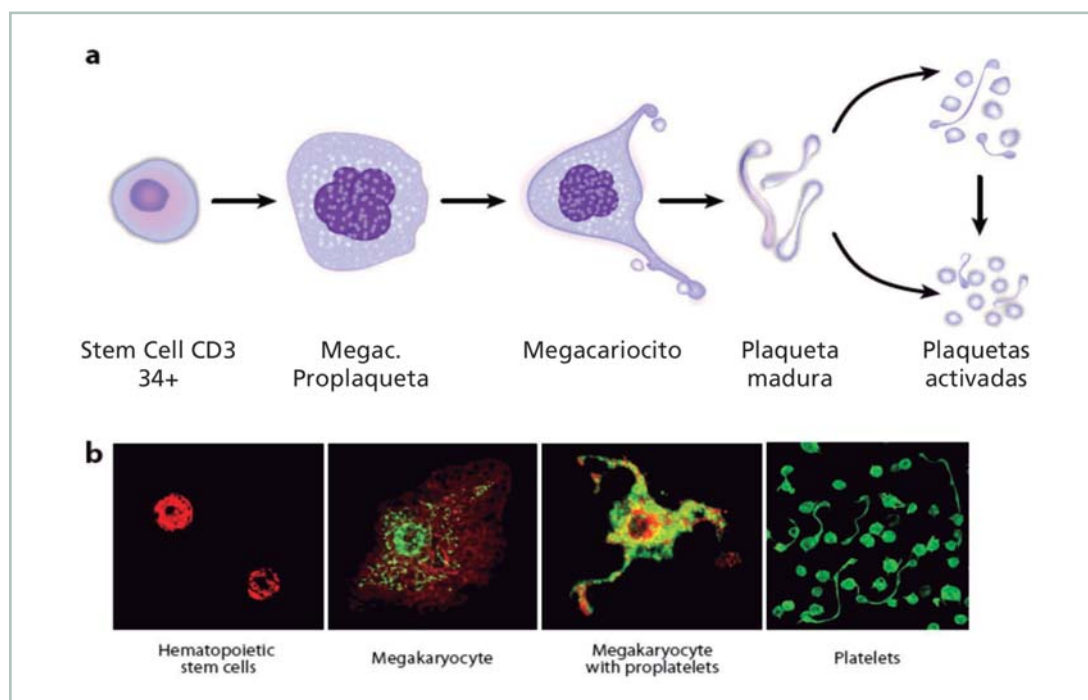


Fig. 1 TROMBOPOYESIS (Formación de las Plaquetas)

Lo primero que debemos definir en relación a este tipo de técnica es su definición arbitrariamente se denomina plasma rico en plaquetas (PRP) cuando la concentración plaquetaria obtenida en el plasma es mayor a 1.000.000 de plaquetas, aquellos plasmas con menor cantidad plaquetaria se denominan plasma pobre en plaquetas (PPP).

Muchos de los sistemas de preparación varían en la eficiencia para obtener un concentrado de plaquetas; en la repetitividad del procedimiento, recuento de leucocitos final y activación o no activación plaquetaria, también observamos variables que no dependen del sistema de separación celular, si no del donante y puede existir una variabilidad en el número de plaquetas, leucocitos, eritrocitos al que se le ha atribuido en parte un sin número de factores como inflamación (leuco-

citosis o leucopenia), lipemia (que aumenta concentración plaquetas en número y está influenciada en la dieta), hematocrito (genero), por esto un buen control de calidad en los procedimientos para la obtención del PRP como el recuento inicial de plaquetas, cuadro hematológico y hemático del paciente nos ayudaran a obtener un buen concentrado de plaquetas.

Existen diferentes maneras y modalidades para preparar el plasma por lo cual nosotros adoptamos una clasificación propuesta por el Dr. Fabio Lana:

SIGLA	PROCEDIMIENTO	TIPO
M	Método	Manual Máquina (kit dependiente)
A	Activación (degranulación)	Activado No Activado
R	Glóbulos Rojos	Rico (con células) Pobre (con poco o nada)
S	Centrifugado	Simple Doble
P	Número de Plaquetas	Triplicado, cuádruplicado
I	Imagen guiada	Guiada No guiada
L	Concentración de Leucocitos	Rico (con células) Pobre (con poco o nada)
L	Activación con Luz (Led)	Activado No Activado

La clasificación **MARSPILL 1** evalúa distintos aspectos como el método si es automático con máquinas (M) que directamente uno ingresa la sangre y extrae el plasma, o si son a mano en donde el operador hace la selección del plasma; si el plasma lleva activación o no (cloruro de calcio); si el plasma contiene glóbulos rojos o no; cantidad de centrifugaciones del plasma (1 o 2); cantidad de multiplicación del basal plaquetario que tiene el plasma; si el procedimiento se realiza con guía imagenológica o no; si tiene poca o mucha cantidad de leucocitos y si se realizó activación con Luz LED, Calcio o no se realizó activación.

En los trabajos científicos que existen actualmente una de las dificultades que se encuentran para compararlos es la diversidad de técnicas de preparación y métodos de aplicación por lo cual en los distintos meta-análisis existen una gran variedad de resultados. Por eso creemos que una clasificación como MARSPILL hace que todos los médicos puedan hablar el mismo idioma en medicina regenerativa.

FISIOPATOLOGÍA DE LA UTILIZACIÓN DE FACTORES DE CRECIMIENTOS

Esta técnica consiste en extraer sangre a una persona, de forma aséptica y, a través de distintos métodos de centrifugación (tiempo, revoluciones, repeticiones) obtener un concentrado de plaquetas. Dentro de la pared de las plaquetas se encuentran los factores de crecimiento que son los que producen la regeneración de los tejidos. Este concentrado se inyecta en las zonas donde se quiere estimular la reparación de las células (articulaciones, piel, folículo piloso, entre otros). Los factores inyectados producen nuevos vasos sanguíneos y atraen a su vez más células que colaboran con el proceso de reparación y regeneración.

Es una tecnología biomédica dirigida a estimular la regeneración tisular mediante la concentración y aplicación de los factores de crecimiento y otras proteínas presentes en el plasma sanguíneo.

Los factores de crecimiento desencadenan efectos biológicos como la proliferación y diferenciación celular, la generación de vasos sanguíneos y la migración de las células a los lugares donde es necesario que se produzca la regeneración. Ningún agente exógeno puede mediar de forma efectiva sobre todos estos procesos.

Los factores que influyen sobre sus efectos in vivo son: la magnitud de su producción, su vida media, la distribución corporal y la presencia de inhibidores naturales.

Los factores de crecimiento son proteínas que serán enviadas de una célula a otra para transmitir una señal concreta: migración, diferenciación, activación, provocando una respuesta. La célula o células que reciben la señal pueden estar próximas o alejadas de la célula que ha sintetizado y liberado dicho factor y en función de esta proximidad encontramos distintos tipos de respuestas:

- Endocrina: las células afectadas están distantes de la célula original.
- Paracrina: la célula receptora está cerca.
- Autocrina: se unen a receptores de la misma célula que la ha liberado.
- Yuxtacrina: un factor de crecimiento se une al receptor de una célula y ésta se une a otra por contacto directo.

La división celular se ve afectada por los factores de crecimiento. Se dice que las células se encuentran en fase G0 en ausencia de estos factores y son necesarios para el avance del ciclo mitótico. Las células precisan de recibir estos estímulos para sobrevivir, proliferar y dividirse, de tal forma que cuando son privadas de estos estímulos se detienen en la fase G0 debido a que se inactiva la producción de muchas proteínas necesarias para el avance del ciclo. En un momento determinado de la fase G1 de mitosis es preciso que las células dispongan de una cantidad adicional de factores que les permitan continuar ese avance. Cuando se produce el daño en el ADN, la fase del ciclo se detiene en fase G1, al efecto de poder reparar el daño celular y continuar con el ciclo, o bien programar su propio suicidio apoptótico cuando el daño es irreparable. Los factores de crecimiento regulan la progresión del ciclo, entre otros mecanismos, modificando la fisiología de diversas proteínas intracelulares que facilitan el avance o la detención del mismo.

Los factores de crecimiento actúan a través de la vía de transducción de señales (vía del segundo mensajero), y son considerados como los primeros mensajeros. Los factores de crecimiento son un grupo de moléculas que por su biología pertenecen a las citoquinas, glicoproteínas de bajo peso molecular mediadores endógenos de la respuesta celular ante un determinado estímulo (estrés, inflamación, infección, etc.), favoreciendo el funcionamiento y el crecimiento de un determinado tipo de células. Entre los más estudiados hasta el momento podemos destacar:

- E.G.F.: Factor de crecimiento epidérmico (FCE)
- F.G.F.: Factor de crecimiento del fibroblasto
- TGF. alfa y beta: Factor de crecimiento de transformación alfa y beta.
- C.M.C.S.F: Factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos.
- I.G.F-I y II: Factor estimulador relacionado con la insulina.
- P.D.G.F.: Factor estimulador de las plaquetas
- V.E.G.F.: Factor de crecimiento del endotelio vascular.

Actúan de forma no enzimática como señales intercelulares que modulan la función celular, regulando el crecimiento, la diferenciación y el metabolismo celular.

Los factores de crecimiento regulan el crecimiento de la célula de una forma muy diversa; así un factor puede facilitar la unión de otro factor diferente a su receptor, puede modificar el número de receptores para sí mismo o para otros factores, incluso puede modificar la síntesis y secreción de otro factor de crecimiento diferente. Esto quiere decir que el efecto global de un factor de crecimiento sobre la proliferación celular no depende únicamente de su acción directa sobre las proteínas intracelulares que regulan el crecimiento y la proliferación de la célula, sino también de las interacciones que existen entre factores de crecimiento diferentes. Pueden medirse en el suero a concentraciones muy bajas, del orden de 10^{-9} a 10^{-11} MoL y también se mide en Pico Gramos.

En este proceso el ligando se une a un receptor de superficie de membrana específico que se encarga de transmitir la señal al interior celular y provocar reacciones en cadena moleculares intracelulares que se les atribuye, por su función, el papel de segundos mensajeros. Estas señales se transmiten a través de una escalera de moléculas que son activadas-desactivadas en forma secuencial para provocar una respuesta celular que nos llevará a la regulación de su crecimiento, su división, la apoptosis, respuesta a los estímulos del estrés y la reparación celular. Que realice una u otra función va a depender del factor de crecimiento involucrado y del estado fisiológico de la célula.

Estos receptores, del tipo tirosin-cinasa (o tirosin quinasa), poseen un dominio externo fijador de ligandos, un dominio de anclaje transmembrana y un dominio interno que transmite las señales a la célula. Poseen especificidad en dos sentidos: tienen muy alta afinidad de unión por su ligando y se distribuyen por tejidos que están influenciados por la sustancia peptídica específica.

Los factores de crecimiento actúan a través de la vía de transducción de señales (vía del segundo mensajero).

Este tipo de receptores son compartidos por varios factores de crecimiento, entre los que están: factor de crecimiento derivado de las plaquetas (P.D.G.F.), factores de crecimiento del fibroblasto (F.G.F.), factor de crecimiento epidérmico (E.G.F.), factores de crecimiento relacionados con la insulina I y II (I.G.F. I Y II), factor de crecimiento del endotelio vascular, factores estimuladores de colonia de macrófagos, etc.

Al unirse el factor de crecimiento correspondiente a su receptor al (Fig.2), trae consigo la unión (dimerización) de dos ligandos tirosin-cinasa adyacentes, los cuales se activan fosforilándose iniciándose la propagación del estímulo. En el citoplasma se unen a otras moléculas las cuales a su vez sufren otro proceso de fosforilación y propagan la señal hasta el núcleo.

Una parte importante de este tipo de receptores son las llamadas Proteínas G, fijadoras de nucleótidos de guanina; de ellas se conocen dos fracciones, Gs y Gi, que acoplan a los factores y también a la adenil-ciclase. La proteína Gs estimula la actividad de la adenil-ciclase y de este modo aumenta la cantidad de AMP cíclico intracelular. La proteína Gi inhibe la actividad de la adenil-ciclase y por ello reduce o inhibe la producción de AMP cíclico.

Una vez que se ha puesto en marcha el ciclo celular, su avance depende del balance entre unas proteínas estimuladoras denominadas proteincinasa dependientes de ciclina (cdk) y sus inhibidores (cdki), quienes son en realidad las proteínas que determinan el avance o la detención del ciclo. Así mismo, tiene importancia en el proceso de apoptosis y oncogénesis.

Las cdk son enzimas que ejercen su acción fosforilando las serinas y las treoninas de determinadas proteínas y actúan unidas a las ciclinas, que son subunidades reguladoras de las cdk y controlan su capacidad fosforilativa. Las ciclinas, una vez sintetizadas, tienen una media de vida baja, alrededor de 25 min. Se ha comprobado que durante la fase G2 de mitosis existe una importante acumulación de ciclinas mitóticas que se unen a las cdk. Estas uniones ocasionan los llamados factores promotores de la fase M o MPF (mitotic promoting factor), y es la activación de estos complejos lo que impulsa a la célula a entrar en mitosis. Cuando se degrada la ciclina mitótica, los MPF se inactivan rápidamente y permiten a la célula salir de la mitosis.

Se puede decir que tanto las propias cdk activadas como la acumulación de ciclinas actúan como reguladores positivos sobre el avance del ciclo, mientras que el descenso en la concentración de ciclinas y la presencia de las cdk actuarían como reguladores negativos. El balance final de estos procesos determinará que la célula permanezca en un estado quiescente, prolifere normalmente, prolifere de un modo incontrolado o inicie un proceso de apoptosis.

Se han identificado varias proteínas inhibidoras de las cdk que tienen una función importante en el bloqueo o detención del ciclo. El déficit de alguna de estas proteínas puede llevar a la proliferación celular, mientras que la acumulación de alguna de ellas puede detenerlo, manteniendo a la célula en estado quiescente. Los descubrimientos de dos de ellas, la proteína p53 y p21, podrían indicar como actúan estas cdk.

La proteína p53 es codificada por un gen supresor de tumores, y dado que presenta mutaciones en muchas células tumorales, parece ser que alteraciones en las funciones de la p53 es uno de los fenómenos más importantes en la génesis de algunos cánceres.

La proteína p21 es la más estudiada. Es capaz de inhibir la actividad de todos los complejos cdk-ciclina y se considera por ello un inhibidor universal de las cdk, impidiendo la proliferación de las células eucariotas. Esta proteína parece alterar directamente el ADN y tener una relación fisiológica importante con la p53. La p21 actúa regulando el tránsito de G1 a S y de G2 a mitosis. Presenta un doble mecanismo de acción: por una parte, forma complejos con determinadas cdk para inhibir su actividad y, por otra, inhibe directamente la síntesis de ADN.

De la relación entre p21 y p53 depende el mecanismo fisiológico o patológico de la célula. En tejidos normales la proteína p21 aumenta fisiológicamente en determinados estadios de diferenciación celular sin que intervenga la p53. En cambio, cuando se produce un daño en el ADN, parece necesaria la intervención de p53 para que los valores de p21 aumenten. Este hallazgo puede indicar que p53 comunica de algún modo a la p21 la necesidad de parar el crecimiento y proliferación de la célula.

Esta es una explicación muy simplificada de cómo los factores de crecimiento actúan sobre el ciclo celular modificando a un grupo determinado de proteínas, las cinasas, siendo estas quienes se encargan de iniciar una cascada de reacciones bioquímicas complejas, a veces de activación, otras de inhibición, hasta llegar al ADN y producirse una respuesta celular.

Proceso de cicatrización por factores de crecimiento

Desde el conocimiento de los factores de crecimiento, no se ha dejado de estudiar a cerca de su actuación en los procesos de cicatrización.

La siguiente tabla resume los factores que actúan en la cicatrización no patológica y su relación con las distintas células que intervienen en ella.

Figura 2.	
MOLÉCULA BIOACTIVA	ACTIVIDAD BIOLÓGICA
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (FCDP)	• Potente mitógeno para fibroblastos, células musculares lisas arteriales, condrocitos, células epiteliales y endoteliales • Efecto quimiotáctico potente para células hematopoyéticas, mesenquimales, musculares y fibroblastos • Estimula quimiotaxis y activación de los macrófagos • Activa el factor transformante del crecimiento para estimular macrófagos y neutrófilos • Síntesis de colágeno tipo I • Angiogénesis (por vía indirecta)
Factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV)	• Estimula proliferación de las células del endotelio macrovascular • Potente angiogénico • Induce síntesis de metaloproteínas que degradan el colágeno intersticial

Factor de crecimiento transformante beta (FCT β)	• Estimula quimiotaxis fibroblástica, proliferación y síntesis de colágeno • Inhibe la formación de osteoclastos y la reabsorción ósea • Disminución de cicatriz dérmica • Inhibidor del crecimiento de los fibroblastos, células epiteliales, endoteliales, neuronales, algunos tipos de células hematopoyéticas y queratinocitos • Antagonista de la actividad biológica del FCE, el FCDP y el FCFa • Favorece angiogénesis
Factor de crecimiento parecido a la insulina tipos I y II (FCI-I y FCI-II)	• Crecimiento de fibroblastos • Mitogénesis y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento • Mitogénico <i>in vitro</i> para algunas células mesodérmicas • Promueve síntesis de colágeno y prostaglandina E2 en fibroblastos • Estimula colágeno y síntesis de la matriz por células óseas regulando el metabolismo del cartílago articular.
Factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico (FCFa y FCFb)	FCFa: participa en la proliferación y diferenciación de osteoblastos e inhibición de osteoclastos • Favorece angiogénesis y migración celular • Mitógeno para queratinocitos derivados de piel, fibroblastos dérmicos y células endoteliales vasculares - FCFb: estimula el crecimiento de fibroblastos, mioblastos, osteoblastos, células neuronales, endoteliales, queratinocitos y condrocitos • Aumenta producción de fibronectina • Estimula angiogénesis, proliferación de células endoteliales y síntesis de colágeno • Síntesis de matriz. Epitelización y producción de FC de queratinocitos y retracción de heridas
Factor de crecimiento epidérmico (FCE)	• Función mitogénica (proliferación, diferenciación y migración) de células epidérmicas, epiteliales, fibroblastos, células embrionarias. Además, células nasales, gliales a partir de células mesenquimales • Quimiotáctica de fibroblastos y células epiteliales • Estimula re-epitelización • Incrementa angiogénesis • Influye en la síntesis y renovación de la matriz extracelular • Proapoptótico

Fase de inflamación: las células mediadoras son las plaquetas (PDGF, TGF-alfa, TGF-beta), monocitos (FGF, PDGF) y neutrófilos, quienes producen la hemostasia, la matriz provisional de fibrina, el reclutamiento celular, la fagocitosis y el desbridamiento.

Formación del tejido de granulación: En esta fase actúan los fibroblastos (PDGF, VEGF, TGF-beta), las células endoteliales, los macrófagos (PDGF). Se produce la fibroplastia y la angiogénesis.

Epitelización: Las células actuantes son los queratinocitos y macrófagos. Ambas secretan EGF, FGF, TGF-alfa. Se produce la migración de los queratinocitos. Uno o dos días después de la lesión se produce la proliferación desde los bordes de la herida por el efecto del factor de crecimiento epidérmico.

Remodelación: En esta última fase, los granulocitos, macrófagos y fibroblastos, secretan enzimas que degradan la matriz extracelular, así las metaloproteasas catabolizan el colágeno. Las fibras de colágeno se alinean en el sentido de las fuerzas tensionales a la que es sometido el tejido cicatricial, para poder alcanzar una máxima resistencia. Después de tres semanas la cicatriz sólo alcanza el 20% de su fuerza final. La máxima resistencia que alcanza una cicatriz es el 70% de la que tendría sin sufrir lesión.

Desde hace algunos años se están llevando a cabo numerosos estudios experimentales clínicos basándose en las propiedades pro-cicatriciales de los diferentes factores de crecimiento. Así por ejemplo se han utilizado el factor de crecimiento epidérmico para regeneración de nervios periféricos, el factor de crecimiento del endotelio vascular y el factor de crecimiento del fibroblasto para promover la regeneración de vasos sanguíneos colaterales capaces de suplir el déficit de perfusión secundaria a una isquemia y el factor de crecimiento epidérmico en el tratamiento de las úlceras crónicas, entre otros.

Inicialmente se utilizaron factores de crecimiento heterólogos obtenidos a partir de levaduras mediante ingeniería genética; actualmente se utilizan factores de crecimiento autólogos obtenidos de plasma rico en plaquetas.

Esta técnica se ha utilizado por vez primera en el campo de la implantología dental, observándose una mejor regeneración de sostén periodontal en los sitios tratados con dicho plasma. Los factores actuantes en este caso son los BMP (proteínas óseas morfogenéticas) que estimulan a las células mesenquimales para diferenciarlas en células osteoformadoras.

En el campo de la cirugía ortopédica también se ha promovido el uso de plasma rico en plaquetas para la regeneración de roturas tendinosas, ya que se disminuye a la mitad el tiempo de recuperación de estos pacientes.

El campo de la estética tampoco es ajeno y se están usando los factores de crecimiento (plasma rico en plaquetas) en el tratamiento de la paniculopatía edematofibroesclerótica y en la bioestimulación cutánea facial.

CONTROL DE CALIDAD

El tubo en el que se realiza generalmente el hemograma, contiene un anticoagulante (EDTA), que puede producir una agregación plaquetaria y, por tanto, el analizador ofrece un recuento falsamente disminuido. En este caso, se requiere repetir el hemograma en un tubo con otro tipo de anticoagulante, como el citrato sódico, en el que se obtiene un recuento plaquetario normal. Otra causa de trombocitopenia ficticia es la presencia de macrotrombocitos, los cuales no son detectados por el analizador como plaquetas, sino como leucocitos (generalmente como monocitos, elevando su porcentaje, al igual que los agregados plaquetarios). En ambos casos se recomienda la confirmación de estos agregados plaquetarios mediante microscopía óptica, donde también nos podemos encontrar plaquetas rodeando a los neutrófilos, lo que se llama satelitismo plaquetario, de significado clínico desconocido.

Pese a la gran cantidad de parámetros que van incorporando los contadores hematológicos actuales y que permiten un análisis cada vez más detallado de las células sanguíneas, algunos de los resultados que ofrecen deben ser revisados, bien porque pueden ser resultados erróneos (presencia de agregados plaquetarios, discrepancia entre CHCM/MCHC, etc.) o bien porque generen alarmas que requieran una observación morfológica (alarma por sospecha de presencia de blastos, granulocitos inmaduros, etc.).

Además, los analizadores pueden detectar en mayor o menor medida la presencia de anisocitosis, pero no son tan precisos respecto a otros signos como la poiquilocitosis. Es por todo esto por lo que aún sigue siendo imprescindible la observación del frotis de sangre periférica mediante microscopía óptica. Existen diversas técnicas de tinción de muestras de sangre para su observación microscópica, la más habitualmente empleada en la práctica hematológica diaria es la de May-Grünwald-Giemsa.

OTROS HEMOCOMPONENTES USADOS EN MEDICINA REGENERATIVA

SELLO DE FIBRINA

La capacidad selladora y catalizadoras de los adhesivos de fibrina impulsaron el descubrimiento de su mecanismo de acción.

La multiplicidad de funciones y la búsqueda de la mejor técnica de aplicación clínica de estos descubrimientos provocaron una rápida transición conceptual: adhesivos de fibrina, pegamentos de fibrina y Plasma Rico en Plaquetas.

Apropiado para el tratamiento de úlceras y escaras, o también quemados. Por ser un potente adhesivo se utiliza junto a implantes (piel, odontológicos) o como difusor de antibióticos.

Durante la reparación de la herida, el coagulo sufrirá una lisis y se absorberá completamente. Esto es una de sus principales ventajas pero el éxito del adhesivo dependerá de que esta fibrinólisis o degradación sea controlada.

Entre las grandes ventajas de este adhesivo encontramos que es un agente hemostático tópico, sella en minutos, no es tóxico, se reabsorbe y además promueve el crecimiento y la reparación del tejido donde se aplica (Tayapongsak y cols. 1994, Anitua 2000, Soffer y cols. 2003).

El hecho de que contribuya en la reparación de las heridas puede ser atribuido al factor XIII de la coagulación, que acelera dicho proceso.

LISADO PLAQUETARIO

Es el producto final luego de someter al PRP a bajas temperaturas (-20 / -85 °C) a intervalos de 2/5 hs o meses y descongelarlo a temperatura de 37° /40° C, consiguiendo una ruptura total y degradación de las plaquetas.

PLASMA GEL

El plasma gel funciona como relleno. Para prepararlo se toma una porción de plasma "pobre" y se le aplica termociclado, esto hace que de estado líquido se convierta en un gel que posteriormente se inyectará en los surcos o arrugas que tenga el paciente. Tiene una duración en el cuerpo de unos cuatro meses y su apariencia es completamente fresca y natural, Se aplica solo en zonas donde haya surcos de poca profundidad y cicatrices deprimidas.

El proceso se basa en la desnaturalización de las proteínas plasmáticas la cual se logran dándole calor entre 55° y 80° C, temperatura en que las proteínas se desnaturalizan pero mantienen sus enlaces peptídicos intactos, o sea que se mantiene la estructura proteica primaria.

El plasma se dispone en jeringas de 3 o 5 ml preferentemente de cono luer-lock, tapadas para luego llevarlas a un baño a 70-80°C entre 8 a 10 minutos, cuando sacamos las jeringas del baño las pasamos a enfriar, preferentemente con hielo durante 8 a 10 minutos. Cabe mencionar que la industria presenta instrumentación para tal fin, con fuente de calor seco.

PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO (PRFC)

Método para obtener un gel de fibrina rico en factores de crecimiento sin manipulación sanguínea, simple y económica.

Se deposita la sangre entera en tubos estériles con acelerador de coagulación, sin ningún tipo de aditivo y se centrifugan una sola vez a 1200 x g 3 minutos.

Este PRF tiene el 100% de las plaquetas presentes en el volumen de sangre centrifugada, fibronectina, fibrina (osteoconductora) y la totalidad de los leucocitos (acción antimicrobiana local). El tubo de fibrina rico en plaquetas tendrá un color amarillento y una consistencia de gel.

SUERO AUTÓLOGO CONDICIONADO

La interleuquina-1 es una citoquina producida por múltiples estirpes celulares, fundamentalmente macrófagos activados, que se produce como consecuencia de infecciones, lesiones o estrés. Esta citoquina es un mediador clave de la inflamación que ocasiona fiebre, neutrofilia, proteínas de fase aguda y degeneración de las estructuras músculo-esqueléticas. Por ello, la inyección intraarticular de su antagonista supone una disminución drástica del dolor y de la inflamación de la articulación afectada.

La técnica también se conoce como irap-Thérapie que utiliza el antagonista de la proteína del receptor interleukin-1 (IL-1Ra) a partir del suero sanguíneo, para conseguir los beneficios terapéuticos (Suero Autólogo Condicionado, SAC). Implica el aislamiento de proteínas antiinflamatorias y regenerativas de la sangre que serán inyectadas en la articulación. La IL-1 tiene un papel importante en el desarrollo de artrosis y degeneración del cartílago por su potente acción inflamatoria; por lo tanto, su antagonista (IL-1Ra), inhibe los efectos perjudiciales de la IL-1 y supone una terapia eficaz para la patología articular.

La obtención del producto, es sencilla aunque requiere un material específico. En primer lugar, extraemos una muestra de sangre del paciente mediante una jeringa especial que contiene en su interior microesferas de vidrio impregnadas en sulfato de cromo, también pueden usarse tubos y esferas que vienen para tal fin; esta sustancia estimula la liberación de proteínas antiinflamatorias, incluyendo IRAP, que se une al receptor de IL-1 y previene su interacción (bloqueando así el principal componente de la cascada inflamatoria). El proceso incluye además de la recolección de la sangre, su incubación (37 °C durante 24 horas +/- 5 horas) y centrifugado para separar el plasma con IRAP del resto de la sangre. Después de la centrifugación y separación del plasma, se procede a recogerlo en alícuotas divididas en jeringas de 5 ml y congelarlo hasta su empleo. Se recomienda hacer pasar el plasma por un filtro de 0,2 µm antes de su congelación para obtener un producto más homogéneo y sin microagregados.

El tratamiento consiste en la administración intraarticular de una dosis semanal (4 a 6 ml) durante tres/cuatro semanas ya que la respuesta al tratamiento es variable y en gran parte depende de la severidad de la lesión en el momento de la terapia.

UTILIDAD CLÍNICA

MEDICINA MÚSCULO-ESQUELÉTICA

Los factores de crecimiento inyectados sobre tejidos dañados fomentan a la regeneración del mismo. Por lo cual en los últimos años se comenzó a utilizar el plasma rico en plaquetas en distintos tejidos como tendones, ligamentos y articulación produciendo una mejoría en los dolores, movilidad y fuerza de las distintas estructuras.

Las principales patologías donde se utiliza son:

- Artrosis de rodillas y caderas.
- Tendinopatía del manguito rotador.
- Epicondilosis (codo de tenista – tendinopatía)
- Epitrocleosis (codo de golfista)
- Trocanteritis (tendinopatía de los glúteos)
- Lumbalgias de origen ligamentaria.
- Discopatías lumbares.
- Tendinopatía rotuliana.
- Tendinopatía del Aquiles.

Si bien estas son las principales y más frecuentes patologías se puede utilizar en cualquier tejido dañado.

Habitualmente se inyecta en las zonas de lesión bajo guía ecográfica o tomográfica, ya que la aplicación se debe realizar específicamente en las zonas lesionadas.

No existe consenso en cuanto a la cantidad de inyecciones a realizar ni el tiempo transcurrido entre cada aplicación, nosotros recomendamos basarnos en lo indicado por la Asociación Americana de Medicina Ortopédica (AAOM) que sugiere realizar 3 aplicaciones separadas por 4 a 6 semanas entre ellas.

- **Tendinopatías crónicas**

Una revisión sistemática y un meta-análisis publicado en 2016 de 18 estudios randomizados que evaluaron la efectividad del plasma rico en plaquetas autólogo para el tratamiento de diferentes tendinopatías demostró en 1066 pacientes una buena evidencia que el tratamiento con una inyección de plasma rico en plaquetas bajo guía ecográfica mejoraba los resultados en tendinopatías.

- **Artrosis de rodilla**

Existe evidencia en una revisión sistemática de la eficacia de la aplicación de PRP intra-articular mejora los síntomas de artrosis y la funcionalidad de la rodilla comparado con placebo y con ácido hialurónico luego de 12 meses de seguimiento.

Sin embargo, la evidencia todavía es limitada ya que muchos de los estudios tienen sesgos y existe una gran variabilidad entre los estudios en la forma de aplicación, preparación del PRP y cantidad de aplicaciones e intervalo entre ellas. Nosotros sugerimos que en manos de expertos la aplicación de plasma rico en plaquetas es una excelente terapia no convencional de la artrosis de rodilla.

- **Tendinopatía de glúteos (trocanteritis)**

Un trial de 80 pacientes sintomáticos con trocanteritis confirmada radiológicamente, que tenían síntomas por más de 4 meses fueron randomizados a glucocorticoides o plasma rico en plaquetas guiado bajo ecografía.

Se realizó seguimiento a las 2 y 6 semanas midiendo dolor y movilidad siendo similar en ambos grupos en esos momentos, sin embargo a las 12 semanas aquellos que habían recibido PRP tuvieron mejoría estadísticamente significativa en relación al grupo de corticoides en cuanto al dolor y la movilidad.

- **Codo de tenista (epicondilosis)**

Existe evidencia que el plasma rico en plaquetas es efectivo para el tratamiento de la epicondilosis, se realizó una revisión sistemática comparando PRP, sangre autólogo y corticoide demostrando mejoría con PRP y sangre autóloga.

- **Artrosis**

Si bien no existe aún evidencia científica fuerte recomendando la utilización de plasma rico en plaquetas en la artrosis, desde la experiencia clínica la utilización de PRP y factores de crecimiento mejora la sintomatología de la articulación y la movilidad de la misma. En los últimos años la utilización del plasma rico en plaquetas está en auge para todas las patologías de origen musculoesquelético, en la actualidad todos los deportistas de elite han sido tratados con este tipo de técnicas mejorando el dolor, la funcionalidad y la recuperación de este tipo de lesiones.

MEDICINA ESTÉTICA

El plasma rico en plaquetas, se utiliza con magníficos resultados en el fotoenvejecimiento cutáneo, en la flacidez tanto en rostro, como en cuello, escote e inclusive para atenuar la celulitis, estrías y mejorar cicatrices.

Gracias al aporte de los factores de crecimiento, el factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF-beta 1) en niveles altos y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Cuando se degranulan las plaquetas, se liberan factores de crecimiento que emiten señales químicas a las áreas circundantes, multiplicando los factores de crecimiento, y reactivando fibroblastos, haciendo mayor la liberación de colágeno y elastina.

Las principales funciones de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas son estimular la replicación celular (mitogénesis) de células madre capaces de curarse. También estimula la replicación celular de las células endoteliales. Esto provocará el brote de nuevos capilares en la herida (angiogénesis), una parte fundamental de toda curación de la herida. Además, el PDGF parece promover la migración de células capaces de curación perivascular a una herida y modular los efectos de otros factores de crecimiento.

A partir del momento que se liberan los factores de crecimiento en la zona envejecida, comienzan las etapas de remodelación y regeneración celular, iniciando así el rejuvenecimiento de la piel tratada. Todo tipo de piel puede ser tratada y siempre se obtiene mejoría notable en la calidad, los

factores de crecimiento actúan estimulando naturalmente al tejido y por lo tanto el resultado no es instantáneo, pero si aparecen cambios ya entre los 20 a 30 días y son duraderos, porque se aumenta la población celular total.

El mantenimiento homeostático del tejido epidérmico es el resultado de la actividad combinada de una pequeña población de células troncales multipotentes, de muy baja capacidad de proliferación y elevado potencial de diferenciación, y una extensa población de células progenitoras originadas a partir de las primeras, de menor potencial de diferenciación pero mayor capacidad de proliferación, que se diseminan a lo largo de toda la epidermis.

Los factores de crecimiento son esenciales para la regulación de los eventos celulares involucrados en la cicatrización de heridas al atraer células a la herida, estimular la proliferación e influir significativamente en la deposición de la matriz.

Los fibroblastos se encuentran entre las células activadas por el TGF-beta. Cuando se activa un fibroblasto, se someterá a la división celular y producirá colágeno. La deposición de colágeno es responsable de rellenar la piel y revertir los signos visibles del envejecimiento.

TGF-beta es extremadamente importante porque afecta a la mayoría de los aspectos de la reparación de heridas en tejidos, es decir, a la iniciación y terminación, y también promueve a acortar tiempos de cicatrización, por lo que previene queloides.

En medicina estética favorece la reepitelización, disminuye las molestias y mejora los resultados de los postpeeling fuertes. Aplicado tópicamente, puede colocarse durante o después de usar un mesoroller.

Puede aplicarse eficazmente con técnica de mesoterapia o de relleno, solo o combinado con otros fármacos que aporten principios activos para la regeneración celular. Entre otras aplicaciones de interés está el modelado facial, pues luego de varias aplicaciones, aumenta el volumen y mejora la apariencia de la piel.

Es un buen método para lograr un relleno natural de surcos y arrugas, así como para mejorar el aspecto avejentado de manos, cuello y escote.

MEDICINA CAPILAR

El PRP ha mostrado efectos beneficiosos notables sin ningún tipo de reacciones adversas importantes en el tratamiento de la alopecia androgenética. Los factores de crecimiento indujeron la proliferación de células de la papila dérmica. También, es utilizado en el tratamiento de la alopecia areata, donde los resultados son satisfactorios, igualmente para el deterioro folicular, donde por microinyecciones intradérmicas (mesoterapia) y con una aplicación de no más de 3 cc una vez al mes durante 3 meses se observa un marcado grosor, aumento del volumen, calidad, brillo y fuerza.

DERMATOLOGÍA, CIRUGÍA PLÁSTICA Y RECONSTRUCTIVA

Una de las aplicaciones en las que existe unanimidad general sobre las ventajas de aplicar el preparado de PRP es en aquellos casos en los que se busca su efecto como adhesivo biológico. Se ha utilizado para cohesionar injertos óseos o biomateriales particulados, como membrana biológica o en forma de spray para aumentar la adhesividad de colgajos cutáneos o mucosos al lecho receptor. Por sus efectos sobre los tejidos blandos, el PRP se ha usado en *cirugía plástica y dermatológica* para favorecer y modular la curación en los colgajos cutáneos repuestos, ofreciendo una mejor regeneración tisular, un mejor sellado y una mejor hemostasia de todos los procedimientos quirúrgicos que llevan implícito el levantamiento de un colgajo. Se ha utilizado en ritidectomías, mamoplastias, blefaroplastias y en otras cirugías de colgajo, así como tras el «laser resurfacing» y en quemaduras.

Los autores atribuyen al uso de PRP en los colgajos quirúrgicos ventajas como: una mejor curación de las heridas, con un resultante menor tiempo de recuperación para el paciente; la eliminación de espacios muertos; la hemostasia sobre el sangrado capilar; una disminución de la necesidad de usar drenajes; una menor necesidad de vendajes compresivos; un menor edema postoperatorio en las primeras 72 horas, que a su vez conduce a un menor dolor en el postoperatorio inmediato.

El PRP es también muy eficaz en el tratamiento de úlceras crónicas de piel y tejidos blandos, ya que estimula notablemente la curación y cierre de las heridas ulcerosas, a menudo difíciles de curar y de tórpida evolución, sobre todo en los pacientes diabéticos. Los resultados obtenidos evidencian los beneficios de los preparados plaquetarios en la reparación y aceleración de los procesos cicatrizales.

UROGINECOLOGÍA

IMPOTENCIA SEXUAL: mejora y recupera la potencia sexual, por la formación de nuevos vasos, estimulando el crecimiento de capilares y favoreciendo la recuperación. Se puede complementar con ondas de choque a baja intensidad y medicación.

SEXUALIDAD FEMENINA: Tratamiento de la dispareunia por sequedad vaginal (pre y post-menopausia, lactancia, anticonceptivos). Estimula el deseo sexual en la mujer. Mejora la continencia urinaria.

ODONTOLOGÍA

La gran popularización del PRP tuvo sus orígenes en los campos de la cirugía oral y la odontología por los efectos estimulantes de este preparado sobre los fibroblastos de la estructura periodontal y la mucosa oral, y sobre los osteoblastos del hueso alveolar. Estudios clínicos han evidenciado una mejora en la curación alveolar cuando se usa PRP, tanto a nivel de la regeneración ósea subyacente como del recubrimiento de partes blandas. La mayoría de las publicaciones en el campo de la implantología dental, en los que demuestra mejores resultados de regeneración ósea, osteointegración y ganancia de partes blandas cuando se usa el preparado de PRP de manera aislada y/o combinado con otras sustancias como los sustitutos óseos.

OFTALMOLOGÍA

Al tratarse de un producto autólogo, carece de toxicidad; es biocompatible, biodegradable y apenas tiene efectos adversos. Entre su amplia aplicación, se utiliza en el tratamiento para determinadas enfermedades oftálmicas, en las que las terapias empleadas en la actualidad presentan limitaciones.

La medicina regenerativa provee nuevas estrategias de tratamiento eficaces y seguras para pacientes con afecciones oftálmicas, tales como síndrome de ojo seco, úlceras corneales tórpidas, síndrome post-LASIK, como regenerador de la función lagrimal, en el tratamiento del glaucoma e, incluso, como bioadhesivo.

MEDICINA ANTIENTVEJECIMIENTO

Finalmente, la medicina regenerativa puede encaminarse al antienviejecimiento. Difícilmente la terapéutica convencional con fármacos químicos puede detener el proceso natural del envejecimiento. Sin embargo, la medicina regenerativa puede frenar o enlentecer los cambios físicos que se observan durante el envejecimiento del cuerpo humano. Después de todo, son las sustancias bioactivas de nuestro organismo y sus células las que dirigen nuestro desarrollo, mantienen y reparan nuestros cuerpos.

La medicina antienviejecimiento no es un solo procedimiento y no necesariamente está indicada únicamente para los ancianos, por lo que pueden establecerse programas en todas las edades, en especial en la vida adulta (más de 30 años de edad). Este programa incluye la disminución de fac-

tores estresantes y nocivos (noxas). Por ejemplo, sabemos actualmente que el estrés emocional es un factor importante que incrementa el riesgo de muerte prematura. Los factores emocionales provocan desgaste físico y mental (síndrome general de adaptación), la propensión a enfermedades de diverso tipo y, por consiguiente, envejecimiento acelerado.

Además de la regeneración de tejidos por terapia celular con células madre, el paradigma adicional al que se refiere la medicina antienvejecimiento implica reforzar el sistema inmunitario y las defensas antioxidantes. La importancia del sistema inmunitario está implicada en que éste es el responsable de:

1. La defensa contra las enfermedades causadas por virus, bacterias, parásitos y hongos.
2. El reconocimiento de las células propias del organismo.
3. La protección contra el cáncer.
4. Los mecanismos reparadores de errores en las divisiones celulares.

CÉLULAS MADRE

El término *célula madre* o *célula troncal* (*stem cell*) se utiliza para definir una célula indiferenciada con capacidad de autorregeneración que a su vez puede dar lugar a diferentes líneas de células especializadas. Es decir, son células con capacidad de división asimétrica: producen una réplica celular exacta de sí mismas y una célula con capacidad de realizar una función más especializada. Estas células se describieron inicialmente en el embrión y son el origen de todas las líneas celulares somáticas y germinales que conformarán el nuevo organismo (células madre embrionarias totipotenciales), pero desde el año 2001 se está describiendo células con características semejantes en diferentes tejidos del organismo adulto (células madre adultas).

Las células madre son capaces de dividirse y de renovarse por períodos largos, contrariamente a las células musculares, a las células sanguíneas o las neuronas las cuales normalmente no se dividen para dar células hijas, las células madre pueden replicarse casi en forma indefinida. Cuando las células se replican muchas veces se denomina “**proliferación**”. Una población pequeña de células madre que prolifera por muchos meses en el laboratorio puede producir millones de células. Si las células hijas continúan siendo no especializadas como la célula madre inicial, las células hijas también serán capaces de auto renovarse a largo plazo al igual que las células madre de la cual se originaron.

Las células madre embrionarias son células con las características descritas obtenidas de un blastocisto. Una vez aisladas de la masa celular interna del embrión en este estadio, pueden mantenerse en cultivo de forma indiferenciada porque se dividen indefinidamente, y constituyen una fuente de progenitores de células de las 3 capas embrionarias: endodermo, ectodermo y mesodermo (células pluripotenciales). Las células madre adultas se encuentran en tejidos órgano específicos después del nacimiento.

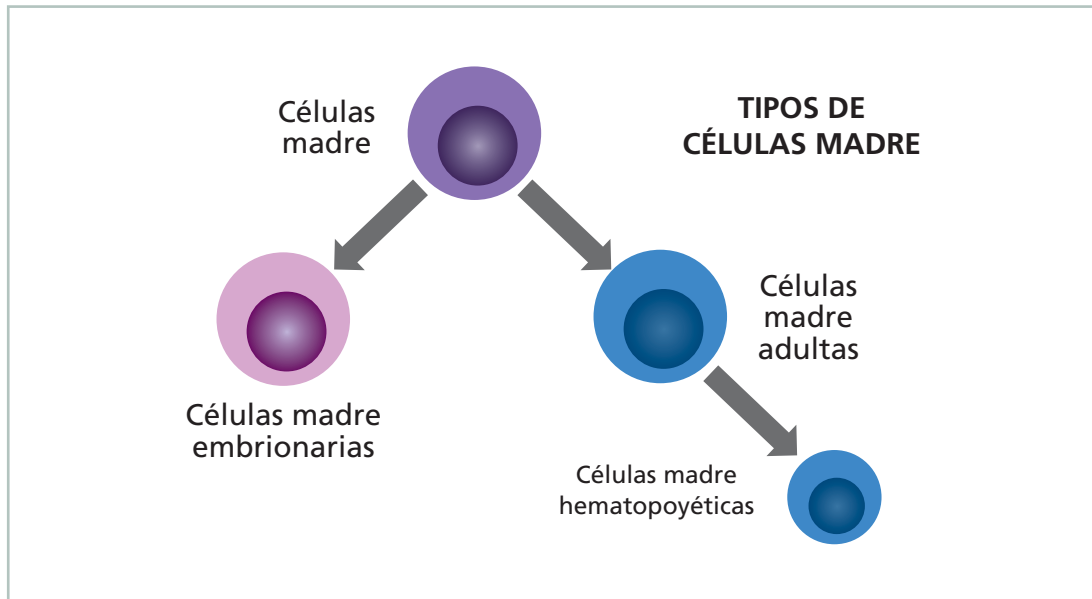
Poder trasplantar células mesenquimales autólogas, confiere grandes ventajas terapéuticas, porque se evitan los problemas del rechazo inmunológico y además los sitios de donde se extraen estas células, son generalmente un tejido accesible y sin riesgos y puede convertirse en un proveedor ilimitado de células para el tratamiento de defectos o injurias de tejidos autólogos. El estroma mesenquimal además provee una población de células renovables, que crecen rápidamente en cultivo y que es posible diferenciar, utilizando un protocolo simple.

El uso de células autólogas (del mismo sujeto) o alogénicas (de la misma especie) obtenidas de sujetos adultos supone un camino más sencillo y seguro para la terapia celular. Por ello hay que señalar que, en el momento actual del conocimiento, el uso de células madre de origen embrionario está muy alejado de la clínica humana, por lo que la única fuente celular en la medicina regenerativa actual son los tejidos del propio ser humano adulto.

Investigaciones actuales ofrecen más evidencia de que las células madre adultas tienen capacidad pluripotencial en respuesta a un estrés tisular. Existen numerosos trabajos científicos que demuestran que la colonización por parte de células madre circulantes en sangre periférica de órganos sometidos a daño tisular tiene la capacidad de regenerar o reparar el tejido dañado. Sin embargo, los resultados deben ser cuidadosamente analizados aunque existen evidencias claras de dichos procesos. El proceso de transdiferenciación requiere que una célula ponga en marcha mecanismos de desdiferenciación y rediferenciación que darán origen a otro tipo celular.

En los últimos años ha surgido un nuevo concepto y es el de la fusión celular. Este fenómeno fue demostrado recientemente en experimentos realizados con cultivo de células procedentes de la médula ósea con células del corazón, del hígado o nerviosas. La fusión entre estas células provoca un aporte de material genético nuevo que podría permitir la sustitución de las células que se están degenerando por otras nuevas.

Actualmente hay 4 fuentes de células madre de uso clínico: la médula ósea (cresta ilíaca), la sangre periférica, el cordón umbilical, y el tejido adiposo.

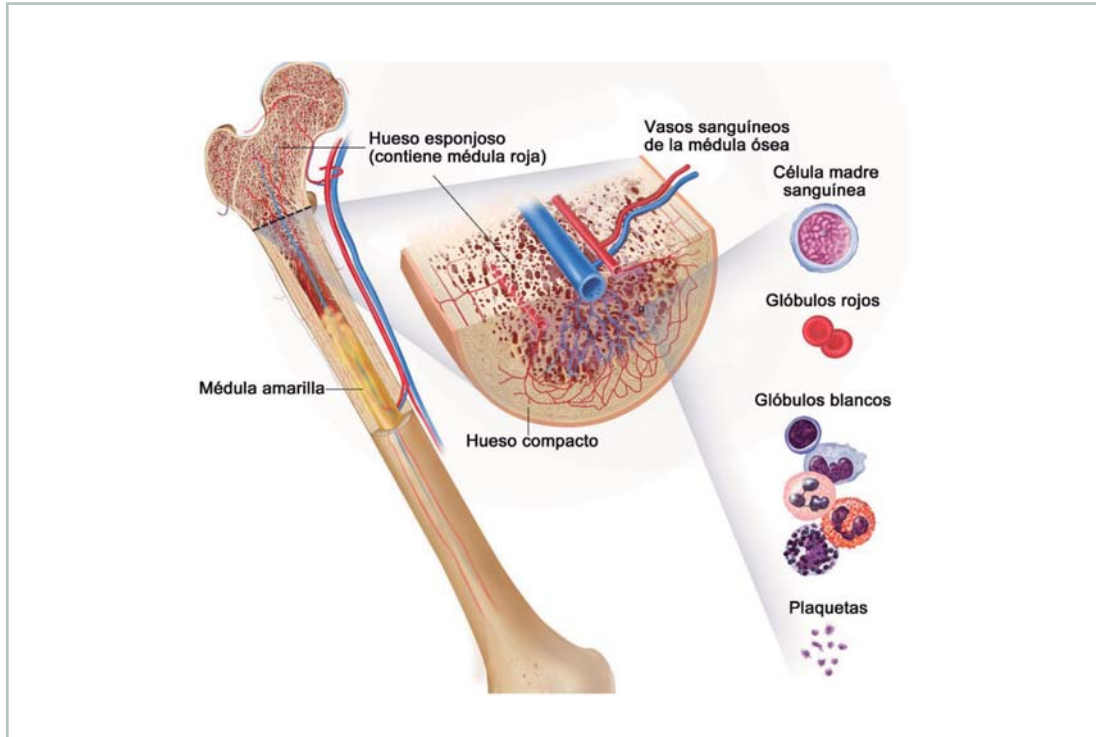


CRESTA ILÍACA

El aspirado de médula ósea autóloga en injertos óseos como medio de aporte de una fuente de células osteogénicas, progenitoras de la cresta ilíaca y su transferencia al foco quirúrgico con o sin material de injerto.

Parece que la posibilidad de curar con células está anunciando una nueva era terapéutica. Las fuentes celulares del ser humano adulto están progresando vertiginosamente, como queriendo señalar que la clave de la curación está en el propio organismo.

Sin embargo, los logros alcanzados son aún muy escasos y es absolutamente necesario profundizar en la investigación sobre las bases biológicas de la comunicación celular para poder trabajar eficazmente con ellas.

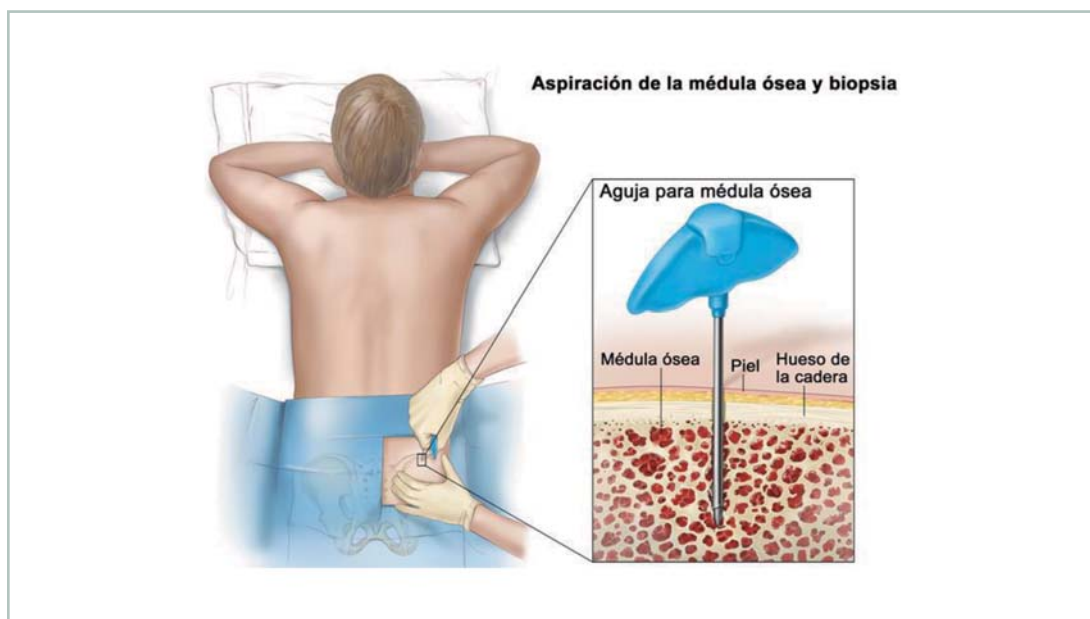


SANGRE PERIFÉRICA

Los factores de crecimiento hematopoyéticos permiten una liberación transitoria de células progenitoras en sangre, teniendo un número suficiente para poder ser recolectado por técnicas de aféresis.

Los pacientes son sometidos a dosis subcutánea de factores estimulantes de colonias, la droga puede ser (G-CSF) Neupogen® - Filgastrim®, con una dosis: 12 µg/Kg/día dividida en dos aplicaciones, puede aumentarse la dosis a bajos respondedores, con una frecuencia de 5 días consecutivos.

Los efectos adversos que pueden presentarse son: mialgias, dolor óseo, febrículas, cuyos tratamientos se cubren con acetaminofeno a dosis de 500 a 1500 Mg/Día. También se pueden observar disminución de las plaquetas de la Hb y otros trastornos hematológicos como leucocitosis - linfocitosis - linfopenia



La respuesta y control de calidad puede ser medida por el recuento de las células CD34+ en sangre periférica al cuarto día, (el aumento en la concentración de las células CD34+ en sangre periférica comienza a partir del tercer día de la administración del G-CSF y alcanza su pico entre el 5 y 6 día de movilización).

Los pacientes para este protocolo, deben tener los siguientes parámetros hematimétricos: hemoglobina 11 g/dL o superior, recuento plaquetario $150 \times 10^9/L$ antes de comenzar el tratamiento de movilización. Si no se consigue la celularidad necesaria con un solo proceso de aféresis, los requisitos para las donaciones subsiguientes deben ser: hemoglobina 10 g/L y recuento plaquetario $70 \times 10^9/L$. La edad no es una limitante.

CORDÓN UMBILICAL

La sangre del cordón umbilical es una fuente rica en células madre, que tienen gran capacidad para multiplicarse y reproducir las condiciones originales de los diferentes tejidos y órganos en

caso de lesión o enfermedad. En el momento del parto pueden ser recogidas y almacenadas con facilidad, a través de un proceso que resulta seguro e indoloro para la madre y para el bebé.

Después de que una madre cumpla con todos los requisitos del donante y dé a luz a su bebé de manera segura, se recolecta la sangre del cordón umbilical en una bolsa de extracción de sangre del cordón y es enviada a un laboratorio. La sangre del cordón umbilical se procesa dentro de las 48 horas utilizando métodos que permiten su conservación y calidad hasta el momento de su uso.

TEJIDO ADIPOSO

El tejido adiposo representa una fuente alternativa de células madre disponible de forma rutinaria en grandes cantidades (litros) a través de liposucción. Los depósitos subcutáneos de tejido adiposo son accesibles y abundantes por lo que suponen una reserva potencial de células madre adultas en cada individuo.

En el tejido adiposo se encuentra una población de células madre mesenquimales denominadas células madre derivadas del tejido adiposo (ASC del inglés "Adipose-derived stem cells") (Gimble et al., 2007). Como células madre mesenquimales, presentan las características propuestas por el Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for Cellular Therapy (Dominici et al., 2006):

- I. Las MSC deben adherirse al material plástico mientras se mantengan en condiciones de cultivo estándar.
- II. Las MSC deben presentar la habilidad de diferenciarse a los linajes osteogénico, adipogénico y condrogénico.
- III. Las MSC deben expresar los siguientes marcadores de superficie: CD105, CD73 Y CD90 y no expresar: CD45, CD34, CD14 o CD11b, CD79 o CD19, ni moléculas de superficie HLA II (del inglés "*Human leukocyte antigen*").

Además, como células mesenquimales, las ASC son células no inmunogénicas debido a que no expresan moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad tipo II (CMHII) ni moléculas co-estimuladoras CD40, CD80 y CD86, aunque sí expresan moléculas del sistema mayor de histocompatibilidad tipo I (CMHI) (Chamberlain et al., 2007).

Muchos grupos de investigación, trabajando de forma independiente, han demostrado que las células madre derivadas del tejido adiposo consiguen diferenciarse *in vitro* en múltiples linajes,

entre los cuales encontramos adipocitos, condrocitos, hepatocitos y osteoblastos, además de células endoteliales, epiteliales, hematopoyéticas, neuronales y miogénicas.

Tras el correspondiente período de esterilización, una vez en el laboratorio de cultivos celulares, las muestras de tejido adiposo fueron procesadas para la obtención de ADMSCs.

CONCLUSIONES

Las terapias biológicas representan actualmente un área de investigación y desarrollo constante en Medicina, con un presente lleno de aplicaciones y con un futuro alentador existen distintos centros e investigadores trabajando en el campo de las terapias biológicas. Son imprescindibles, independientemente de la época de crisis o de bonanza, porque con su esfuerzo y con el apoyo de las instituciones vamos a ir descubriendo los beneficios de nuevas terapias y desarrollando aplicaciones con amplia repercusión social.

El posicionamiento en cuanto al uso de una técnica terapéutica viene determinado por el grado de evidencia científica de sus beneficios, es decir, hay que partir de la información, de los artículos que se publican, y valorar los posibles beneficios, teniendo en cuenta que los riesgos han de ser mínimos.

Debemos estar a favor de la investigación, buscando siempre el beneficio para el paciente.

Por lo tanto habrá que fundamentar el uso de una nueva técnica en la literatura publicada y en los beneficios, desarrollando proyectos de investigación y minimizando costos para que sea viable, para avanzar.

Los pacientes frecuentemente acuden con dudas que surgen al aparecer en prensa o en redes sociales noticias relacionadas con terapias biológicas, nuestro deber es conocer las distintas posibilidades terapéuticas, buscar y analizar los artículos de mayor nivel de evidencia científica, y utilizar los tratamientos que mayor beneficio pueden aportar.

La legislación cobra un papel fundamental en este sentido. La posibilidad de establecer una Ley que considere el plasma rico en factores de crecimiento plaquetarios como un medicamento especial, debe ayudar a la estandarización regularización de su uso y a poder comparar distintos estudios.

En los próximos años, las líneas de investigación que alcancen mayor desarrollo serán aquellas donde las terapias combinadas tengan protagonismo, desde la reparación de los tejidos a su regeneración. El uso de señales biológicas como los factores de crecimiento plaquetarios, junto con el cultivo de distintas líneas celulares producirán avances con gran repercusión en la calidad de vida de nuestros pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Lana J, Purita J, Paulus C, et al.
Contributions for classification of platelet rich plasma - Proposal of a new classification: MARSPILL.
Regenerative Medicine 2017; Jul; 12(5):565-574.
- 2- Pedro A. Martínez-Carpio, Miguel A.
Navarro Moreno: Factores de crecimiento, lesión celular, Proteincinasas dependiente de ciclinas y sus inhibidores: su relevancia en la patología molecular del cáncer humano.
Medicina Clínica (Barc.) 2003; 120(7): 265-71.
- 3- Rochelle M. Hanley, Alton L. Steiner. :
El sistema de segundo mensajero para hormonas peptídicas.
Hospital Practice 1990; 1 (5): 9-22.
- 4- García Ureña Miguel Ángel, Vega Ruiz Vicente.
Manual electrónico de patología quirúrgica: fundamentos.
Heridas, biología clínica tratamiento.
- 5- Lázaro Ochaita, Longo Imedio Isabel.
Tratamiento de las úlceras cutáneas crónicas.
Piel 2001; 16 (4):213-220.
- 6- Prats P, Castañeda L, Falcón V, Ortega R.
Efecto del factor de crecimiento sobre la regeneración del nervio ciático transectado en ratas.
Biotecnología aplicada. 1998, 15:237-241.
- 7- Peter R. Vale, Douglas W. Losordo, James F. Symes, Jeffrey M. Isner.
Factores de crecimiento para la angiogénesis terapéutica en las enfermedades cardiovasculares.
Revista española de cardiología 2001. Vol. 54, N° 10 pags. 1210-1224.
- 8- Jan Lindhe.
Factores de crecimiento en la regeneración periodontal.
Periodontología clínica e implantología odontológica. Pags. 610-611. Ed. Médica Panamericana.
- 9- Bonn D.
The application of cell biology to broken bones.
The Lancet, 1999; 353:650-653.
- 10- Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre
(13ª Edición en español)
- 11- Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components (6th edition).
Foreword Founded in 1949, the Council of Europe is the oldest and largest of all European.

- 12- **The Effectiveness of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Tendinopathy.**
Fitzpatrick J, Bulsara M, Zheng MH,
Am J Sports Med. 2017; 45(1):226.
- 14 **Meheux CJ, McCulloch PC, Lintner DM, Varner KE, Harris JD.**
Efficacy of Intra-articular Platelet-Rich Plasma Injections in Knee Osteoarthritis: A Systematic Review.
Arthroscopy 2016; Mar;32 (3):495-505.
- 15 **Fitzpatrick J, Bulsara MK, O'Donnell J, McCrory PR, Zheng MH**
The Effectiveness of Platelet-Rich Plasma Injections in Gluteal Tendinopathy: A Randomized, Double-Blind Controlled Trial Comparing a Single Platelet-Rich Plasma Injection With a Single Corticosteroid Injection.
Am J Sports Med 2018; 46(4):933. Epub 2018 Jan 2.
- 16 **Arirachakaran A, Sukthuyat A, Sisayanarane T, et al.**
Platelet-rich plasma versus autologous blood versus steroid injection in lateral epicondylitis: systematic review and network meta-analysis.
J Orthop Traumatol 2016; 17:101.
- 17 **Sampson S, Gerhardt M, B. M.**
Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review.
Curr Rev Musculoskelet Med 2008;(3-4):165-174.
- 18 **Anitua E, Sanchez M.**
Un nuevo enfoque biológico de la cirugía ortopédica y la medicina del deporte.
Teamwork media española S.L. 1ra ed. Vitoria-España. Setiembre 2012.
- 19 **G. Bettega and E. Schir,**
"Contribution of platelet concentrate to oral and maxillo-facial surgery,"
Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale 2012; vol. 113, no. 4, pp. 205–211.
- 20 **Rodríguez J, Palomar M y Torres J.**
Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética.
Rev Esp Cir Oral Maxilofac 2012; 34(1): 8-17.
- 21 **A.Wang-Saegusa, R. Cugat, O. Ares, R. Seijas, X. Cusco, and M.Garcia-Balletbo,**
"Infiltration of plasma rich in growth factors for osteoarthritis of the knee short-term effects on function and quality of life,"
Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery 2011, vol.131, no. 3, pp. 311–317.
- 22 **Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Krol W, Wielkoszynski T.**
Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study.
J Bone Joint Surg Br. 2007;89: 417–20.
- 23 **Foster, T. E., Puskas, B. L., Mandelbaum, B. R., Gerhardt, M. B., & Rodeo, S. A.**
Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications.
The American Journal of Sports Medicine 2009; 2259-2272.

- 24 **Gruber R, Varga F, Fisher MB, Watzek G.**
Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet derived growth factor, microparticles and membranes.
Clin Oral impl Res 2002; 13:529-35.
- 25 **Choi BH, Im CJ, Huh JY, Suh JJ, Lee SH.**
Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in autogenous bone graft.
Int J Oral Maxillofac Surg 2004; 33:56-9.
- 26 **Graziani F, Ivanovski S, Cei S, et al.**
The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts.
Clin Oral Implants Res 2006; 17:12-9.
- 27 **Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, Cenacchi A, Del Vento et al.**
Platelet derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cell.
Biomaterials 2003; 24:3095-100.
- 28 **Ranly DM, McMillan J, Keller T, Lohmann CH, Meunch T, Cochran L, et al.**
Platelet derived growth factor inhibits demineralised bone Matrix-induced intramuscular cartilage and bone formation. A study of immunocompromised Mice.
J Bone Joint Surg Am 2005; 87A:2052-64.
- 29 **Simpson AHR, Mills I, Noble B.**
The role of growth factors and related agents in accelerating fracture healing.
J Bone Joint Surg Br 2006; Jun; 88(6):701-5.
- 30 **Gasparini G. Avaliação da ativação plaquetária no plasma rico em plaquetas após dois protocolos de obtenção em humanos. (dissertation)**
Uberlândia (MG): Dentistry School/Federal University of Uberlândia 2005.
- 31 **Eppley BL, Woodell JE, Higgins J.**
Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing.
Plast Reconstr Surg 2004; 114:1502-08.
- 32 **Bick RL, Murano G:**
Physiology of hemostasis.
Clin Lab Med, 1994; 24:677-707.
- 33 **Wu K, Thiagarajan P:**
Role of endothelium in thrombosis and hemostasis.
Ann Rev Med 1966; 47:315.
- 34 **Lijnen HR, Collen D:**
Endothelium in hemostasis and thrombosis.
Prog Cardiovasc Dis 1997; 39:343-350.

- 35 **Packham MA:**
Roles of platelets in thrombosis and hemostasis.
Can J Physiol Pharmacol 1994;72: 278-284.
- 36 **Cruz MA, et al:**
Interaction of the von Willebrand factor (vWF) with collagen: localization of the primary collagen-binding sites by analysis of recombinant vWF domain polypeptides.
J Biol Chem 1995; 270:108-22.
- 37 **Harker LA, et al:**
Antithrombotic strategies targeting thrombin activities, thrombin receptors, and thrombin generation.
Thromb Haemostas 199; 778:736-41.

NOTAS