

Concentrados plaquetarios y usos en Oftalmología

**Dra. Nadia Barría¹, Dr. Fernando Haro², Dra. Elizabeth Henríquez³,
Dr. Marcelo Unda⁴**

Resumen

Un concentrado plaquetario (CP) es un extracto de sangre obtenido después de varios procesos que generalmente involucran la centrifugación para lograr separar los componentes de la sangre, descartar los que no sirven y rescatar los componentes que pueden ser útiles para fines terapéuticos como son la fibrina, leucocitos y factores de crecimiento. Dentro de los beneficios de los CP, es que corresponde a un material autólogo, por lo que no presenta riesgo de transmisión de enfermedades ni rechazo por el huésped. Pero el objetivo principal de su utilización es acelerar procesos biológicos de reparación mediante la estimulación celular con factores de crecimiento, que se traduce en la disminución considerable de tiempo de cicatrización, así como la modulación de los procesos inflamatorios y dolor postoperatorio. Debido al rápido avance y desarrollo de variadas técnicas para obtener CP, recientemente se los ha dividido en dos grandes familias: Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y Fibrina Rica en Plaquetas (PRF). Existe poca evidencia en cuanto al uso de los CP en Oftalmología. Ha sido utilizado el PRP como E-PRP (Eye Platelet Rich Plasma) que proporciona una mayor concentración de factores de crecimiento esenciales y moléculas de adhesión celular mediante la concentración de plaquetas en un pequeño volumen de sangre, en reemplazo del suero autólogo para mejorar el proceso fisiológico en el sitio de la

¹Residente Oftalmología. Hospital Barros Luco T.

²Implantólogo BMF. Hospital San Martín de Quillota

³Residente Oftalmología. Hospital Barros Luco T.

⁴Médico Oftalmólogo. Hospital Barros Luco T.

lesión/cirugía como tratamientos de úlceras latentes (defectos epiteliales de la córnea), síndrome de ojo seco moderado y severo (incluido síndrome de superficie ocular post Laser In Situ Keratomileusis (LASIK)) y reconstrucción de superficie después de perforación corneal. Su utilización puede ser mediante gotas o gel. E-PRP es una herramienta terapéutica fiable y eficaz para mejorar la cicatrización de las heridas oculares epiteliales.

Palabras clave: *Concentrados plaquetarios, factores de crecimiento, leucocitos, plasma rica en plaquetas (PRP), plasma rica en plaquetas y ojo (E-PRP), fibrina rica en plaquetas (PRF).*

Summary

A platelet concentrate (PC) is an extract of blood obtained after several processes generally involve centrifugation to achieve separating blood components, discarding those who serve and rescue components that may be useful for therapeutic purposes such as fibrin, leukocytes and growth factors. Among the benefits of the CP, it is corresponding to an autologous material, so no risk of disease transmission and rejection by the host. But the main goal is to accelerate use biological processes of repair cell stimulation by growth factors, resulting in the considerable decrease in healing time, and the modulation of inflammatory processes and postoperative pain. Due to the rapid progress and development of various techniques for CP, recently they have been divided into two large families: platelet rich plasma (PRP) and Platelet rich (PRF) Fibrin. There is little evidence regarding the use of CM in ophthalmology. It has been used the PRP as E-PRP (Eye Platelet Rich Plasma) that provides a higher concentration of essential growth factors and cell adhesion molecules through the platelet concentration in a small volume of blood, replacing autologous serum to improve physiological at the site of the injury / surgery and treatment of latent ulcers (epithelial defects of the cornea), moderate and severe dry eye syndrome, ocular surface after Laser in Situ Keratomileusis (LASIK) and surface reconstruction syndrome process after drilling corneal. Its use can be by drops or gel. E-PRP is a reliable and effective way to improve healing of epithelial eye injury therapeutic tool.

Keywords: *Blood platelet, growth factors, leukocytes, platelet-rich plasma (PRP), eye platelet rich plasma (E-PRP), platelet-rich fibrin (PRF).*

Introducción

Podemos definir los CP para uso quirúrgico como productos autógenos preparados por medio de la centrifugación de una muestra de sangre del paciente. El objetivo de este proceso es recoger y reunir los componentes más activos de la muestra de sangre como las plaquetas (ricas en factores de crecimiento), fibrina y leucocitos y de prepararlos de una forma clínicamente útil, siendo estas soluciones o geles.(1). Estos productos derivados de la sangre que actúan de forma natural en sinergia han demostrado su capacidad para mejorar la curación y estimular la regeneración de

diferentes tejidos, y el concepto de CP para uso quirúrgico es multiplicar este efecto de coagulación/regeneración en un sitio quirúrgico o herida (2). Debido al rápido avance y desarrollo de variadas técnicas para obtener CP, surgió un problema de nomenclatura. Existían varios nombres para lo que la mayoría de las veces era el mismo producto. Ehrenfest y cols. el año 2014 actualizó esta propuesta tomando en mayor consideración la aplicación clínica de estos concentrados. Es así como se subdividen entonces los concentrados en dos grandes familias; PRP y PRF. La familia de PRP agrupa todos los concentrados plaquetarios donde se obtiene un gel de fibrina de alta densidad debido al proceso de activación artificial que desencadena su polimerización. Y una segunda generación de CP, el PRF siendo muy distinto a nivel microscópico y a nivel clínico, logrando diferenciarse del PRP en un gel de baja densidad (3). El término E-PRP (Eye Platelet Rich Plasma) viene a corresponder a la utilización de este CP en la oftalmología como evolución al suero autólogo. Este último se ha utilizado ampliamente en oftalmología para la cicatrización epitelial de la herida de la córnea en estas dos últimas décadas. Los factores de crecimiento y moléculas de adhesión celular tienen un papel importante en la cicatrización de heridas y el mejoramiento del proceso fisiológico en el sitio de la lesión/cirugía por medio de solución inyectable (gotas para los ojos) o gel. E-PRP ha sido utilizado más recientemente, y ha logrado resultados satisfactorios en el tratamiento de las úlceras latentes (defectos epiteliales de la córnea), síndrome de ojo seco moderado o severo, Síndrome superficie ocular post LASIK, y para reconstrucción de la superficie después de la perforación corneal asociada con el trasplante de membrana amniótica (2).

Evolución de los Concentrados Plaquetarios

En cirugía es fundamental conseguir una buena hemostasia y un buen sellado de los tejidos, y es así entonces como uno de los elementos más importantes es la coagulación. Y siendo el fibrinógeno uno de los elementos más importantes de este proceso, desde hace bastante tiempo se pensó en utilizar sus propiedades con fines hemostáticos. Con el desarrollo de las técnicas de separación de proteínas, para obtener fibrina pura, Tidrick y Warner (1944) y Cronkite y cols. el mismo año, usaron plasma sanguíneo y soluciones de fibrina respectivamente para fijar los injertos de piel en los soldados con graves quemaduras de la Segunda Guerra Mundial, pero el efecto adhesivo fue pobre, presumiblemente por la baja concentración de fibrinógeno (4). Los prometedores resultados obtenidos condujeron al desarrollo de un adhesivo de fibrina, que data de 1970 (Matras y cols.), correspondiente a un concentrado de proteínas plasmáticas con dos componentes: una solución de fibrinógeno, con factores de crecimiento de las plaquetas y una solución de trombina, para acelerar el curso de curación de las heridas microvasculares (5). En 1990 surge otra línea de investigación paralela al adhesivo de fibrina, basada en la concentración de plaquetas en el plasma (PRP). La hipótesis era que los factores de crecimiento que se encuentran en las plaquetas podían potenciar la reparación tisular a través de mecanismos que controlan el reclutamiento, la migración y la diferenciación celular en el lecho receptor. En 1997, Whitman y cols. comienzan a hablar del gel de plaquetas como la modificación

autóloga del adhesivo de fibrina que se podía obtener de una pre-donación del mismo paciente a través del centrifugado de la sangre (6). En otro frente Anitua y cols. proponen el Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF), preparado mediante un proceso de centrifugación en un solo paso (Anitua, 2001; Anitua y col, 2007). E-PRP es un híbrido de ambos PRP y PRGF que se puede preparar como un gel o como una solución tópica (2). En Francia, J. Choukroun el año 2006, introduce el PRF. Es un nuevo método para obtener un gel de fibrina rico en factores de crecimiento sin extremada manipulación sanguínea, simple y de bajo costo. Este PRF tiene el 100% de las plaquetas presentes en el volumen de sangre centrifugada, fibronectina, fibrina y la totalidad de los leucocitos (acción antimicrobiana local) (7).

Fundamentos biológicos de reparación tisular

Durante todo el proceso de reparación de la zona afectada el tejido lesionado puede evolucionar de dos formas: regenerándose o cicatrizando. Se entiende por cicatrización la restauración de un tejido, con células de distinta morfología a las originales y en consecuencia de distinta función. En este caso el tejido afectado normalmente ve limitada su función normal por la formación de tejido fibrótico (cicatriz). La regeneración celular sin embargo, es un mecanismo de resolución de la lesión de un tejido donde las células a reparar son sustituidas por células similares, con propiedades análogas a las anteriores, no alterándose ni la arquitectura ni la función del tejido original. Las plaquetas y sus factores de crecimiento, poseen propiedades moduladoras y estimuladoras de la proliferación de las células derivadas de stem cell (fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales, células epiteliales, adipoblastos, miocitos, y condrocitos, principalmente). La activación plaquetaria en respuesta al daño tisular y vascular provoca la formación de un tapón plaquetario y un coágulo hemático cuyas funciones son la consecución de la hemostasia, y la secreción de proteínas biológicamente activas involucradas en el proceso de reparación tisular. Las plaquetas empiezan a secretar activamente estas proteínas en los 10 minutos siguientes a la formación del coágulo, completando la secreción de más del 95% de los factores de crecimiento en el plazo de 1 hora. Tras esto, las plaquetas sintetizan y secretan proteínas adicionales mientras se mantienen vivas (entre 5 y 10 días) (8). Tabla 1.

Tabla 1. Proteínas contenidas en los gránulos plaquetarios (9)

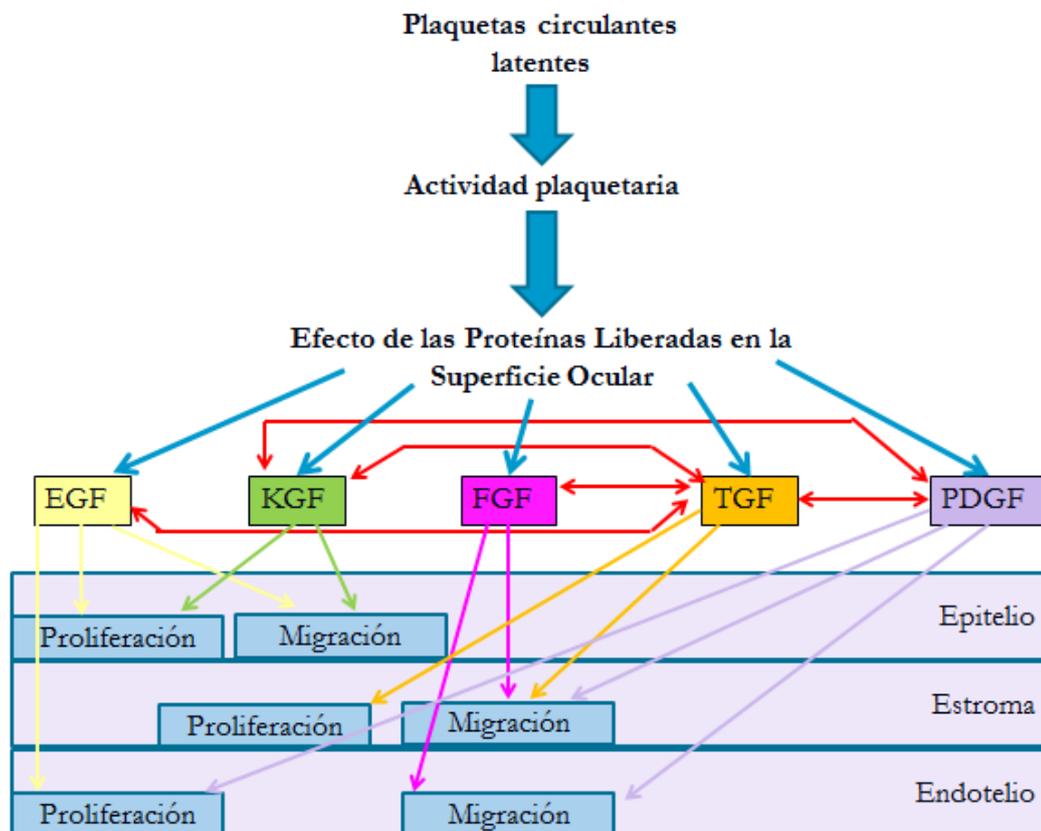
Gránulos densos	Gránulos alfa
Serotonina	Albúmina
Histamina	Fibrinógeno
Calcio	Fibronectina
Magnesio	Vitronectina
Difosfato de adenosina	Calcitonina
Trifosfato de adenosina	Inmunoglobulinas de (IgG, IgA, IgM)
	Vascular Endotelial Growth Factor (VEGF)
	Factor de crecimiento transformante beta (TGF- β)
	Factor de crecimiento epitelial (EGF)
	Factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF)
	Factor de crecimiento nervioso (NGF)
	Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)
	Otros más de 300 factores de crecimiento

Hay 3 etapas distintas pero solapadas en el proceso de reparación: la inflamatoria, la proliferativa y la de remodelación. La inflamatoria es la respuesta inicial a la lesión tisular, el objetivo inicial es proporcionar una rápida hemostasia y comenzar la cascada de reacciones que lleven a la regeneración del tejido. La sangre sale de los vasos lesionados, se forma un hematoma llenando el espacio tisular con plaquetas. Los factores de crecimiento y las citoquinas se liberan principalmente por las plaquetas, pero también por otras células, dando lugar a la migración, proliferación y diferenciación celular, y a la síntesis de la matriz extracelular. La red de fibrina del hematoma funciona como una matriz provisional para mantener un andamiaje del espacio regenerativo y permitir la migración y proliferación celular. La fase de proliferación, es la fase de cicatrización propiamente dicha. Figura 1. El tejido necrótico es eliminado y reemplazado por tejido vivo, que es el específico de cada entorno tisular. Las stem cells llevan a cabo la diferenciación a varios linajes de células en función de los requerimientos del tipo de tejido a regenerar. La fase final de remodelación, se caracteriza por la reorganización y adaptación del nuevo tejido generado para parecerse lo máximo al tejido original. Los cambios producidos incluyen una reducción de la densidad y vascularidad celular, la eliminación del exceso de matriz reparada y la orientación de las fibras de colágeno de la matriz reparada hacia las líneas de fuerza de máxima tensión (8).

- 1.- Fase inicial de etapa proliferativa en la superficie ocular. Las plaquetas circulantes son de superficie lisa. Cuando se activan, su superficie se transforma

en múltiples pseudópodos y libera los siguientes factores de crecimiento, entre otros: EGF = factor de crecimiento epitelial; KGF = Factor de crecimiento de queratinocitos; FGF = factor de crecimiento fibroblástico; TGF = factor de crecimiento transformante; PDGF = factor de crecimiento derivado de las plaquetas. Cada factor puede influir en la proliferación y/o migración en las capas de la córnea. Las flechas rojas indican la interacción que se producen entre los factores de crecimiento. Jarka E.S. (2015)(9). (Ver Figura 1)

Figura 1.- Fase inicial de etapa proliferativa en la superficie ocular.

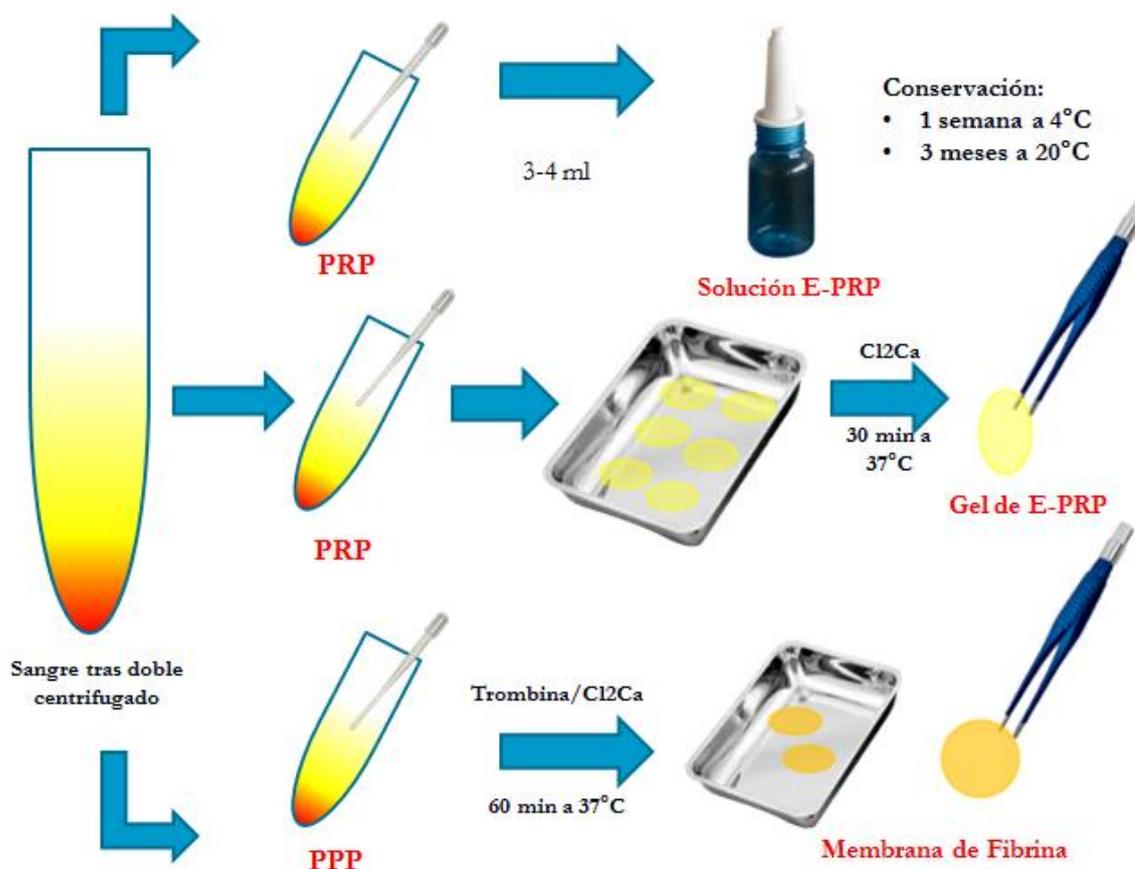


2.- Obtención de E-PRP

Se recoge sangre en un tubo de 10ml con citrato de sodio al 3.8% y luego se procesa en 2 pasos. La primera centrifugación es a 2400 RPM por 10 minutos y se utiliza para separar la sangre en 3 capas siguiendo un gradiente en función de su peso: células rojas de la sangre en la parte inferior del tubo, plasma acelular (llamado Plasma Pobre en Plaquetas, PPP) en la parte superior del tubo, y una capa blanquecina (a veces llamada la capa leucocitaria) rico en plaquetas y células entre las otras 2 capas. Las células rojas de la sangre se descartan y con una pipeta se toman las primeras 2 capas superiores, la leucocitaria y plasma acelular y se vuelven a centrifugar a 3600 RPM por 15 minutos. Se vuelve a obtener 3 capas, en el mismo orden pero con mayor proporción de PRP (10).

Esta suspensión de plaquetas se puede aplicar como solución en el sitio de la lesión (superficie ocular) o se puede activar con cloruro de calcio para la formación de un gel utilizable en el sitio quirúrgico. Como tercera opción, el PPP se puede activar con trombina bovina y cloruro de calcio para la obtención de una membrana de fibrina cuya función es de cobertura tectónica reabsorbible sobre el gel de E-PRP (1). Ver Figura 2)

Figura 2.- Obtención del E-PRP en sus 3 formas: Solución E-PRP, Gel E-PRP y Membrana de Fibrina.



Usos de concentrados plaquetarios en oftalmología

Las primeras evidencias del uso de derivados sanguíneos en Oftalmología datan del año 1984 y se refieren al uso de suero autólogo (SA), en el manejo de úlceras neurotróficas, defectos corneales persistentes, queratitis límbica superior, diferentes formas de ojo seco y enfermedad de injerto contra huésped. Al no tener un resultado óptimo, y requerir una laboriosa fabricación, es que se inicia el uso de PRP. Dentro de sus ventajas podemos mencionar su fácil obtención, la riqueza en factores de crecimiento, y el alto contenido de proteínas de adhesión que han logrado mejores resultados en el manejo de diferentes patologías oftalmológicas (9). Dentro de sus aplicaciones podemos mencionar el manejo de úlceras corneales no infecciosas no

perforadas, donde se demostró que acorta los períodos de curación respecto al grupo control, igualando los tiempos a productos comerciales de alto costo que actualmente se utilizan (11), manejo de úlceras corneales perforadas, en las que se utilizó PRP en gel, cubierto con una membrana de fibrina, en este caso se logró el sellado de la perforación, sin nuevas recidivas, sirviendo como una solución temporal en espera de trasplante corneal (12). Kim y cols. (2012), realizan la comparación de entre SA y PRP en el manejo de úlceras corneales infecciosas, en este estudio se evidenció la mayor tasa de curación del epitelio corneal con el PRP, y señala que se debe a que ambos productos se diferencian sobre todo por la concentración de EGF que es mayor en el PRP, y que sería una buena alternativa para el manejo del ojo seco crónico (13). Respecto a su uso en usuarios crónicos de lentes de contacto (LC), con adelgazamiento del epitelio corneal, se ha demostrado que por efecto de EGF y TGF- β derivadas de las plaquetas, se ha logrado mejorar la renovación del epitelio corneal por el aumento de la síntesis de ADN, de la producción de moléculas de la matriz extra-celular, y de la proliferación celular, logrando una mayor comodidad para el usuario de LC con su aplicación en gotas diarias. En estos mismos pacientes se ha evidenciado el adelgazamiento del estroma corneal, el cual se ha logrado manejar gracias a ciertos factores de crecimiento liberados a partir de plaquetas activadas (PDGF, FGF, y TGF) que tienen efectos tanto en la proliferación y migración de queratinocitos (9).

Conclusiones finales

CP es una porción de la propia sangre del paciente que tiene una concentración de plaquetas por encima de la línea de base. La principal ventaja de PRP sobre otros productos es la presencia de las plaquetas y asociado con esto la liberación prolongada de los factores de crecimiento que están implicados en el proceso de reparación de las heridas. E-PRP parece ser un enfoque terapéutico fiable y eficaz para mejorar la cicatrización de heridas epiteliales y promover la regeneración de la superficie ocular en diferentes condiciones patológicas. Se ha demostrado evidentes beneficios del uso de E-PRP en tratamientos de úlceras corneales perforadas, no perforadas e infectadas, síndrome de ojo seco moderado y severo (incluido síndrome de superficie ocular post LASIK), y en el mejoramiento de la superficie ocular en usuarios crónicos de LC. Faltan estudios comparativos de tratamientos convencionales versus el uso de concentrados plaquetarios en distintas áreas de la oftalmología. Considerando que el PFR posee propiedades mecánicas y biológicas superiores al PRP en relación a su configuración trimolecular de la red de fibrina que la hace flexible y resistente, favorable a la retención de un mayor número de plaquetas y leucocitos, toda vez que es una técnica natural, de aun más bajo costo y menor manipulación, estos autores sugieren la realización de estudios de PRF en el uso del campo de la Oftalmología.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ehrenfest D., Sammartino G., Shibli J., Wang H., Zou D., Bernard J. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP, or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. POSEIDO. 2013;1(1)
1. 2. Alio JL, Arnalich-Montiel F, Rodriguez A. The role of "eye platelet rich plasma" (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012 Jun;13(7):1257-65.
2. Ehrenfest D., Andia DM, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014 May 8;4(1):3-9.
3. Martín G., Navarro R., López A. Integración de Autoinjertos de Esponjosa con el uso del Sistema Adhesivo de Fibrina. Estudio Experimental. *Rev Esp de Cir Ost (357-364)*1988
4. Kiran N., Mukunda K., Tilak Raj T. Platelet Concentrates: A Promising Innovation In Dentistry. *Journal of Dental Sciences & Research.* Feb 2011; 2:1: Pages 50-61.
5. Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 1999 Jul-Aug;14(4):529-35.
6. Dohan D., Choukroun J., Diss A., Dohan S., Dohan A., Mouhyi J., Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2006; 101 (E): 37-44.
7. Rodríguez J., Palomar M., y Torres J. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Rev Esp Cir Oral Maxilofac.* 2012;34(1):8-17
8. Jarka E.S. Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Contact Lens Discomfort. *Contact Lens Spectrum*, Volume: 30 , Issue: July 2015, page(s): 29-33
9. García García V, Corral I, Basconez Martínez A. Plasma rico en plaquetas y su utilización en implantología dental. *Av Periodon Implantol*, 2004;16,2:81-92
10. Acosta L., Castro M.; Fernández M., Oliveres E.; Gómez E., Tártara L. Tratamiento de Ulceras Corneales con Plasma Rico en Plaquetas. *Archivos de la Sociedad Española de Oftalmología*, Volume 89, Issue 2, Pages 48-52
11. Alio J., Rodriguez A., Martinez L., Luque A., Autologous Fibrin Membrane Combined With Solid Platelet – Rich Plasma in the Management of Perforated Corneal Ulcers: A Pilot Study. *Jama Ophthalmol/vol 131 (no. 6), June 2013*
12. Kim K. M., Shin Y-T, Kim H. K. Effect of autologous platelet-rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. *Japanese Journal of Ophthalmology* November 2012, Volume 56, Issue 6, pp 544-550