

UNIVERSIDAD DR. JOSÉ MATÍAS DELGADO

RED BIBLIOTECARIA MATÍAS

DERECHOS DE PUBLICACIÓN

Basados en

El Reglamento de Graduación de la Universidad Dr. José Matías Delgado

Capítulo VI, Art. 46

“Los documentos finales de investigación serán propiedad de la Universidad para fines de divulgación”

Publicado bajo la licencia Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual de Creative Commons
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/3.0/>



Se permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra siempre que se especifique el autor y el nombre de la publicación y sin objetivos comerciales, y también se permite crear obras derivadas, siempre que sean distribuidas bajo esta misma licencia

Para cualquier otro uso se debe solicitar el permiso a la Universidad

Universidad Dr. José Matías Delgado

Facultad de Ciencias de la Salud Dr. Luis Edmundo Vásquez
Escuela de Medicina



Validación de una metodología para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas en El Salvador

Presenta:

Marcia Esther Aquino Amaya
Emma Dinorah Avelar Bonilla
Wendy Vanessa Turcios Torres

Asesor: Dr. William Hoyos

Lunes 11 de Febrero 2013

Agradecimientos

Estas líneas son para expresar nuestro profundo y sincero agradecimiento a todas las personas que con su ayuda han colaborado en la realización de esta investigación; en especial al Dr. William Hoyos, asesor de esta investigación, por su orientación, seguimiento y supervisión de la misma, además del apoyo y motivación recibido a lo largo de estos meses.

Expresamos nuestro especial reconocimiento a la colaboración del Dr. Simón Turcios, por permitirnos realizar en su clínica privada la realización de la parte clínica de esta investigación, también queremos dar las gracias al Ing. Aristóteles Escobar, por su ayuda en la realización de la Blenderfuge (CHERITA) y a la Lic. Ana de Aquino por su colaboración en la venopunción de los pacientes.

Un agradecimiento muy especial merece la comprensión, paciencia y el ánimo recibidos de nuestros familiares y amigos.

A todos ellos, muchas gracias.

Índice

Planteamiento del problema	4
Delimitación del Estudio	6
Justificación	7
Objetivos	9
Generalidades.....	10
Anatomía Venosa de Miembros Inferiores	10
Sistema Venoso Superficial	10
Sistema Venoso profundo.....	11
Sistema Comunicante.....	11
Válvulas Venosas	12
Fisiopatología de la Circulación Venosa Periférica.....	12
Síndromes Venosos ¹⁰	13
Etiología de la Hipertensión Venosa	14
Clasificación de los diferentes tipos de úlceras venosas:.....	15
Tratamiento	16
Tratamiento compresivo.....	16
Tratamiento coadyuvante.....	17
Escleroterapia	18
Tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas (PRP).....	21
Obtención de Plasma Rico en Plaquetas	22
Hipótesis	25
Metodología.....	26
Tipo de estudio	26
Población	26
Muestra	26
Tipo de Muestreo.....	26
Criterios de Inclusión	26
Criterio de Exclusión	26
Operacionalización de Variables.....	27
Plan de recolección y Procesamiento de datos.....	28

Herramientas estadísticas.....	28
Consideraciones éticas	28
Validación del Método de Extracción y Procesamiento de PRP.....	29
Elaboración de un Prototipo para la obtención de PRP	29
Obtención de PRP y comparación de métodos.....	29
Implementación de la Técnica en un Escenario Clínico.....	30
Valoración Inicial del Paciente.....	30
Intervención General.....	30
Intervención Grupo A.....	31
Intervención Grupo B.....	31
Intervención Grupo C.....	33
Extracción y Procesamiento de Sangre y PRP Grupo C	34
Resultados.....	36
Discusión	44
Conclusiones.....	46
Recomendaciones.....	47
Bibliografía.....	48
Anexos	53

Planteamiento del problema

La implementación de nuevas tecnologías y tratamientos innovadores en países en vías de desarrollo resulta difícil, los presupuestos y materiales disponibles no permiten la adquisición de dichas tecnologías mientras la brecha sigue ampliándose y la cantidad de pacientes que se podrían beneficiar continúan esperando la llegada de nuevos tratamientos.

El plasma rico en plaquetas (PRP) hoy en día es una atractiva alternativa para el abordaje de diversas patologías en donde se ha comprobado su efectividad en ramas como: la implantología oral, la cirugía plástica, cirugía maxilofacial, medicina estética, dermatología y ortopedia que; por sus propiedades cicatrizantes y antimicrobianas; la limitante actual para su implementación en El Salvador lo constituye el costo; siendo éste desde 450 dólares hasta 650 dólares por aplicación en Estados Unidos¹.

Las úlceras venosas constituyen un problema tanto médico como estético de gran índole para cada paciente, siendo un problema crónico, en el que la curación no siempre es posible. Con el paso de los años su manejo ha ido evolucionando desde el uso de ungüentos, elevación del miembro inferior, antibióticos tópicos, hasta tratamientos actuales como la escleroterapia, etc., pese a los esfuerzos y estudios realizados la curación de estos pacientes sigue siendo lenta y dolorosa, desgastante laboralmente y no garantiza el 100% del éxito.

Las úlceras venosas son el resultado de un aumento de la presión en el sistema venoso y trae consigo cambios atróficos en la piel, esta hipertensión produce dilatación venular, aumento de la presión hidrostática e hiperpermeabilidad capilar que conllevan a la aparición de edema e inflamación y consecuentemente a la induración de la piel y el tejido celular subcutáneo, elementos suficientes para que se dé la aparición de la úlcera en donde los depósitos anormales de fibrina forman en el tejido una barrera que ocasiona hipoxia tisular local lo que resulta en un proceso de cicatrización lento y dificultoso, perpetuando el proceso reparador.

Los efectos sobre el paciente y el desafío terapéutico de esta complicada entidad son motivos suficientes para motivar la búsqueda de una metodología tecnológica accesible, efectiva y segura para el tratamiento de esta problemática. Es conocido que de la degranulación de las plaquetas, se liberan diversos factores de crecimiento que activan las células diana, esto a su vez desencadena la señalización intracelular y lleva a la expresión de genes que dirigen la proliferación

celular, formación de la matriz extracelular, síntesis de colágeno y la producción de osteoides resultando en un proceso de reparación y cicatrización rápido, ordenado y eficiente.

¿La implementación de una tecnología accesible para el tratamiento con PRP en las úlceras venosas garantizaran un proceso regenerativo más efectivo que las técnicas convencionales existentes en nuestro medio?

Delimitación del Estudio

La investigación permitirá estandarizar un método adecuado a la factibilidad tecnológica local en cuanto a la obtención y aplicación de PRP como tratamiento médico mediante la cuantificación de plaquetas por equipo automatizado. Una segunda parte del estudio comparará la aplicación del tratamiento médico convencional para úlceras venosas (cicatrizantes, antibióticos tópicos y escleroterapia) vs la aplicación concomitante de Plasma Rico en Plaquetas de origen autólogo en pacientes con úlceras venosas obtenido bajo nuestra metodología. Se cuantificará la evolución mediante la calidad, velocidad y brecha de cicatrización en cada uno de los grupos.

Justificación

El advenimiento de la terapia basada en la aplicación de plasma rico en plaquetas presenta aplicaciones crecientes dentro de las diversas ramas de la medicina (ortopedia, dermatología, algología, cirugía plástica, entre otras). La utilización de plasma rico en plaquetas en pacientes con úlceras venosas de miembros inferiores beneficiaría el proceso resolutivo al activar los mecanismos de regeneración celular. Sin embargo los costos atribuidos a este terapia innovadora se encuentran a un costo de aproximadamente \$450-\$600 por tratamiento¹. Por lo tanto, a pesar de mostrar efectividad el PRP, la brecha tecnológica y económica no hace posible obtener dichos beneficios en nuestro país.

Las úlceras venosas de miembros inferiores son una patología que ocupa un lugar muy destacado a nivel mundial. Su tratamiento es de difícil manejo ya que implica mucha paciencia, tiempo y costo económico por parte del paciente si se quieren obtener resultados satisfactorios. Las repercusiones psicológicas, laborales y familiares resultan devastadoras y desgastantes aún con los tratamientos actuales disponibles localmente. Los tratamientos ofrecidos localmente para las úlceras venosas comprenden: el tratamiento compresivo acompañado con un antibiótico tópico y cicatrizante tópico, el tratamiento esclerosante, las técnicas basadas en limpieza y barrido aséptico utilizadas en el ámbito público, mientras que la implementación de terapias innovadoras como el plasma rico en plaquetas no son visibles todavía. Fisiopatológicamente las úlceras venosas son la consecuencia de la hipertensión venosa que conlleva a una presión tisular elevada produciendo dilatación venular e hipermeabilidad capilar y causando edema e inflamación que lleva a induración de la piel, el tejido celular subcutáneo; consecuentemente se forma un depósito de fibrina en el tejido que actuará como barrera produciendo hipoxia tisular, resultando en un proceso de cicatrización lento y difícil por la falta de contacto con el colágeno y la consecuente angiogénesis y remodelación celular.

El plasma rico en plaquetas (PRP) y los factores de crecimiento liberados en la degranulación de las plaquetas, estimulan a las células diana, desencadenando toda la señalización intracelular lo que conlleva a la expresión de genes que dirigen la proliferación celular, formación de la matriz extracelular, síntesis de colágeno y la producción de osteoides, llevándose a cabo así un proceso de cicatrización rápido y eficiente. Es por ello que el presente trabajo busca implementar una metodología accesible para la aplicación clínica de plasma rico en plaquetas y al mismo tiempo comparar en un escenario clínico el papel del mismo en adición al tratamiento compresivo más escleroterapia vs el uso de

cicatrizantes, antibióticos tópicos y escleroterapia en los pacientes con úlceras venosas en miembros inferiores, en cuanto a evolución del proceso regenerativo.

Objetivos

Objetivo General:

- Estandarizar el método de extracción del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) adecuado a la factibilidad tecnológica local.

Objetivo Específicos:

- Comparar el mejor de tres métodos para la extracción y de PRP en escenarios clínicos locales.
- Comparar el proceso de granulación y regeneración de las úlceras venosas tratadas con plasma rico en plaquetas con el tratamiento ambulatorio compresivo más escleroterapia versus tratamiento ambulatorio compresivo más escleroterapia con antibióticos y cicatrizantes tópicos comerciales en escenarios clínicos locales.

Generalidades

La enfermedad venosa crónica es bastante común entre la población, se estima que el 50% de la población general presenta síntomas como pesantez, dolor y edema²; sus efectos y síntomas resultan desgastantes para los pacientes no solo a nivel físico sino que también las esferas psicológicas, laborales y familiares; según el departamento de salud de Estados Unidos la enfermedad venosa crónica ocupa el séptimo lugar entre 28 enfermedades crónicas estudiadas, situándose en la vigésimo primera situación en incapacidad y octava en mortalidad³.

La sintomatología puede manifestarse desde dolor, edema, sensación de pesantez, venas varicosas hasta úlceras venosas abiertas. El término úlcera se define como la pérdida de sustancia más profunda que puede incluir dermis, hipodermis y descubrir músculo, huesos y tendones⁴, la cual tiene diversas causas siendo la insuficiencia venosa una de las más comunes 45-60%³.

La prevalencia de las úlceras venosas oscila entre 1.5 a 3.0/1000 personas, esta aumenta a medida que aumenta la edad, alrededor de 20/1000 personas mayores de 80 años presentan úlceras venosas⁵, siendo su tratamiento costoso y largo, se estima que un 72% de úlceras venosas reinciden⁶, luego del tratamiento.

Anatomía Venosa de Miembros Inferiores

Las venas devuelven la sangre de los lechos capilares al corazón; la presión dentro del sistema venoso es menor, y es por este motivo que sus paredes son más delgadas que las paredes arteriales. La pared venosa está constituida por tres capas, la íntima, la media y la adventicia.

Existen tres tamaños de venas: las vénulas, las venas intermedias de los miembros inferiores que disponen de válvulas plegables para vencer la gravedad y las venas grandes como la vena cava superior.

El drenaje venoso del miembro inferior está compuesto por dos sistemas independientes; el sistema superficial y el sistema profundo, comunicados entre sí por los vasos perforantes.

Sistema Venoso Superficial

Las dos grandes venas superficiales del miembro inferior son las venas Safenas mayor y menor. La vena safena mayor está formada por la unión de la vena dorsal del 1er orjejo y el Arco venoso dorsal del pie; asciende delante del maléolo medial,

pasa detrás del cóndilo medial del fémur, viajando a través del hiato safeno de la fascia lata, desembocando en la vena femoral (anexo 1)⁷.

La vena safena mayor tiene de 10 a 12 válvulas, estas suelen localizarse justo debajo de las venas perforantes, las válvulas venosas son colgajos de endotelio, que se llenan desde arriba, una vez llenas obstruyen la luz venosa e impiden el reflujo de la sangre distal (anexo 2).

La Vena Safena Menor nace en la cara lateral del pie, por la unión de la vena dorsal del quinto dedo con el arco venoso dorsal; asciende a través del maléolo lateral como prolongación de la vena marginal lateral, pasando por el borde lateral del tendón calcáneo, ascendiendo entre las cabezas del músculo gastrocnemio, hasta la fosa poplítea desembocando en la vena poplítea^{3, 8}.

Sistema Venoso profundo^{3,8}

Las venas profundas están situadas en la fascia muscular desde el pie hasta el muslo; está constituido por las venas plantares, las venas tibiales, la vena poplítea y la femoral superficial y profunda.

Las venas tibiales anteriores son continuación de la pedias y ascienden por el compartimiento anterior de la pierna en contacto con la membrana interósea. Las venas tibiales posteriores se originan en el canal retromaleolar interno. Las venas peroneas tienen su origen en la cara externa del pie y región maleolar, para terminar uniéndose a las venas tibiales posteriores y formar el tronco tibioperoneo (TTP) en el tercio superior de la pierna. El TTP atraviesa el anillo del Soleo y recibe las venas tibiales anteriores constituyendo la vena poplítea, la que continúa con la vena femoral superficial después de atravesar el anillo del tercer abductor.

La vena femoral superficial asciende por el canal de Hunter, atraviesa luego el triángulo de Scarpa donde recibe a la vena femoral profunda para formar la vena femoral común, que luego de la desembocadura de la safena interna pasa por debajo de la arcada crural transformándose en vena ilíaca externa.

Sistema Comunicante

El sistema profundo y superficial están conectados por las venas perforantes (directo e indirecto); la mayoría de la sangre fluye desde el sistema superficial al profundo a través de las perforantes directas. Las perforantes indirectas (pequeñas venas superficiales) atraviesan la fascia profunda, de modo que cuando los músculos se contraen aumenta la presión dentro de la fascia profunda, contrayendo las venas perforantes, lo que evita que la sangre fluya de las venas

profundas a las superficiales. Este patrón se conoce como bomba musculovenosa³.

De gran interés en el tratamiento de la insuficiencia venosa, son cinco grupos de perforantes mediales directas de la pantorrilla, que unen o la safena mayor o la vena de Leonardo a la tibial posterior, este grupo tiene el nombre de Cockett o perforantes paratibiales, zona donde se ocurren la mayoría de úlceras venosas⁷.

Válvulas Venosas

Las válvulas venosas están dispuestas de tal forma que la dirección del flujo sanguíneo sólo puede ocurrir hacia el corazón, por lo tanto cada vez que una persona mueve las piernas, tensa los músculos, impulsa cierta cantidad de sangre hacia el corazón y la presión venosa desciende, este sistema tiene el nombre de bomba músculo venosa, como previamente se mencionó, esta bomba permite mantener la presión venosa en los pies por debajo de 25mmHg⁹.

Cuando una persona permanece de pie completamente inmóvil, la bomba venosa no trabaja, aumentando la presión venosa en el miembro inferior, aumentando hasta el valor de la presión hidrostática a 90mmHg. Las presiones en los capilares aumentan causando la salida de líquido del sistema circulatorio al espacio tisular, causando edema, y cuando estas válvulas se vuelven incompetentes es cuando inicia la enfermedad venosa y sus complicaciones hasta llegar a las úlceras venosas.

Fisiopatología de la Circulación Venosa Periférica

En las extremidades inferiores existen dos sistemas venosos: un sistema profundo, localizado dentro de la aponeurosis que acompaña a las arterias del mismo nombre y transportan aproximadamente el 80% de la sangre de retorno y un sistema superficial (formado por las safena externa e interna) que funcionan como un reservorio funcional y que contribuye de forma notable a la regulación de la temperatura corporal¹⁰.

La principal vena comunicante es el cayado de la safena. En el sistema venoso de las extremidades inferiores, existen válvulas que permiten el flujo anterógrado y evitan el retrógrado¹⁰.

La función de las venas de las extremidades inferiores es conducir la sangre procedente de los capilares hasta las venas ilíacas y cava inferior. Para conseguir el flujo adecuado de sangre en dirección hacia el corazón, son importantes varios

mecanismos: a) la diferencia de presión entre el ventrículo izquierdo y la aurícula derecha; b) el efecto de “succión” que ejerce la presión negativa intraabdominal; c) la onda pulsátil de las arterias próximas, y d) la contracción de los músculos.

Síndromes Venosos ¹⁰:

Los dos principales Síndromes de la patología de las venas de las extremidades inferiores son el de obstrucción aguda y el de insuficiencia venosa crónica.

Síndrome de obstrucción venosa aguda:

Consiste en la oclusión en el sistema venoso profundo de forma rápida, ya que si el mismo fenómeno es progresivo, puede ser compensado por los sistemas comunicantes.

La causa principal es la formación de un trombo, en cuya patogenia intervienen los tres factores característicos: la alteración del endotelio, la disminución de la velocidad sanguínea y la hipercoagulabilidad de la sangre.

Síndrome de insuficiencia venosa crónica:

Consiste en la dificultad de retorno al corazón de la sangre aportada por las arterias a las extremidades inferiores.

Las dos causas principales son la obstrucción venosa persistente y la insuficiencia de las válvulas venosas:

Obstrucción venosa: Aparece como secuela de una trombosis que no se resolvió con la re-permeabilización de los vasos afectados.

Insuficiencia de las válvulas venosas: Esta situación puede deberse a dos razones: insuficiencia primaria, en la que las válvulas son incompetentes sin ninguna lesión previa, e insuficiencia secundaria, cuando este fenómeno se debe a una trombosis previa; la insuficiencia valvular secundaria solo aparece en las venas profundas.

Las dos consecuencias de la insuficiencia venosa periférica son el desarrollo de dilataciones en el sistema venoso superficial, denominadas várices, y los cambios tróficos de las extremidades inferiores.

Las várices se diagnostican por inspección cuando el individuo adopta la posición de bipedestación. Si aparecen en la cara interna del muslo y la pierna, corresponden a la safena interna, mientras que si aparecen en la cara externa de la pierna, corresponden a la safena externa¹⁰.

La segunda consecuencia de la insuficiencia venosa crónica son los cambios tróficos de la extremidad afectada. Así, la rotura de pequeños vasos y el paso al intersticio de hemáties cuya hemoglobina es transformada en hemosiderina, es

responsable de la pigmentación pardo oscura de la piel. La hipoxia y el edema, mantienen una inflamación de poca intensidad, pero persistente, que conduce a la atrofia e induración de la piel y del tejido subcutáneo y a la larga, produce ulceraciones. La sensación de pesadez y dolor, mejora con la deambulación y más todavía, con el decúbito con las piernas elevadas, ambas circunstancias activan la circulación venosa por ayudar a la contracción de los músculos o la acción de la gravedad¹¹.

La causa común entre las úlceras venosas es la denominada hipertensión venosa sostenida (H.V.S) que mantiene el miembro inferior del paciente, manifestándose muchas veces con edema. La cifra tensional en las venas en el tobillo es apenas un poco menor que la arterial sistémica de un individuo sano, es decir de pie e inmóvil registrará una presión arterial sistólica de 120 mm de Hg y venosa de 100 a 110 mm de Hg. En decúbito supino, con los miembros inferiores en alto, la presión en las venas es de 0 mmHg¹¹

Si la presión venosa supera los 30mmHg o más, se puede presentar las úlceras en dicho miembros, esta es además una de las razones del porque pacientes con varices simples, pueden padecer la lesión, en cuyo caso reciben el nombre de úlceras varicosas¹¹.

En persona con patologías venosas profundas, como la insuficiencia valvular y obstrucción, la presión se elevará o descenderá durante el ejercicio, por poco más de 5 a 10 mmHg¹¹.

Etiología de la Hipertensión Venosa

Hoy en día se sabe que las várices primarias pueden causar hipertensión venosa hasta 35mmHg o más; con frecuencia las várices serán la causa única del proceso ulceroso.

Etiológicamente el volumen venoso se expande, deteriorando las válvulas, la bomba muscular se hace insuficiente y se establece la hipertensión venosa; en ese momento aparece la hiperpigmentación y el edema. La hipertensión venosa produce una dilatación venular y causa una hiperpermeabilidad de los capilares; como resultado alrededor de ellos se deposita fibrina que es incapaz de eliminarse debido a que conjuntamente existe una deficiencia fibrinolítica de la pared venosa. Estos depósitos de fibrina actúan como barrera de manera que la dermis que los cubre sufre hipoxia, y la piel al menor trauma causa ulceración.

Clasificación de los diferentes tipos de úlceras venosas:

La clasificación de las úlceras en miembros inferiores, viene tratando de estandarizarse desde hace mucho tiempo actualmente se toma como clasificación estándar CEAP (clinical, etiological, anatomical and pathological elements) la cual clasifica las úlceras en base a diferentes parámetros; que van desde signos clínicos, anatomía, etiología, de acuerdo a la fisiopatología¹².

Para el diagnóstico de este padecimiento debemos tomar en cuenta varios factores para iniciar una correcta exploración física como una buena calefacción de consultorio, correcta luz para localizar y establecer la distribución de las venas varicosas, los cambios en la coloración de la piel, la presencia de síntomas característicos de patología venosa, como dolor, delgadez de la piel, calambres, pesadez entre otros y en base a todo esto clasificarlas de acuerdo a la clínica¹³.

Así, también existen varias maniobras que permiten la localización del defecto:

Prueba de Charts: consiste en colocar la mano sobre la ingle, y percutir con la otra sobre la zona de máxima dilatación varicosa, de tal forma que si la zona varicosa pertenece al mismo sistema, se palpa la onda de pulso en el cayado de la safena.

Prueba de Brodie-Trendelenburg: consiste en elevar la extremidad afectada y vaciar las varices, colocando un lazo por debajo del cayado de la safena, e indicar al paciente que adopte la bipedestación. Si las varices no se rellenan, y al retirar el lazo se hacen bruscamente la prueba es positiva, lo cual indica insuficiencia del cayado de la safena: si la varices se rellena antes de 30 segundos, se considera una prueba negativa, que indica que insuficiencia venosa está por debajo del cayado de la safena¹⁰.

Prueba de Heyerdale-Anderson: es equivalente a la de anterior, pero se realiza en territorio de la safena interna.

Exámenes de laboratorio:

En cuanto a los exámenes de laboratorio no existe alguno específico, pero si nos puede ayudar según la sospecha de la causa en base a los diagnósticos diferenciales de úlceras en miembros inferiores, de esta forma se envían exámenes según la sospecha clínica que se tenga, que van desde los exámenes de rutina, hasta descartar hipoproteïnemia, anemia, sin dejar de considerar hipovitaminosis C, A, y E que influyen en el proceso de sanación¹².

Exploración complementaria

Ecografía-Doppler y la flebografía. La primera permite el diagnóstico de presunción de trombosis venosa profunda al comprobar la ausencia del colapso venoso durante la compresión con el transductor y la localización de la insuficiencia valvular¹⁰.

La segunda, la flebografía consiste en la introducción de contraste radiopaco en el sistema venoso que dibuja la arquitectura del sistema venoso de la extremidad¹⁰.

Tratamiento

"Las heridas crónicas son heridas en las que falla la secuencia normal, ordenada y el tiempo del proceso de reparación o heridas que pasan todo el proceso de reparación sin restauración anatómica y resultados funcionales¹⁴".

Se menciona que en Estados Unidos la insuficiencia venosa crónica es responsable de un 75% de los casos de úlceras crónicas no curadas en miembros inferiores¹⁵. Es por ello, que el presente estudio se enfocará en el efecto agregado del plasma rico en plaquetas en el tratamiento compresivo y esclerosante de úlceras venosas versus el tratamiento compresivo, y esclerosante más productos cicatrizantes tópicos versus el tratamiento convencional en Hospital San Rafael que consiste en curación y desbridación.

Tratamiento compresivo

En la literatura médica sobre el tratamiento de insuficiencia venosa crónica y sus complicaciones se habla de un elemento básico; el tratamiento por compresión, que puede variar en un rango de 20 a 50 mmHg¹⁶. De 20 a 30 mmHg se clasifica como compresión leve, de 30 a 40mmHg es compresión moderada y 40-50mmHg como compresión mayor. Se recomienda de 30 a 50 mmHg durante el día para que el tratamiento compresivo sea efectivo en la insuficiencia venosa, pero éste puede variar según persista el dolor o el cansancio de piernas en los pacientes. Para lograr ésta compresión hay muchas técnicas, entre ellas: las medias elásticas, botas de pasta y gasa (botas de Unna), vendajes o telas elásticas en capas múltiples o dispositivos neumáticos¹⁷. Este tratamiento por compresión disminuye la hipertensión venosa, aumenta el retorno venoso, estimula la fibrinólisis, disminuye el edema y las células pro-inflamatorias, aumenta la oxigenación tisular, brinda un ambiente para la cicatrización de la úlcera, es decir mejora los parámetros hemodinámicos y la respuesta inflamatoria tanto de la microcirculación en la piel como el tejido celular subcutáneo¹⁴⁻¹⁶. Existen múltiples vendas elásticas simples y adhesivas de 2, 3, 4, y 6 pulgadas, pero el ancho

ideal para lograr la compresión deseada será de 4 pulgadas¹⁸. El vendaje compresivo elástico es permanente, el cual deberá ser utilizado por el paciente por períodos hasta de 1 semana, (el vendaje se debe de cambiar cuando sea necesario con el fin de que no se deforme por el uso y por la pérdida del volumen de la pierna al desaparecer el edema e inflamación) pero dependerá del tamaño de la úlcera para una completa curación¹⁵.

Las condiciones para conseguir un adecuado tratamiento son: aplicar el vendaje, desde la base de los dedos del pie, hasta la tuberosidad tibial, con una adecuada compresión, proporcionar un gradiente de presión decreciente desde el tobillo hasta la rodilla¹⁹, asegurando ejercer una presión uniforme distribuida por el contorno anatómico desde pies hasta rodilla, manteniendo dicha presión hasta el próximo control junto con el cambio de vendaje y tomando en cuenta la aparición de irritación, alergia en la piel además de que sea comfortable para el paciente¹⁸.

Tratamiento coadyuvante

El tratamiento clave para la insuficiencia venosa es la compresión como se mencionó anteriormente, que puede ir acompañada de agentes cicatrizales y antibióticos tópicos.

Entre los agentes cicatrizantes tópicos que se utilizarán en este estudio se encuentra la Ketancerina (SUFREXAL) 2g en gel. Este fármaco es un antagonista serotoninérgico que bloquea selectivamente el receptor 5HT2. Aunque antagoniza el efecto de la serotonina quien se encarga de la vasoconstricción y agregación plaquetaria, tiene un efecto en mejorar la microcirculación y granulación de los tejidos nuevos en úlceras crónicas. Un estudio reportó una mejora significativa del 30% de las úlceras crónicas en 12 pacientes diabéticos, luego de 8 semanas aplicando ketanserina 2% gel c/12 horas más medias elásticas usadas durante el día y en ausencia de infección bacterial o necrosis severa²⁰. Otros agentes cicatrizantes y estimulantes de la granulación en el mercado son Bepanthe crema®, que tiene como componente el dexpanthenol que es convertido en ácido pantoténico, esencial de la coenzima A quien se encarga del metabolismo de las células, siendo vital para la formación y regeneración de la piel y mucosas a través de la estimulación de los fibroblastos, y aumento en la síntesis de colágeno de la piel. El Irujol ® ungüento está compuesto por una enzima llamada colagenasa derivada del Clostridium histolyticum, capaz de eliminar el tejido necrótico y al mismo tiempo los fragmentos de colágeno estimulan la acción de los macrófagos y fibroblastos en el proceso de granulación y angiogénesis. Entre otros: Recoveron® (Acexamato de sodio) ayuda en la Cicatrización cutánea¹⁸.

Debido a que las úlceras venosas pueden infectarse ya que son el medio perfecto para el desarrollo de bacterias tanto aerobias como anaerobias; ciertos estudios refieren que un 80%- 100% de úlceras en miembros inferiores son infectadas por *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa* y un 73%- 82% con *Peptoestreptococcus* sp, *Bacteroides*, retrasando así el proceso de cicatrización^{21,22,23}. En algún momento las úlceras venosas pueden estar colonizadas pero se ha visto que no está asociado a retraso en la curación¹⁹. Algunos investigadores reportan que una carga bacteriana mayor de 10^5 bacterias por gramo de tejido afecta considerablemente el proceso de curación de la úlcera venosa²². Por lo que lógicamente utilizar antibióticos sistémicos o tópicos previene y trata la infección, pero sobre este tema no hay suficientes estudios que demuestren su uso preventivo en la curación de las úlceras venosas de miembros inferiores. Además se recomienda que los antibióticos deban ser usados en casos de infección documentada y no de colonización bacteriana debido al incremento de resistencia²³. Es por ello que en el mercado existen diferentes antibióticos tópicos como el ácido fusídico, mupirocina, neomicina, bactitracina, y antibióticos tipo aminoglucósidos que se pueden aplicar de forma intralesional como: gentamicina o amikacina, quinolonas: oflaxacina, cefalosporina: ceftriaxona, etc. El beneficio de un antimicrobiano tópico se debe a la capacidad de dejar concentraciones locales mayores de antibiótico independientemente de la irrigación sanguínea, además de evitar los efectos adversos sistémicos²².

Escleroterapia

Entre otros métodos se encuentra la escleroterapia que consiste en inyectar en el lumen de las venas superficiales unas sustancias que hacen que colapsen permanentemente, al reaccionar con el endotelio y desarrollar un trombo local en éste, transforman el vaso en un tejido fibroso que no podrá recanalizarse. La escleroterapia puede realizarse incluso en una úlcera venosa mostrando una notable mejoría en la curación de la úlcera. Además, esta técnica es recomendada clínicamente²⁴.

Entre las sustancias esclerosantes se encuentran: los detergentes que alteran la membrana celular de la vena como son el sulfato tetradecil sódico (Sotradecol), polidocanol (Aethoxysclerol), moruato sódico (scleromate), oleato etanolamina (Ethamolin). Agentes osmóticos que dañan las células al alterar el balance de agua, entre ellos: solución salina hipertónica, solución salina más dextrosa (Sclerodex). Y por últimos los irritantes químicos que dañan la pared de la célula como la glicerina (Scleremo), yodo poliyodado (sclerodine), solución alcohólica de zein (ethibloc) y bleomicina.

Muchos de éstos esclerosantes son diluidos con agua destilada o solución salina, la cantidad del agente depende del tamaño del vaso, partiendo de las venas más largas hasta las más pequeñas. Durante el procedimiento puede existir una extravasación causando dolor intenso o una quemada para lo cual se recomienda diluir con solución salina al 0.09% o lidocaína. La escleroterapia es un procedimiento efectivo, simple que alivia los síntomas, obtiene buenos resultados cosméticos, no hay necesidad de hospitalización y es de bajo precio. Las contraindicaciones absolutas para este procedimiento son: trombosis venosa profunda o superficial, infección local en el área de escleroterapia, inmovilidad, enfermedad arterial oclusiva, enfermedad sistémica severa, etc²⁵.

Para obtener buenos resultados se necesita de un entrenamiento en la técnica adecuada, y la cantidad adecuada del esclerosante. Entre los esclerosantes que se utilizaron en este estudio se encuentran: TROMBOVAR® y AETOXIESCLEROL®, esclerosantes fuertes de vehículo acuoso, además del Polidocanol 3%® (Hidroxipolietoxidodecano), TAMPONNE 3%® (Hidroxipolietoxidodecano), Glicerina cromada 1.1%¹⁸.

Recomendaciones para el manejo de úlceras venosas según evidencia clínica²⁶.

SORT: KEY RECOMMENDATIONS FOR PRACTICE

<i>Clinical recommendation</i>	<i>Evidence rating</i>	<i>References</i>
Compression therapy has been proven beneficial for venous ulcer treatment and is the standard of care.	A	2, 7, 10, 22-26, 45
Leg elevation minimizes edema in patients with venous insufficiency and is recommended as adjunctive therapy for venous ulcers. The recommended regimen is 30 minutes, three or four times per day.	C	27
Dressings are beneficial for venous ulcer healing, but no dressing has been shown to be superior.	A	28, 29
Pentoxifylline (Trental) is effective when used with compression therapy for venous ulcers, and may be useful as monotherapy.	A	31
Aspirin (300 mg per day) is effective when used with compression therapy for venous ulcers.	B	32

A = consistent, good-quality patient-oriented evidence; B = inconsistent or limited-quality patient-oriented evidence; C = consensus, disease-oriented evidence, usual practice, expert opinion, or case series. For information about the SORT evidence rating system, go to <http://www.aafp.org/afpsort.xml>.

Opciones del Tratamiento de Úlceras Venosas²⁶.

Opciones de Tratamiento	Comentario
<u>Manejo Conservador</u>	
Terapia compresiva (elástica, no elástica, compresión intermitente neumática)	Tratamiento Estándar, beneficio comprobado (beneficio menos claro con la compresión intermitente neumática); asociado a disminución en la recurrencia de la úlcera.
Elevación de Miembros Inferiores	Tratamiento estándar al utilizarlo con terapia compresiva; reduce edema, recomendado por 30 minutos por 3, 4 veces al día.
Apósitos	Ningún tipo de apósito es recomendado
<u>Tratamiento mecánico</u>	
Presión tópica negativa (sellado con aspiradora)	No hay evidencia para su uso en úlceras venosas
<u>Medicamentos</u>	
Pentoxifilina	Efectiva cuando es usada con el tratamiento compresivo, podría ser útil como monoterapia.
Aspirina	Efectiva al usar con tratamiento compresivo, dosis de 300mg una vez al día.
Iloprost	La administración endovenosa podría ser beneficiosa pero no hay suficiente información para su uso, alto costo.
Zinc Oral	No ha demostrado ser beneficioso.
Antibióticos/Antisépticos	Antibiótico oral en casos de sospecha de celulitis, uso de antibióticos sistémicos no ha probado beneficio en la curación, no está claro el beneficio de añadir antiséptico tópico como el cadexómero yodado.
Terapia de oxígeno hiperbárica	No beneficios Probados
<u>Manejo Quirúrgico</u>	
Debridación	Se necesita más estudios para establecer beneficios

Injerto de piel humana	Se necesita más estudios para establecer beneficios.
Piel artificial	Podría beneficiar si se usa con terapia compresiva, preocupación por transmisión de infección.
Cirugía por insuficiencia venosa	Beneficio en casos severos o refractarios asociado con disminución de recurrencia.

Adaptado de Lauren Collins, and Samina Seraj Diagnosis and Treatment of Venous Ulcers APF, 2010, 81(8):992.

Tratamiento con Plasma Rico en Plaquetas (PRP)

Desde los años 80 se comenzó a administrar tópicamente el concentrado de plaquetas como terapia adyuvante en pacientes con úlceras crónicas en miembros inferiores y a partir de entonces se ha extendido a muchos campos de la medicina, siempre con el objetivo de promover la hemostasia y el proceso de cicatrización en diversos tejidos^{27,28}. Las plaquetas se encuentran en el torrente sanguíneo y son concentradas en el bazo. La concentración normal varía en un rango de 150,000 a 400,000 plaquetas /mm³. Se encuentran en la circulación en un promedio de 10 días antes que los macrófagos del sistema reticuloendotelial las remuevan; el término PRP consiste en una porción del plasma autólogo, obtenido de sangre completa; teniendo una concentración de plaquetas arriba de lo normal²⁷.

El porqué de los beneficios del PRP es doble; en primer lugar, cuando las plaquetas se activan (degranulación) los gránulos alfa que son aproximadamente 50-80 gránulos en cada plaqueta²⁷, se fusionan con la membrana de las plaquetas, lugar donde los factores de coagulación son bioactivados al añadirles histonas y cadenas de carbohidratos. Posteriormente son secretados uniéndose a los receptores transmembranales de células diana (por ejemplo: células mesenquimales, osteoblastos, fibroblastos, células endoteliales, células epidermales, etc.) para activar la cascada de señalización intracelular en cada una de estas células que resultará en la expresión de una secuencia de genes que dirigen la proliferación celular, formación de matriz, síntesis de colágeno y más. Además de que cada factor de crecimiento tiene características y funciones determinadas.

Entre los factores de crecimiento se encuentran: factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor beta de crecimiento transformador (TGF-β), factor de crecimiento derivado de plaqueta epidermal (PDEGF), factor de crecimiento

endotelial (VEGF), factor de crecimiento similar a la insulina 1 (IGF-1), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), y factor de crecimiento epidermal (EGF)²⁹.

Además, los gránulos alfa también liberan citocinas, quimiocinas y otras proteínas que intervienen en la quimiotaxis, proliferación celular, maduración, modulación de moléculas inflamatorias y atracción de leucocitos. También las plaquetas almacenan otras moléculas bioactivas que son proteínas antibacterianas y fungicidas para prevenir infecciones como metaloproteasa-4 y factores de coagulación. Además al obtener el PRP, éste se encuentra presente junto con células como los leucocitos, monocitos, macrófagos, mastocitos que dirigen y regulan el proceso de cicatrización y también previenen infecciones, añadiendo mayor efecto antimicrobial. Las plaquetas también poseen gránulos densos que almacenan y liberan ADP, ATP, calcio, histamina, dopamina, serotonina y gránulos lisosomales que secretan hidrolasas, elastasas, lisozimas y otras moléculas no muy bien caracterizadas cuyo rol no debe ser subestimado en el proceso de cicatrización de heridas²⁷.

En segundo lugar, la posibilidad de utilizar el PRP, los factores de crecimiento y las moléculas bioactivas del mismo paciente, así como obtener PRP con un método poco invasivo, su administración tópica en el lugar deseado y sin riesgo de alergias presenta múltiples beneficios para el paciente.

Obtención de Plasma Rico en Plaquetas

El PRP se adquiere a través de la sangre completa vía venosa o arterial, la sangre pasa por gravedad a un tubo conteniendo CPD (citrato-fosfato-dextrosa) o anticoagulante citrato 3%. Luego de mezclar ambas sustancias cuidadosamente se procede a centrifugar a 3000-3600 rpm aprox. 10-15 minutos³⁰. Otros autores mencionan centrifugar el PRP a 1500rpm por 10 minutos, con el fin de obtener tres capas según su respectiva densidad: la capa del fondo consiste en células rojas, la capa media está constituida por plaquetas y glóbulos blancos, y la última capa contiene plasma. Se obtiene aproximadamente 10% del volumen total de sangre completa. El manejo de las plaquetas, una vez centrifugadas, debe ser cuidadoso ya que si se fragmentan podría resultar en una liberación alta de factores de crecimiento²⁷.

Una vez centrifugada se procede a descartar los glóbulos rojos para realizar la segunda centrifugación de la media y última capa a 3000-3600rpm aprox. 10-15 minutos. Existen centrifugas especializadas que utilizan mayor velocidad y posteriormente menor velocidad en el proceso de centrifugación, para obtener de 2 a 4 veces más que la cantidad de plaquetas del paciente.

Una vez obtenido el PRP, una manera de activar los gránulos alfa de las plaquetas es añadir trombina y cloruro de calcio para activar directamente las plaquetas y reemplazar el enlace del Citrato -fostato - dextrosa tipo A, respectivamente. Así se forma un coágulo que sirve de medio para los factores de crecimiento y los mantiene en el sitio de la úlcera, que debe ser aplicado inmediatamente, todo el procedimiento es realizado en un ambiente antiséptico³¹.

En la literatura se encuentran datos que la concentración de PRP debe ser aproximadamente 400% del conteo de plaquetas en sangre periférica y para un valor clínico significativo el PRP debe tener 1 millón de plaquetas por microlitro aunque hay estudios que demuestran una eficacia clínica del PRP con menor concentración²⁷. Otro estudios reportan que el 20% de las plaquetas circulantes o 2.6×10^{11} plaquetas (en un hombre 70kg con un conteo de 250,000/uL) sería suficiente para tener beneficio clínico²⁷. Según Nageta et al, el PRP debe tener una concentración 300-400% mayor que la sangre completa para ser considerado "terapéutico", y que la técnica de doble centrifugación es verdaderamente necesaria para obtener PRP³². Otro estudio reporta que las concentraciones de plaqueta de 200×10^3 plaquetas/uL hasta 1000×10^3 plaquetas/uL son consideradas terapéuticas³³.

Para estandarizar el conteo de plaquetas se puede realizar a través de éstas formulas³².

% plaquetas mayor que sangre

$$\text{completa} = \left(\frac{\text{Conteo de Plaquetas PRP} - \text{conteo de plaquetas sangre completa}}{\text{conteo de plaquetas sangre completa}} \right) \times 100$$

$$\text{Concentración de plaquetas (\%)} = \left(\frac{\text{Conteo de plaquetas del PRP}}{\text{Conteo de plaquetas de sangre completa}} \right) \times 100$$

Existe muchos aparatos diseñados con el fin de obtener PRP, entre ellos: GPS (Biomet, Warsaw, Ind), the PCCS (Implant Innovations Inc, Palm Beach Gardens, Fla), SmartPREP (Harvest Technologies Corp), Magellan (Medtronic, Minneapolis, Minn)²⁶.

Por todo lo antes mencionado, el PRP ha tenido buenos resultados como lo demuestra este caso de una mujer de 35 años quien sufrió una contusión y necrosis parcial en su rodilla derecha en un accidente de tráfico, fue ingresada para debridar y cambiar apósitos cada dos días. Pero tres meses después presentaba aún una herida de 1.8cm x 1.2cm no cicatrizada con bordes

necróticos y con cultivo negativo. Se le inyectó PRP en la úlcera y la trombina fue añadida para formar un coágulo que posteriormente se cubrió con una membrana sin ningún tratamiento adicional. A los diez días se le retiró la membrana, encontrándose con una herida cicatrizada, 10 días después la herida estaba seca y suave³¹.

Hipótesis

Existen formas económicas y factibles de obtener plasma rico en plaquetas para entornos clínicos.

El Plasma Rico en Plaquetas en adición al tratamiento esclerosante como tratamiento en úlceras venosas por microinyección es más eficaz y eficiente que el tratamiento convencional más cicatrizantes, antibióticos tópicos aislado.

Metodología

La participación de sujetos de investigación y voluntarios participantes en este estudio estuvo determinada por la aceptación a participar en el estudio mediante la debida firma del consentimiento informado.

Los aspectos éticos del presente trabajo fueron supervisados y aceptados por el comité de investigación de la Universidad Dr. José Matías Delgado.

Tipo de estudio

Es un estudio analítico-cohorte, prospectivo.

Población

Estuvo conformada por los pacientes que visitaron la Clínica de Flebología en el Centro Médico Profesionales Metropolitano.

Muestra

La integraron los pacientes que visitaron la Clínica de Flebología en el Centro Médico Profesionales Metropolitano que presentaban úlceras venosas en miembros inferiores y que cumplieron los criterios de inclusión durante los meses de Mayo a Noviembre del 2012.

Tipo de Muestreo

No probabilístico, muestreo de conveniencia

Criterios de Inclusión

- Paciente que visitó La Clínica de Flebología en el Centro Médico Profesionales Metropolitano que presentaban úlcera venosa de miembros inferiores sin importar su edad, sexo, profesión, domicilio, ubicación de la úlcera en la extremidad y presencia de infección sobreagregada, ya sea úlcera venosa recurrente, crónica o inicial en los meses de investigación del 2012. Y los pacientes que estuvieran dispuestos a participar en el estudio con previa aceptación del consentimiento informado.

Criterio de Exclusión

- Paciente con úlcera de miembros inferiores de origen traumático o arterial.
- Todo paciente que no se presente a su cita control dentro de los siete días siguientes a la fecha prevista.

Operacionalización de Variables

Variables independientes	Indicadores	Unidades o categorías	Escala
Sexo	Caracteres sexuales secundarios	Masculino femenino	Nominal
Edad	Fecha de nacimiento	Años	Razón
Paridad	Número de embarazos	Dos o menos tres o mas	Nominal
Ocupación	Actividad laboral	Oficina motorizado planta de producción campo hogar	Nominal
Procedencia	Lugar de vivienda	Urbano Rural	Nominal
Ubicación de úlceras en miembros inferiores	Área anatómica de la lesión	Maléolo externo Maléolo interno Cara anterior de pierna Cara medial de pierna Cara lateral de la pierna	Nominal
Tratamiento compresivo y escleroterapia	Compresión y escleroterapia cada semana	Si No	Nominal
Antecedente familiares	Familiar en primer grado	Si No	Nominal
Granulación	Presencia o ausencia de tejido de granulación	Si No	Nominal
Cuantitativas	Indicadores	Categoría	Escala
Concentración de plaquetas en PRP	Numero de plaquetas x 10 ³ /uL	<200,000/uL 200,000-1000 x 10 ³ /uL >1000 x 10 ³ /uL	Nominal
Diámetro de la ulcera	Área total de la úlcera	Centímetros	Razón

Reducción del diámetro semanal	Reducción del área de la úlcera	Centímetros	Razón
Tiempo total de cierre de la úlcera	Número de semanas totales	1-4 semanas 5-8 semanas 9-12 semanas 13-16 semanas 17-20 semanas	Nominal
Índice de masa corporal	Kg/mt2	Desnutrición Normal Sobrepeso Obesidad	Ordinal

Plan de recolección y Procesamiento de datos

Los datos se recolectaron por medio de entrevistas, medición y observación. Estos datos se colocaron en documentos diseñados para la evaluación inicial (anexo 3) y evaluación semanal o subsecuente (anexo 4) de los pacientes.

Los datos fueron procesados utilizando las hojas de tabulación de Excel, y los programas de Graphpad y OpenEpi.

Herramientas estadísticas

Para realizar el análisis del estudio se utilizó el test exploratorio de normalidad de D'agostino Pearson y las herramientas estadísticas de ANOVA post test de Dunn's, para la comparación de grupos, el análisis de la efectividad del tratamiento en el tiempo se utilizaron las curvas de Kaplan-Meier acompañadas del test de logrank para documentar las diferencias.

Consideraciones éticas

Todas las personas que participaron en el presente estudio firmaron un consentimiento informado, además de previa explicación del estudio y procedimientos que se le realizarían; su participación fue voluntaria y se mantuvo su anonimato (Anexo 5).

La presente investigación se divide en dos secciones: la primera de ellas referente a la validación del método de extracción y procesamiento de PRP y la segunda consiste en la implementación de la técnica en un escenario clínico.

Validación del Método de Extracción y Procesamiento de PRP

Elaboración de un Prototipo para la obtención de PRP

El equipo investigador basado en la observación y análisis de diferentes dispositivos comerciales para la extracción de plasma rico en plaquetas, pero inaccesibles económicamente siguió el esquema de construcción de una centrífuga a partir de una licuadora de cocina: marca Hamilton Beach, modelo B30; 12 velocidades, 120v, 60Hz, 3.5A, 2 polos; en base a la frecuencia de la red eléctrica de la licuadora se calculó las revoluciones por min RPM: $120 \cdot \text{Hz} / \# \text{ polos}^{34}$, según las características de la licuadora genera 3600 RPM. Para la construcción de la Blenderfuge (CHERITA), se adaptó al engrane o eje central, un embudo de plástico de 12.5cm de diámetro, mediante un tubo de conector de hierro de 3cm(alto) x 1.5cm(diámetro); se realizaron dos orificios en el embudo a una altura de $\frac{1}{2}$ radio, uno frente al otro alineados en el ecuador de la circunferencia, manteniendo un ángulo de 180° , lo que permitió una resistencia mecánica adecuada; se colocaron dos sujetadores de aluminio para asegurar los tubos. Se conectó a la alimentación eléctrica principal un dimer, el cual operaba a velocidad máxima, esto permitió un mejor control en el encendido y apagado; se atornilló la base de la licuadora a dos tablas de madera de 25cm^2 , para darle mayor estabilidad y balance (anexo 6)³⁵.

Se ejecutó el diseño de una jeringa adecuada para el procesamiento y separación de PRP (Anexo 7), paso siguiente al centrifugado de sangre completa con el fin de conservar íntegramente las plaquetas y no facilitar su fragmentación y pérdida de factores de crecimiento. Una vez comprobada la idoneidad del método (concentración superior a 200%) se dio inicio a la fase experimental.

Obtención de PRP y comparación de métodos

La estandarización del método para la extracción de sangre y posterior recolección de plaquetas autólogas fue seleccionada en base a dos factores determinantes: el primero de ellos a las concentraciones plaquetarias más “elevadas” y el segundo en base a la factibilidad técnica para la obtención del producto final.

Para ello doce muestras sanguíneas fueron obtenidas de voluntarios sanos, cada muestra fue dividida en 3 tubos de 6ml, el primero de ellos expresaría el valor basal plaquetario al ser sometido a conteo directo en equipo hematológico automatizado, un segundo tubo sometido a método de centrifugación simple más extracción de plasma rico en plaquetas por micropipeta automática (1mL) y un tercer tubo expuesto a la metodología blenderfuge(CHERITA) propuesta por el

grupo investigador; Los datos obtenidos se compararon con los datos del estudio de microscopía electrónica y cuantificación de los factores de crecimiento mediante un nuevo procedimiento de obtención de plasma rico en plaquetas

Implementación de la Técnica en un Escenario Clínico

El presente estudio analizó el comportamiento de 3 grupos de pacientes frente a diferentes estrategias terapéuticas para el abordaje de úlceras venosas de miembros inferiores: el grupo A y B con 12 pacientes respectivamente corresponden a los datos obtenidos en un estudio previo no publicado realizado en el año 2006 y el grupo C conformado por 10 pacientes seleccionados mediante muestreo no probabilístico y por conveniencia que hayan aceptado participar en el estudio mediante la debida aceptación y firma del consentimiento informado.

Grupo	Número de Integrantes	Intervención Realizada
A	12	Tratamiento Convencional
B	12	Escleroterapia + Compresión + Antibióticos Tópicos y Cicatrizantes Comerciales
C	10	Escleroterapia + Compresión + Plasma Rico en Plaquetas

El trabajo contó con la aprobación del comité universitario de ética en la investigación humana Dr. José Matías Delgado, los resultados individuales son confidenciales y de uso exclusivo para esta investigación.

Valoración Inicial del Paciente

Toda persona que estuvo de acuerdo en pertenecer a este estudio mediante la aceptación del consentimiento informado, era conocedora de la realización de una entrevista y la toma de fotografías de sus miembros inferiores en cada una de las citas.

Intervención General

Cada paciente fue sujeto a una evaluación inicial que incluyó una entrevista orientada, llenado de formulario previamente establecido (anexo 5), examen físico completo, medición de los diámetros y toma de fotografía de la úlcera. Para el caso de visitas periódicas se midieron los diámetros promedio (anteroposterior,

transverso) de la úlcera con cinta métrica descartable y se llenó el formulario de control (anexo 6).

Intervención Grupo A

1. Se descubrió la úlcera, retirando los apósitos contaminados.
2. Se midió el diámetro de la úlcera y se evaluó si había infección sobreagregada.
3. Se realizó la curación de la úlcera con guantes estériles, se utilizó agua estéril y jabón yodado.
4. Se procedió a la debridación mecánica desde el centro a la periferia de la úlcera removiendo tejido necrótico.
5. Se lavó con solución salina.
6. Se aplicaron antibióticos tópicos, cicatrizantes tópicos o agentes que ayudan a la granulación del tejido
7. Se cubrió con apósitos estériles.
8. Se administraron analgésicos, antibióticos orales según el caso.

Este procedimiento se realizó semanalmente evaluando así el diámetro, tejido de granulación, etc.

Intervención Grupo B

Se realizó igual al procedimiento anterior + Terapia compresiva y escleroterapia.

1. Ya sea visita inicial o subsecuente, si el paciente lo necesitaba, se le realizaba debridación utilizando guantes descartables y bisturí. Posteriormente se realizó curación con pinzas, gasas estériles, agua estéril y jabón yodado, ejerciendo una debridación mecánica desde el centro a la periferia.
2. Se esclerosó todas las varices alrededor de la úlcera, pero sobre todo las que llegaban directamente a ésta. Este procedimiento se hizo con 2 productos TROMBOVAR® y AETOXIESCLEROL®, esclerosantes fuertes de vehículo acuoso. Es importante que el paciente refiera si hay dolor mientras se está aplicando el líquido endovenoso; ya que estos esclerosantes son indoloros cuando están en el lumen de la vena, si se extravasa causan dolor y además producirán una úlcera en todo el tejido que reciba dicho esclerosante.

Otros esclerosantes que se pueden utilizar son:

- Polidocanol 3% ® (Hidroxipolietoxidodecano).
- TAMPONNE 3% ® (Aethixysclerol) 60mg/ 2ml, caja 5 ampollas KREUSSLER PHARMAR.
- Scleremo: Glicerina Cromada 1.11% ampolla de 2cc I.V, caja 5 ampollas BAILLEUL BIORGA.

Se aplicaron en pequeñas cantidades de 1 a 3cc. Eliminando en cada consulta de 1 ó 2 várices, hasta eliminarlas todas en las consultas siguientes.

3. Luego se colocó en toda la superficie de la úlcera; una crema, pomada, gel o ungüento, estimulantes de la fase de granulación como los siguientes:

- Dexpantenol (Bepanthe®) crema 30g BAYER.
- Sufrexal (ketanserina®) gel 100g contiene: ketanserina 2g , excipientes c,b p. 100g tubo 78 g JASSEN.
- Acexamato de sodio (Recoveron®)ungüento contiene: acexamato de sodio 5g excipientes 100g caja tubo de 40g ARMSTRONG.
- Irujol® ungüento (peptidasas y se deriva del Clostridium histolyticum).
- Sastid jabon 100 g cada 100g contiene: Acido Salicilico 3.0 g, Azufre precipitado 10.0g, excipientes c.s.p. 100.0 g STIEFEL.

4. Al centro de la úlcera se aplicó un antibiótico de amplio espectro (líquido, crema o polvo), en forma tópica o intralesional en toda la extensión de la úlcera. El antibiótico de amplio espectro que se aplicó pudo ser cualquiera de los siguientes medicamentos:

- Aminoglucósido: Gentamicina o Amikacina(sulphato) Vijomikin 500 mg/ 2ml I.M. I.V solución inyectable.
- Quinolonas: Ofloxacina (floxstat) 400mg/ml caja de 1 ampolla con 10 ml I.M. solución inyectable JASSEN-CILAG. Ciprofloxacina suspensión 0.2g/ 100mg I.V. 100ml VIJOSA
- Mupirocina 2% ungento 22 g TEUA.
- Cefalosporina: Ceftriaxona 1gr, solución inyectable IM o IV.

5. La úlcera se cubrió completamente con apósitos estériles secos o gasas estériles. Si el contorno de la úlcera presentó dermatitis, eccema o maceración se aplicó crema a base de esteroides:

- Prednisona
- Dexametasona o betametasona

O cremas con mezclas de:

- Betametasona + clotrimazol y gentamicina (Triderm® crema o crema 30g crema, SAIMED 1.0mg gentamicina , 0.5mg betametasona, clotrimazol 10mg.

6. Se colocaron vendas elásticas ejerciendo compresión ascendente en el miembro afectado, iniciando desde la región plantar hasta debajo de la rodilla.

7. Se le proporcionó analgésicos antiinflamatorios y se citó al paciente cada semana para cambio de vendaje y curación de la úlcera.

Intervención Grupo C

Se procedió a la obtención de sangre autóloga y su posterior centrifugación, de la siguiente manera:

1. Se realizó asepsia y antisepsia de la zona de venopunción (vena de miembro inferior), se obtuvieron 20cc de sangre, posteriormente se centrifugó a 3600 r.p.m. por 5 minutos, se descartó el depósito de eritrocitos, luego se procedió a centrifugar nuevamente por 5 minutos, se retiró el excedente de eritrocitos.

2. Ya sea visita inicial o subsecuente, si el caso ameritaba, se realizaría debridamiento utilizando guantes descartables, y bisturí. Posteriormente se realiza curación con pinzas, gasas, agua estéril y jabón yodado, ejerciendo un debridamiento mecánico del centro a la periferia.

3. Se esclerosaron las varices alrededor de la lesión ulcerosa, concentrando la atención sobre aquellas que llegaban directamente a la úlcera mediante la inyección de cualquiera de estos 2 productos TROMBOVAR® y AETOXIESCLEROL®, esclerosantes fuertes de vehículo acuoso, verificando con el apoyo del paciente, la aparición de dolor que indicaría la inyección extraluminal y el posible apareamiento posterior de una úlcera en el tejido bañado por dicho esclerosante.

Otros esclerosantes que se pudieron utilizar son:

- Polidocanol 3% ® (Hidroxipolietoxidodecano).
- TAMPONNE 3% ® (Aethixysclerol) 60mg/ 2ml, caja 5 ampollas KREUSSLER PHARMAR.
- Scleremo: Glicerina Cromada 1.11% ampolla de 2cc I.V, caja 5 ampollas BAILLEUL BIORGA.
- Se aplicaron en pequeñas cantidades de 1 a 3cc. eliminando en cada consulta de 1 ó 2 varices, hasta eliminarlas todas en las consultas subsecuentes.

4. Posteriormente se procedió a la aplicación local en la úlcera por microinyección, de PRP activado con 0.5 cc cloruro de calcio al 10%.

5. La úlcera se cubrió completamente con apósitos estériles secos o gasas estériles y acolchonando esta zona con los apósitos.
6. Si en las posteriores consultas el contorno de la úlcera presentase dermatitis, eccema o maceración se aplicaría crema a base de esteroides:
 - Valerato de betametasona 0.1%, crema y ungüento, tubo de 15g. (Betaval)
7. Se colocaron vendas elásticas ejerciendo compresión ascendente en el miembro afectado, iniciando desde la región plantar hasta debajo de la rodilla.
8. Se le proporcionaron analgésicos antiinflamatorios.
9. Los pacientes se citaron cada semana para cambio de vendaje y curación de la úlcera. El vendaje solo fue retirado una vez por semana.
10. Desde la semana de inicio se realizaron mediciones de las úlceras de dos maneras: la primera: con una regla se midió el ancho y largo de la úlcera y la segunda forma colocando papel crema sobre la úlcera; se calcó el contorno de la úlcera (anexo 8), posteriormente se copió el contorno con papel carbón en papel milimetrado, para luego escanearlo, realizado dicho paso con el programa Jimage se sombreó el área calcada, para calcular dicha área se ajustó la escala de medición del programa ya que al ser papel milimetrado 1cm = 10 cuadros pequeños; habiendo ajustado la escala en Jimage, éste calcula el área sombreada obteniendo los cm^2 o área total de la úlcera.

Extracción y Procesamiento de Sangre y PRP Grupo C

Para el procesamiento de sangre completa y la obtención de PRP de cada uno de los participantes pertenecientes al grupo C se realizaron los siguientes pasos:

La cantidad de sangre total extraída de cada donante fue de 20 ml en una jeringa modificada de 20 ml impregnada en EDTA O CITRATO FOSFATO DEXTROSA, una vez extraída se retiró el émbolo y se colocó el tapón distal para la primera centrifugación (3600rpm x 5min) tras la que se elimina la capa de hematíes, seguido de una segunda centrifugación (3600rpm x 5min) que permitió separar una fracción de plasma pobre en plaquetas (PPP) correspondiente a la porción inferior, en volumen variable según la concentración celular que se deseaba obtener en el producto final, y la fracción restante de plasma rico en plaquetas

(PRP) se activó con 0.5cc de cloruro de calcio, luego se cambió la aguja por una aguja hipodérmica de 30g para su posterior aplicación en el borde de la úlcera.

Cada paciente fue monitorizado cada semana realizando la medición del área de úlcera mediante el calcado de la superficie con plástico estéril y su posterior análisis mediante técnica de escaneado digital y determinación de área total de la úlcera mediante el programa JImage, se describieron además las observaciones macroscópicas como tejido de granulación de la úlcera, aunado a la escleroterapia y vendaje compresivo cada semana según el procedimiento descrito en la sección anterior, hasta el cierre total de la misma.

Resultados

Los resultados expuestos describen dos secciones de la investigación; la primera de ellas referente a la validación de la técnica para la obtención de PRP comparando mediante conteo plaquetario automatizado 2 métodos factibles en el medio local (centrifugado simple y micropipetaje con el método propuesto Blenderfuge (CHERITA)) tomando como patrón de comparación los datos de un método validado en un escenario extranjero³⁶.

La segunda sección evalúa el efecto clínico en cuanto a velocidad de cierre y granulación de úlceras varicosas crónicas de miembros inferiores mediante la aplicación local del PRP obtenido mediante el metodología propuesta (CHERITA).

Obtención de PRP y comparación de métodos

La estandarización del método para la extracción de sangre y posterior recolección de plaquetas autólogas fue seleccionada en base a dos factores determinantes: el primero de ellos a las concentraciones plaquetarias más “elevadas” y el segundo en base a la factibilidad técnica para la obtención del producto final.

Las doce muestras sanguíneas fueron obtenidas de voluntarios sanos, y se dividieron en 3 tubos de 6ml: valor basal plaquetario (tubo 1) método de centrifugación simple más extracción de plasma rico en plaquetas con micropipetaje (tubo 2; cuadro 1), metodología blenderfuge(CHERITA) propuesta por el grupo investigador (tubo 3; cuadro 2); los cuadros 1, 2 muestran las concentraciones de valore obtenidos por cada método y su concentración con el nivel basal. El método 3 muestra estas mismas concentraciones, obtenidos de un método validado estándar³⁶.

Cuadro 1. Concentración de Plasma Rico Plaquetas obtenido por centrifugación simple y separación por micropipetaje (método 1).

Voluntarios	Sangre Completa	Centrifugación Simple más micropipetaje	Factor de aumento con respecto a la muestra basal
	Tubo 1	Tubo 2	
1	419,000	502,000	1.1
2	338,000	169,000	0.5
3	250,000	200,000	0.8
4	325,000	357,500	1.1
5	230,000	184,000	0.8
6	328,900	263, 120	0.8
7	395,800	356,220	0.9
8	295,500	295,500	1
9	290,900	203,630	0.7
10	256,000	307,200	1.2
11	325,000	422,000	1.3
12	400,000	520,000	1.3

n=12

Tomado de datos propios de laboratorio.

Cuadro 2. Concentración de Plaquetas obtenida mediante Blenderfuge (CHERITA) (método 2).

Voluntarios	Sangre Completa	Muestra procesada por Blenderfuge (CHERITA)	Factor de aumento con respecto a la muestra basal
	Tubo 1	Tubo 3	
1	419,000	938,000	2.24
2	338,000	319,000	0.94
3	250,000	439,000	1.76
4	325,000	536,000	1.65
5	230,000	413,000	1.80
6	328,900	657,800	2.00
7	395,800	695,000	1.76
8	295,500	620,550	2.10
9	290,900	436,350	1.50
10	256,000	422,400	1.65
11	325,000	585,000	1.80
12	400,000	840,000	2.10

N=12

Tomado de datos propios de laboratorio.

Cuadro 3. Concentración de Plaquetas obtenida mediante técnica de microscopía electrónica (método 3).

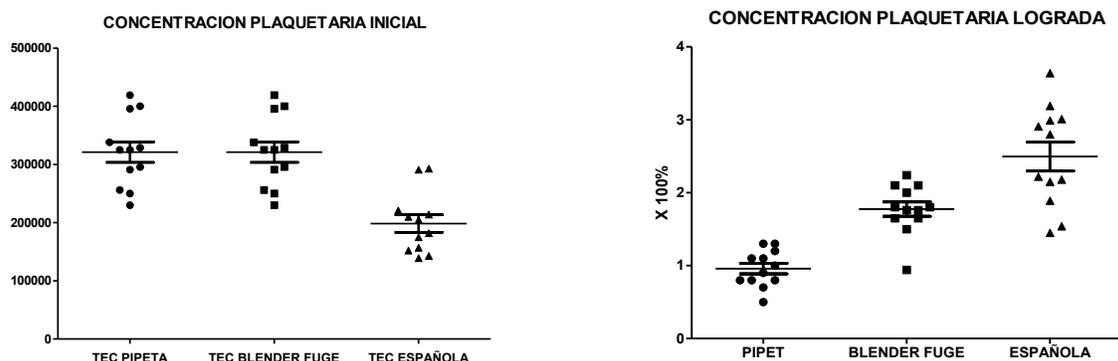
Voluntarios	Sangre Completa	Muestra procesada por Método Validado	Factor de aumento con respecto a la muestra basal
1	152,000	332,000	2.18
2	293,000	451,000	1.54
3	143,000	431,000	3.01
4	157,000	296,000	1.89
5	139,000	506,000	3.64
6	205,000	612,000	2.99
7	221,000	490,000	2.22
8	214,000	683,000	3.19
9	210,000	451,000	2.15
10	182,000	510,000	2.80
11	175,000	509,000	2.91
12	291,000	423,000	1.45

N =12

Tomado de: Estudio de microscopía electrónica y cuantificación de los factores de crecimiento mediante un nuevo procedimiento de obtención de plasma rico en plaquetas³⁶.

El test exploratorio inicial encontró una distribución normal (D'Agostino Pearson) la comparación de medias en cuanto a la efectividad para concentrar plaquetas según el método muestra una media del factor de concentración de 0.96, 1.77 y 2.5 para los métodos 1, 2 y 3 respectivamente. El análisis posterior de comparación múltiple encuentra diferencias significativas de los grupos 2 y 3 vs el grupo 1 $P < 0.05$ sin presentar una diferencia estadística significativa entre los métodos 2 y 3 (ilustración 1).

Ilustración 1. Concentración de plaquetas inicial vs Concentración plaquetaria alcanzada.



Nota: En las gráficas se distribuyen los valores según su media y desviación estándar.

La actividad biológica del plasma rico en plaquetas preparado mediante la técnica propuesta de Blenderfuge (CHERITA) fue estudiado mediante la comparación de un grupo de 10 pacientes con dos grupos previamente analizados¹⁸ (grupo convencional tratado en el ámbito hospitalario n=12 y grupo tratado mediante escleroterapia y medidas compresivas n=12).

Los datos generales de la población estudiada (34 pacientes) revelan una edad promedio de 60 años con límites inferiores y superiores de 27 y 85 años respectivamente, predominando entre el grupo estudiado el sexo femenino 97%, otros datos generales referentes a la naturaleza de los pacientes pueden verse en los cuadros 4, 5 y Anexo 3.

Cuadro 4. Datos Generales de la Población

Variables	Grupo A	Grupo B	Grupo C
Edad	x 53.5 (85-36)	x=59.8 (85-27)	x=66.1(76-53)
Sexo Femenino	100%	91.70%	100%
Sexo Masculino	0%	8.30%	0%
Localización de úlcera			
Maléolo interno	83.3%	16.7%	40%
Maléolo externo	16.7%	41.7%	30%
Cara anterior de la pierna	0%	25%	30%
Cara medial de la pierna	0%	8.3%	0%

Cara lateral de la pierna	0%	8.3%	0%
----------------------------------	----	------	----

Cuadro 5. Factores de Riesgo

Factores de Riesgo	Convencional	Escleroterapia	PRP
Paridad			
0	8%	0%	0%
<2	8.3%	8.3%	10%
>3	83.3%	91.60%	90%
Antecedentes Familiares			
Positivos	16.60%	50%	60%
IMC			
Desnutrición	16.7%	0%	0%
Normal	33.3%	41.7%	30%
Sobrepeso	8.3%	50%	40%
Obesidad	41.7%	8.3%	30%
Obesidad mórbida	0%	0%	0%

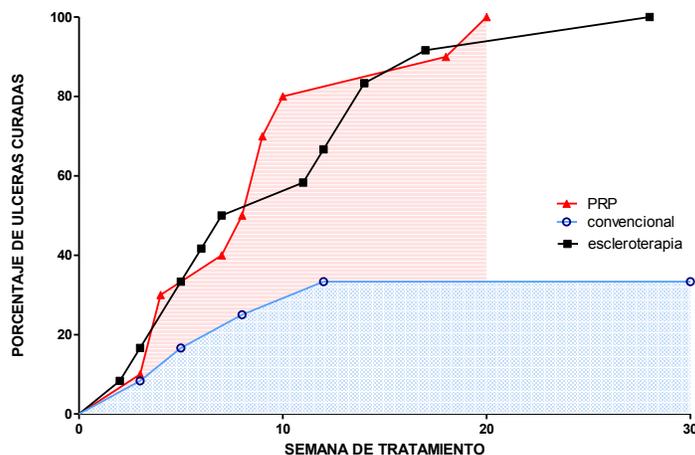
Dados los datos y adaptándose al control de las variables, el estudio de la comparativa grupal de la sumatoria de las áreas de las úlceras de los tres diferentes grupos pudo realizarse analizando las áreas existentes de inicio, semana 1, semana 4, semana 9 y semana de cierre o máximo hasta la semana 30; dichos datos mostraron una distribución normal mediante la prueba exploratoria de D'agostino Pearson, sin presentar diferencias estadísticas significativas en el área ulcerada al iniciar el tratamiento (ANOVA).

Los tres grupos exhibieron una tendencia a la disminución del área de la úlcera con respecto al tiempo sin mostrar diferencias estadísticamente significativas mediante el análisis intergrupo de ANOVA hasta la novena semana, impidiendo el análisis después de esta semana puesto que las cohortes facilitadas por el estudio de efectividad terapéutica solo contaba con dichos datos temporales (inicio, semana 1, semana 4, semana 9 y semana de cierre o máximo hasta la semana 30).

Con los escasos datos del grupo A y B se logró graficar las tendencias hasta la semana 30 o bien el dato de cierre de la úlcera para documentar la efectividad en base a el número de pacientes curados.

La influencia del tratamiento sobre las diferencias en el patrón de curación con respecto al tiempo fue analizada mediante el método Kaplan-Meier para estudiar la ocurrencia del evento “curación” en el tiempo, el resultado del test logrank resultó significativo $P=0.0026$ para los tres grupos, identificando posteriormente la diferencia mediante el mismo análisis; comparando el resto de grupos con el tratamiento convencional (Grupo A) $P= 0.0018$ y $P=0.0022$ para las comparaciones de escleroterapia (Grupo B) y PRP (Grupo C) cada una contra el tratamiento convencional; la comparación escleroterapia y PRP resultando no significativa (ilustración 2).

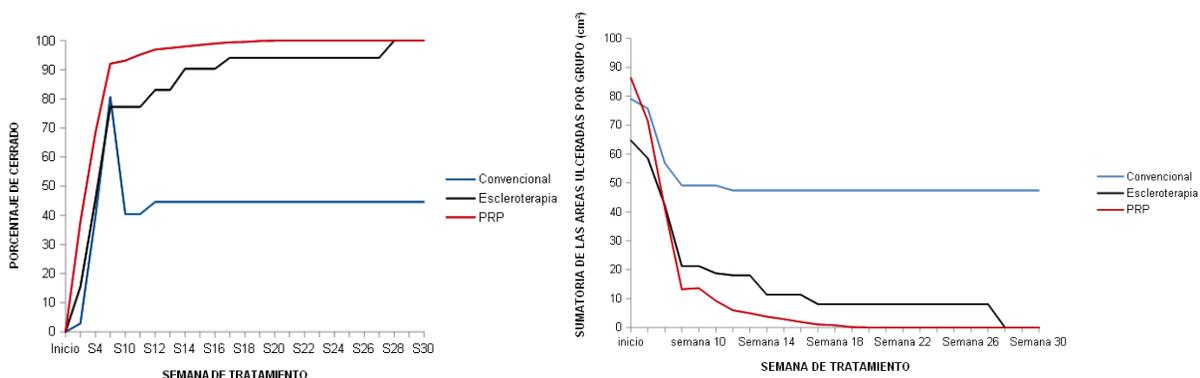
Ilustración 2. Porcentaje de curación/tiempo por grupo



Los cierres completos de úlceras fueron del 80%, durante la semana 10 para el grupo PRP, 60% para el grupo tratado con escleroterapia y un 30% para el tratamiento convencional, fue visible además un porcentaje de curación del 100% en la semana 20 para PRP, mientras que el grupo escleroterapia alcanza dicho porcentaje hasta la semana 28, y el grupo tratado mediante tratamiento

convencional presentó solo un porcentaje de curación total del 30% y en algunos de los pacientes fueron visibles las úlceras después de la semana 30 de tratamiento convencional.

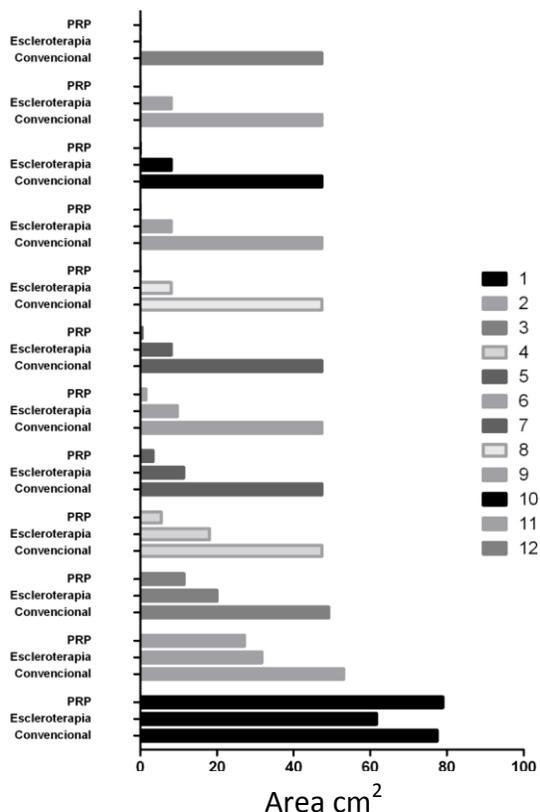
Ilustración 3. Porcentaje de reducción (cierre y evolución) del área ulcerada por semana.



NOTA: El porcentaje de reducción fue calculado mediante la sumatoria de las áreas ulceradas al inicio del estudio de los pacientes de cada grupo. Las mediciones subsecuentes permiten el cálculo de la recuperación o cerrado en base al porcentaje de tejido reparado mediante la planimetría de la lesión.

Ilustración 4: Comparativa de la reducción de la úlcera en el tiempo.

COMPARATIVA DE LA REDUCCION DEL AREA DE LA ULCERA EN EL TIEMPO



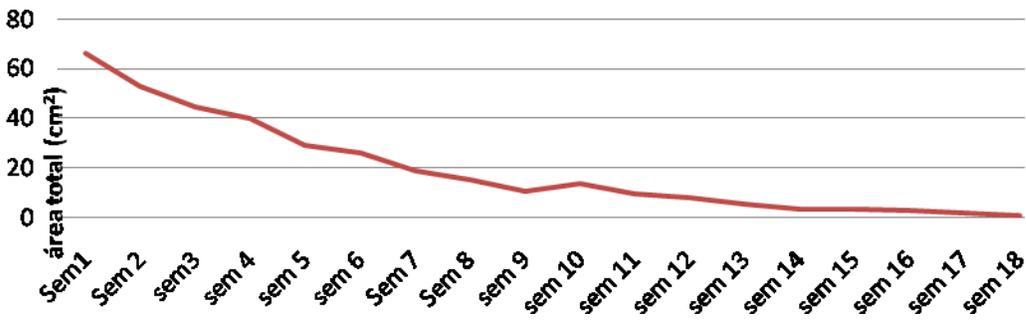
El patrón de granulación en los pacientes de los 3 diferentes grupos guarda una relación inversa con el fenómeno de cierre de la herida. (tabla 6).

Tabla 6. Granulación por semanas.

Tipo de Tratamiento	Semana 1	Semana 4	Semana 10	Semana 16	Semana 22	Semana 28
Grupo A	100%	91.70%	75%	66.7%	66.7%	66.7%
Grupo B	100%	83.30%	50%	8.30%	8.30%	0%
Grupo C	90%	70%	20%	20%	0%	0%

El cohorte de pacientes estudiados bajo la metodología propuesta de blenderfuge (CHERITA) presentó una tendencia global a la disminución si bien no muestra diferencias estadísticas significativas con respecto a la reducción del área de la úlcera hasta la semana 9 por ausencia de datos comparativos en la cohorte de tratamiento convencional y de escleroterapia, se puede describir en forma individual el progreso lineal del cierre de la úlcera, se exhiben fotogramas de 3 casos representativos del grupo C y su evolución histórica (Ilustración 5).

Ilustración 5. Reducción de área total semanal.



Semana	Semana	Semana	Semana	Semana
1	4	10	15	20



Discus



El método propues... xt... ,... manejo del Plasma Rico en Plaquetas (PRP) mediante el uso de blenderfuge (CHERITA) supone que éste es adecuado al entorno local, su eficacia fue demostrada alcanzando factores de concentración intermedios entre la extracción con micropipeta y el método propuesto por Perez Sierra³⁶ 0.96 y 2.5 respectivamente, el 1.77 obtenido como factor de concentración refleja diferencia estadística significativa con el método extracción con micropipeta (<0.05) ver gráfico 1, mientras que no hay diferencia al comparar el método estandarizado mediante centrifugación convencional frente Blenderfuge lo que permite validar el método como una técnica factible, eficaz e innovadora para la extracción y manejo de PRP pre-inyección; la evidencia en torno a la concentración plaquetaria es divergente, en un extremo Nageta et al³² condiciona la efectividad del plasma a una concentración de 300-400% del valor basal; mientras que Ficek et al.³⁷ documenta efectos en concentraciones de 4 a 5 veces mayores que los valores basales. Los límites inferiores para la efectividad son abordados por Mazzoca et al³³ quienes reportan efectos con concentraciones plaquetarias de 200×10^3 a 1000×10^3 xul y Anitua et al.³⁸, quienes describen efectos clínicos favorables con valores mayores de 300×10^3 plaquetas por microlitro, todos estos valores que refuerzan el efecto de PRP a concentraciones intermedias como

las obtenidas por el equipo investigador con un límite inferior de 319.000 plaquetas por microlitro.

Sabedores de la eficiencia del método se procedió a verificar su actividad biológica por medio de la efectividad clínica del plasma obtenido mediante blenderfuge (CHERITA), como opción terapéutica en pacientes con úlceras crónicas por enfermedad venosa de miembros inferiores, la comparación resultante de tres diferentes esquemas de tratamientos (Convencional, Escleroterapia y vendaje compresivo y PRP) identifica a PRP como una opción viable para el tratamiento.

El volumen de aplicación elegido de 20cc de sangre autóloga para la obtención de 2cc de PRP fue aplicado mediante inyección en el área ulcerada, cantidad descrita por Eppley y colaboradores ²⁸ quienes utilizaban como volumen de PRP un total del 10% del total de sangre extraída al paciente sin importar el área a tratar, por otro lado Liu et al³¹ asigna la cantidad de muestra y PRP de acuerdo al tamaño pero prefijando que solo un 10% del volumen total será extraído finalmente como PRP.

La aplicación de 2cc de PRP obtenido de sangre completa por el método blenderfuge (CHERITA) para aplicación local por inyección demuestra que dicho grupo de pacientes posee una curva de curación más temprana, tal y como se observa en los resultados obtenidos del análisis del método Kaplan-Meier.

Los 10 pacientes tratados con PRP, presentaron una sumatoria del área ulcerada inicial de 86.39 cm, para el grupo tratado mediante escleroterapia 64.75 cm² y 79.08 cm² para el grupo bajo tratamiento convencional, el cierre total de las úlceras se presentó en diferentes tiempos; PRP a la semana 20 (promedio de cierre 8.4 semanas), Escleroterapia a la semana 28, mientras el tratamiento Convencional al final del estudio había presentado un cierre de 33.3% (ilustración 3); así mismo se observó la presencia de granulación en los 3 tratamientos desde el inicio (tabla 6), tal y como describe Giuggioli et al³⁹. en su estudio con pacientes con úlceras crónicas por esclerodermia en donde se documenta granulación desde la primera aplicación de PRP.

A pesar de que escleroterapia y PRP logran el cierre completo de las úlceras, PRP consigue un cierre más temprano y por lo tanto, una disminución de complicaciones infecciosas, disconfort para el paciente y menor impacto económico. El tratamiento de plasma rico en plaquetas acelera el proceso de curación de úlceras venosas crónicas, tal y como se describe en algunos otros estudios como el de Dougherty et al.¹ quien comparó el PRP vs Gel Salina en

úlceras diabéticas que lograron un 81.3% de cierre en las primeras 12 semanas de tratamiento; de León et al.¹⁴ concluye que el tratamiento con PRP en úlceras traumáticas, diabéticas, por presión, por dehiscencia, quirúrgicas y úlceras venosas demostró un 50% de curación en las úlceras en un promedio de 2.2 semanas.

Conclusiones

El método propuesto por el grupo investigador es una técnica factible considerando la economía y la situación de un país en vías de desarrollo; además, es eficaz porque provee una concentración de plaquetas terapéutica, reproducible en este pre-experimento con la limitante que el proceso de recolección de sangre al ser tan artesanal presenta dificultades en la manipulación de las herramientas utilizadas, a diferencia de otros métodos automatizados, pero de alto costo, como los materiales especiales para la centrifuga convencional, con una mejor tecnología que provee resultados más precisos.

Los resultados terapéuticos del PRP superan a los tratamientos médicos convencionales utilizados para el tratamiento de úlceras venosas, en cuanto a tiempo de curación, aunque sí se presentó granulación en todos los grupos desde el inicio del tratamiento.

Recomendaciones

- Mejorar el método de extracción y procesamiento de PRP con Blenderfuge (CHERITA), haciéndola más práctica y segura para su manejo.
- Se recomienda a futuros investigadores realizar más ensayos clínicos con PRP y buscar otras aplicaciones en las distintas áreas de la medicina.
- Implementar la aplicación clínica del PRP en países en vías de desarrollo, creando protocolos para la obtención y manejo de este.

Bibliografía

- ¹ Dougherty, E. J. An evidence-based Model Comparing the Cost-effectiveness of Platelet Rich Plasma Gel to Alternative Therapies for Patients with Nonhealing Diabetic Foot Ulcers. *Adv skin Wound Care* [Internet]. 2008 Dec [citado 2012 Jul 10];21(12):573. Disponible en: <http://journals.lww.com/aswcjournal/pages/articleviewer.aspx?year=2008&issue=12000&article=00007&type=abstract> Suscripción para artículo completo. Citado en: PubMed; PMID 19065083.
- ² Panier F, Rabe E. Relevance of Natural History of Varicose Veins and Refunded Care. *Phlebology* [Internet]. 2012 Mar [citado 2012 Apr 22];27 Suppl 1:23-6. Disponible en: http://hinari-gw.who.int/whalecomphleb.rsmjournals.com/whalecom0/content/27/suppl_1/23.long Review Suscripción para artículo completo. Citado en: PubMed; PMID 22312063.
- ³ Aguilar L. Trastornos Circulatorios de las Extremidades Inferiores(I). Clasificación, Epidemiología, Fisiopatología, Clínica y Complicaciones. *OFFARM*[Internet]. 2003 Oct [citado 2012 Apr 22];22(9):94-104. Disponible en: http://apps.elsevier.es/watermark/ctl_servlet?_f=10&pident_articulo=13053132&pident_usuario=0&pident_revista=4&fichero=4v22n09a13053132pdf001.pdf&ty=18&accion=L&origen=doymafarma&web=www.doymafarma.com&lan=es Artículo Completo Gratis.
- ⁴ Arenas R. *Atlas de Dermatología Diagnóstico y Tratamiento*. 3^a ed. México: McGraw-Hill Interamericana; c2010. Capítulo 1, La Piel; p.10.
- ⁵ Nelson E. Venous Leg Ulcers. *Clin Evid* [Internet]. 2011 Dic 21[citado 2012 Apr 22];2011. pii: 1902. Disponible en: <http://www.clinicalevidence.bmj.com/x/systematic-review/1902/archive/12/2011.html>. Citado en: PubMed; PMID 22189344.
- ⁶ Morimoto N, Yoshimura K, Niimi M, Ito T, Tada H, Teramukai S, Murayama T, Toyooka C, Takemoto S, Kawai K, Yokode M, Shimizu A, Suzuki S. An Exploratory Clinical Trial for Wound Therapy with a Novel Medical Matrix and Fibroblast Growth Factors in Patients with Chronic Skin Ulcer; a Study Protocol. *Am J Transl Res* [Internet]. 2012 [citado 2012 Apr 22];4(1): 52-59. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3276377/pdf/ajtr0004-0052.pdf> Artículo Completo Gratis. Citado en: PubMed PMID: 22347522; PubMed Central PMCID: PMC3276377.
- ⁷ Moore K, Dalley A. *Anatomía con Orientación Clínica*. 4^{ta} ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana; c2004; Capítulo 5, El Miembro Inferior; p.535-7.
- ⁸ Klingsmith, M., Chen, L., Glasgow, S., Goers, T., Melby, S. "The Washington Manual of Surgery". 5^{ta} ed. St. Louis Missouri, USA: Lippincott Williams & Wilkins; c2008; Capítulo 20, Enfermedad Venosa, Tromboembolismo y Linfedema; p. 328.
- ⁹ Guyton A, Hall J. *Tratado de Fisiología Médica*. 10^a ed. D.F, México: McGraw-Hill Interamericana; c2001; Capítulo 15, La Circulación; p.191-3.
- ¹⁰ Perez L, De Castro S. *Manual de Patología General*. 6^a ed. Barcelona, España: Elsevier; c2000; Capítulo 34, Fisiopatología de la circulación de las extremidades; p. 288-290.
- ¹¹ Alvarado, R. *Ulcera Venosa de la Pierna; Modernos Conceptos sobre Etiología y Tratamiento*. 1^a ed.. San José, C.R.: Edit. de la Univ. de Costa Rica, 1997; capítulo II, úlceras de pierna; p. 30-31
- ¹² Velasco M. Aspectos Diagnósticos y Terapéuticos de las Úlceras de las Piernas. *ActasDermosifiliogr* [Internet]. 2011[citado 2012 Apr 22]; 30(20):1-10. Disponible en: [http://www.elsevier.es/sites/default/files/elsevier/eop/S0001-7310\(11\)00276-6.pdf](http://www.elsevier.es/sites/default/files/elsevier/eop/S0001-7310(11)00276-6.pdf) Artículo Completo Gratis. DOI:10.1016/j.ad.2011.05.005
- ¹³ Gloviczki P, Comerota AJ, Dalsing MC, Eklof BG, Gillespie DL, Gloviczki ML, Lohr JM, McLafferty RB, Meissner MH, Murad MH, Padberg FT, Pappas PJ, Passman MA, Raffetto JD, Vasquez MA, Wakefield TW; Society for Vascular Surgery; American Venous Forum. The Care of Patients with Varicose Veins and Associated Chronic Venous Diseases; *Clinical Practice*

Guidelines of the Society for Vascular Surgery and the American Venous Forum. J Vasc Surg [Internet]. 2011 May [citado 2012 Apr 22];53(5 Suppl):2s-48s. Disponible en: <http://hinari-gw.who.int/whalecomwww.sciencedirect.com/whalecom0/science/article/pii/S0741521411003272>

Artículo Completo Gratis. Citado en: PubMed; PMID 21536172.

¹⁴ de Leon JM, Driver VR, Fyelling CP, Carter MJ, Anderson C, Wilson J, Dougherty RM, Fuston D, Trigilia D, Valenski V, Rapp L. The Clinical Relevance of Treating Chronic Wounds with an Enhanced Near-

Physiological Concentration of Platelet-Rich Plasma Gel. Adv Skin Wound Care [Internet]. 2011 Aug [citado 2012 May 16];24(8):357-68. Disponible en: <http://journals.lww.com/aswcjournal/pages/articleviewer.aspx?year=2011&issue=08000&article=0006&type=abstract> Suscripción para artículo completo. Citado en: PubMed; PMID: 21768787.

¹⁵ Beidler SK, Douillet CD, Berndt DF, Keagy BA, Rich PB, Marston WA. Inflammatory cytokine levels in chronic venous insufficiency ulcer tissue before and after compression therapy. J Vasc Surg [Internet]. 2009 Apr [citado 2012 May 16];49(4):1013-20. Disponible en: [http://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214\(08\)01981-2/fulltext](http://www.jvascsurg.org/article/S0741-5214(08)01981-2/fulltext) Artículo Completo Gratis. Citado en: PubMed; PMID: 19341889.

¹⁶ Rudolph D. Standards of care for venous leg ulcers: compression therapy and moist wound healing. J Vasc Nurs [Internet]. 2001 Mar [citado 2012 May 16];19(1):20-7. Disponible en: <http://hinari-gw.who.int/whalecomwww.sciencedirect.com/whalecom0/science/article/pii/S1062030301069254>

Review. Suscripción para artículo completo. Citado en: PubMed; PMID: 11251936.

¹⁷ Brunnicardi F, Andersen D, Billiar T, Dunn D, Hunter J, Pollock R. *Schwartz Principios de Cirugía* 8ª ed. Vol. 1, D.F, México: McGrawHill Interamericana; c2007 Capítulo 23, Enfermedad Venosa y Linfática; p. 823-7.

¹⁸ Turcios J, Cruz C. Beneficios del Tratamiento Ambulatorio Compresivo y con Escleroterapia de Ulceras Venosas en Miembros Inferiores comparado con el Tratamiento Hospitalario Convencional. [Tesis]. [Nueva San Salvador (LL)]: Universidad Dr. José Matías Delgado; 2006. 101.p

¹⁹ Scottish Intercollegiate Guidelines Network. Management of chronic venous leg ulcers [Internet]. Edinburgh (UK): National Institute for Health and Clinical Excellence; 2010 Aug [citado 2012 May 16]. Disponible en: <http://www.sign.ac.uk/guidelines/fulltext/120/index.html>

²⁰ Quatresooz P, Kharfi M, Paquet P, Vroome V, Cauwenbergh, G, Piérard GE. Healing Effect of Ketanserin on Chronic Leg Ulcers in Patients with Diabetes. J Eur Acad Dermatol Venereol [Internet]. 2006 Mar [citado 2012 May 16];20(3):277-81. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.14683083.2006.01422.x/abstract;jsessionid=74476A834D61C814BB30AE735C4BA3BA.d01t03> Suscripción para artículo Completo. Citado en: PubMed; PMID: 16503887.

²¹ Dissemond J, Schmid EN, Esser S, Witthoff M, Goos M. [Bacterial colonization of chronic wounds: Studies on outpatients in a university dermatology clinic with special consideration of ORSA].

Hautarzt [Internet]. 2004 Mar [citado 2012 May 16];55(3):280-8. German. Disponible en: <https://springerlink3.metapress.com/content/ub1q9vhfe7x3eft4/resource-secured/?target=fulltext.html&sid=a1hhw2f02gkpaj0rqhwrvnoo&sh=www.springerlink.com>

Suscripción para Artículo Completo. Citado en: PubMed; PMID: 15029435.

²² Howell-Jones RS, Wilson MJ, Hill KE, Howard a J, Price PE, Thomas DW. A Review of the Microbiology, Antibiotic Usage and Resistance in Chronic Skin Wounds. J Antimicrob Chemother [Internet]. 2005 Feb [citado 2012 May 16];55(2):143-9. Disponible en: <http://jac.oxfordjournals.org/content/55/2/143.full.pdf+html> Artículo Completo Gratis. Review. DOI:10.1093/jac/dkh513. Citado en: PubMed; PMID: 15649989.

²³ O'Meara S, Al-Kurdi D, Ologun Y, Ovington LG. Antibiotics and antiseptics for venous leg ulcers Cochrane Database Syst Rev [Internet]. 2010 Jan [citado 2012 May 16];20(1):CD003557. Disponible

en:<http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1002/14651858.CD003557.pub3/asset/CD003557.pdf?v=1&t=h4p5zb7y&s=03ce9ae7d0238e39ef090c5194ce953e67977c1f> Artículo Completo Gratis. Review. Citado en: PubMed; PMID: 20091548.

²⁴ Jones RH, Carek PJ. Management of varicose veins. *Am Fam Physician* [Internet]. 2008 Dec [citado 2012 May 16];78(11):1289-94. Disponible en: <http://www.aafp.org/afp/2008/1201/p1289.html> Artículo Completo Gratis. Review. Citado en: PubMed; PMID: 19069022.

²⁵ Khunger N, Sacchidanand S. Standard guidelines for care: Sclerotherapy in dermatology. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* [Internet]. 2011 Mar-Apr [citado: 2012 May 10];77(2):222-31. Disponible en: <http://www.ijdvl.com/article.asp?issn=0378-6323;year=2011;volume=77;issue=2;spage=222;epage=231;aulast=Khunger> Artículo Completo Gratis. Citado en: PubMed; PMID: 21393966.

²⁶ Collins L, Seraj S. Diagnosis and Treatment of Venous Ulcers. *Am Fam Physician* [Internet]. 2010 Apr 15 [citado: 2012 May 10];81(8):989-96. Disponible en: <http://www.aafp.org/afp/2010/0415/p989.html> Artículo Completo Gratis. Artículo Citado en: PubMed; PMID: 20387775.

²⁷ Kon E, Filardo G PRP or not PRP? That is the question. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* [Internet]. 2011 Apr 16 [citado: 2012 May 10];19(6):870-1. Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/dq627q1378522036/fulltext.pdf> Artículo Completo Gratis. Citado en: PubMed; PMID: 21499741.

²⁸ Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a Review of Biology and Applications in Plastic Surgery. *Plast Reconstr Surg* [Internet]. 2006 Nov [citado: 2012 May 10];118(6):147e-159e. Disponible en: <http://hinari-gw.who.int/whalecomovidsp.tx.ovid.com/whalecom0/sp-3.5.1a/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=fulltext&D=ovft&AN=00006534-200611000-00030&NEWS=N&CSC=Y&CHANNEL=PubMed>

Suscripción para Artículo Completo. Review. Citado en: PubMed; PMID: 17051095.

²⁹ Kon, E., Filardo, G., Di, A., & Maurilio, M. (2011). Platelet-rich plasma (PRP) to treat sports injuries □ : evidence to support its use *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* [Internet]. 2010 Nov [citado: 2012 May 10];19(4):516-27. Disponible en: <http://www.springerlink.com/content/6057604777x24431/> Suscripción para Artículo Completo. Review. Citado en: PubMed; PMID: 21082164.

³⁰ Triulzi DJ, Ness PM. Intraoperative hemodilution and autologous platelet rich plasma collection: two techniques for collecting fresh autologous blood. *Transfus Sci* [Internet]. 1995 Mar [citado: 2012 May 10];16(1):33-44. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/095538869400058R> Suscripción para Artículo Completo. Review. Citado en: PubMed; PMID: 10172465.

³¹ Liu J, Yuan T, Zhang C. Three cases using platelet-rich plasma to cure chronic soft tissue lesions. *Transfus Apher Sci* [Internet]. 2011 Oct [citado: 2012 May 10];45(2):151-5. Disponible en: Citado en: [http://www.trasci.com/article/S1473-0502\(11\)00128-5/abstract](http://www.trasci.com/article/S1473-0502(11)00128-5/abstract) Suscripción para Artículo Completo. PubMed; PMID: 21907002.

³² Nageta MJ, Messoria MR, Furlaneto FA, Fucini SE, Bosco AF, Garcia VG, Deliberador TM, de Melo LG. [Effectiveness of two methods for preparation of autologous platelet-rich plasma: an experimental study in rabbits.](#) *Eur J Dent* [Internet]. 2010 Oct [citado: 2012 May 10];4(4):395-402. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2948740/?tool=pubmed> Artículo Completo Gratis. Citado en: PubMed; PMID: 20922159; PubMed Central PMCID: PMC2948740.

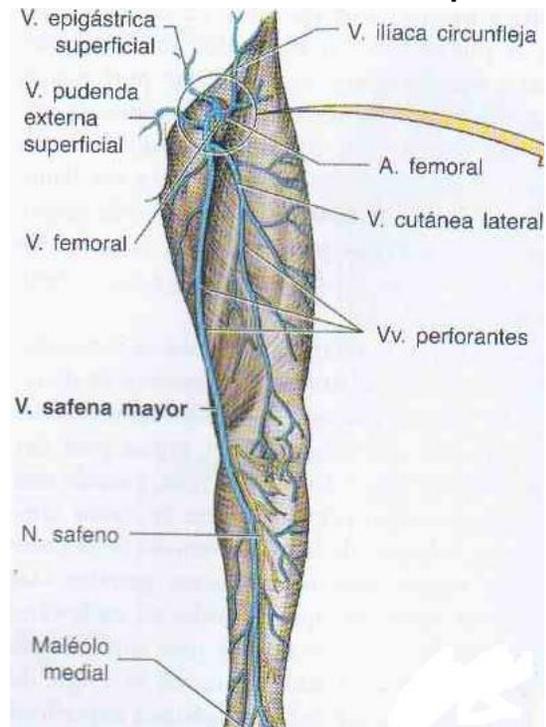
³³ Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowanec DM, Cote MP, Romeo AA, Bradley JP, Arciero RA, Beitzel K. Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am* [Internet]. 2012 Feb [citado: 2012 May 10];94(4):308-16. Disponible en: <http://jbj.org/article.aspx?volume=94&page=308> Artículo Completo Gratis. Citado en: PubMed; PMID: 22336969.

- ³⁴ Langsdorf, A. Teoría de las máquinas de corriente alterna. 2ª ed. España: McGraw-Hill;1967. Capítulo 4, Principios fundamentales de las máquinas giratorias; p.186-192.
- ³⁵ Harris, Eva. A Low Cost Approach to PCR, Appropriate Transfer of Biomolecular Techniques. New York: Oxford University Press; 1998. Appendix A, Construction of Laboratory Equipment; p. 223-224.
- ³⁶ Antonio Lorente Perez-Sierra, Estudio de microscopía electrónica y cuantificación de los factores de crecimiento mediante un nuevo procedimiento de obtención de plasma rico en plaquetas (tesis). (Madrid): Universidad complutense de Madrid; 2010.154p.
- ³⁷ Ficek, K., Kamiński,T., Wach, E., Cholewiński, J., Ciężczyk, P. Application of Platelet Rich Plasma in Sports Medicine. J of Human Kinetics[Internet].2011 Dic. [Citado: 2013 Enero 21]; 30: 85-97. Disponible en <http://www.johk.pl>.
- ³⁸ Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb Haemost [Internet]. 2004 Enero. [Citado: 2013 enero 21]; 91: 4-15.
- ³⁹ Giuggioli D, Colaci M, Manfredi A, Mariano M, Ferri C. Platelet gel in the treatment of severe scleroderma skin ulcers. Rheumatol Int. [Internet]. 2011 Jul 27 [citado: 2012 Octubre 10]; 32(9):2929-32. Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00296-011-2038-0> Citado en: PubMed; PMID: 21792645.

Anexos

Anexos

Anexo 1: Sistema Venoso Superficial



Anexo 2: Válvulas venosas

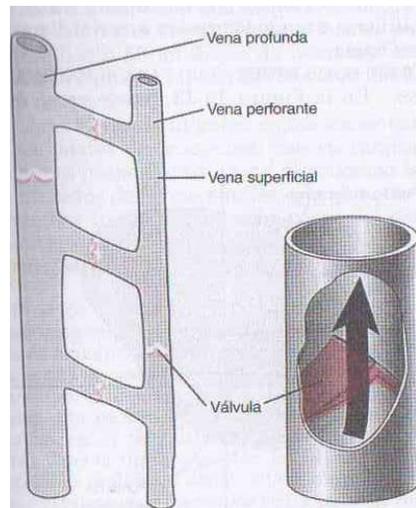


FIGURA 15-11. Válvulas venosas de la pierna.

ANEXO 3: VALORACION INICIAL DEL PACIENTE

TODA PERSONA QUE ESTE DEACUERDO EN PERTENECER A ESTE ESTUDIO TIENE EL CONOCIMIENTO QUE SE LE HARÁ UNA ENTREVISTA, SE LE TOMARA FOTOGRAFIAS DE SUS MIEMBROS INFERIORES Y SE LE SOLICITARA QUE SEA CONSTANTE EN SUS CITAS.

Nombre: _____

Fecha: ____/____/____ Hora: _____
 dd mm aa

Edad: _____ Sexo: Masculino () Femenino ()

Procedencia: _____

Peso: _____ lbs. Talla: _____ mts IMC _____ kg/mts² SC

Registro: _____

MOTIVO DE LA CONSULTA:

Ulcera : Si () No () MID () MII ()
Pie () Pantorrilla () Pierna () Muslo ()

EVOLUCION DE LA ENFERMEDAD

Años _____ Meses _____ Días _____

ANTECEDENTES FAMILIARES

FACTORES DESENCADENATES

Antecedentes Gineco-Obstétricos: G: _____ P: _____ A: _____

Aparición de patología venosa relacionada con:

Embarazo: Si _____ No _____

Planificación con A. Orales: Si _____ No _____

Tiempo: Años: _____ Meses: _____

Obesidad: Si _____ No _____ Talla: _____ Peso: _____

Oficio: _____

Posición de Pie: _____ horas en el día que permanece en esa posición.

Posición Sentado: _____ horas en el día que permanece en esa posición.

ANTECEDENTES PERSONALES

Primer episodio Si () No () año _____ Mes _____

Tratamiento médico recibido con anterioridad:

Ambulatorio: _____

Hospitalizado: _____

Tiempo laboral incapacitado: Días: _____ Meses: _____ Años: _____

Realiza ejercicio: Si () No () ¿Cuál? _____

EXAMEN FISICO

T.A. _____ mmHg

Pulso: _____ xmin

Signos clínicos positivos:

Examen Físico de Miembros Inferiores:

Edema: Si () No () MID () MII ()

Localización: _____

Cambios Tróficos de la Piel: Si () No () MID () MII ()

Localización: _____

Dilataciones Varicosas Si () No () MID () MII ()

Territorio: VSI () VSE () MID () MII ()

Localización:

Pierna:

- MID _____
- MII _____

Muslo:

- MID _____
- MII _____

Pie:

- MID _____
- MII _____

Eczema Si () No () MID () MII ()

Hipertermia Si () No () MID () MII ()

Perímetros:

Perímetros	Pierna	Muslo
1/3 superior		
1/3 medio		
1/3 inferior		

Úlcera: Si () No () MID () MII ()

Infección sobre agregada: Si () No ()

Bordes Regulares: _____ Irregulares: _____

Estado inicial:

Granulación: _____ Epitelización: _____

Cultivo: Si () No () Resultado: _____

Diámetro de Úlcera (inicio de tratamiento):

Pruebas Clínicas: (+) (-)
Prueba de Trendelenburg _____

Pulsos Arteriales MID MII
Femoral N__ D__ A__ N__ D__ A__
Poplíteo N__ D__ A__ N__ D__ A__
Tibial Posterior N__ D__ A__ N__ D__ A__
Pedio N__ D__ A__ N__ D__ A__
Peroneo N__ D__ A__ N__ D__ A__

++ N (normal) +D (Disminución) 0 – A (Ausente)

Exámenes de Laboratorio

Tratamiento Médico:

Quirúrgico:

Nombre y firma de Médico:

Firma de paciente : _____

Anexo 4: Formulario de Control

Nombre de Paciente

Registro _____

Fecha	Inicio			
Diámetro úlcera				

Granulación				
Prurito				
Edema				
Infección				

Anexo 5: Consentimiento Informado

Yo _____ de _____ años de edad, de
oficio _____, del _____ domicilio
de _____,
portador del documento único de identidad número _____, por este
medio, en pleno uso de mis facultades mentales, declaro que acepto participar en
la investigación **“Validación de una Metodología para la obtención de de
Plasma Rico en Plaquetas en El Salvador”**, por lo que permito que se me
extraiga mi propia sangre y partir de ella se obtenga plasma rico en plaquetas y
que se me sea aplicado en mis úlceras venosas, habiéndoseme explicado y
mostrado el procedimiento, estoy dispuesto a participar en dicho estudio, y excluyo
al equipo Investigador de los posibles riesgos y complicaciones, san salvador
_____de _____dos mil doce

Anexo 6: Blenderfuge (CHERITA)



Anexo 7: jeringa modificada para centrifugar y procesar sangre completa.



Anexo 8: Medición del área ulcerada.



Anexo 9: Costos

	Nombre del Recurso	Tipo	Coste	Calendario Base
1	Seminario de Graduacion	Trabajo	\$70/h	Estándar
2	Anticoagulante	Material	\$15	Estándar
3	Jeringas	Material	\$60	Estándar
4	Agujas 30	Material	\$5	Estándar
5	Jeringas de Insulina	Material	\$3	Estándar
6	Tornillos de embolo mas tuerca	Material	\$4	Estándar
7	Tuercas	Material	\$0.72	Estándar
8	Calcio	Material	\$10	Estándar
9	Alcohol	Material	\$10	Estándar
10	Algodon	Material	\$5	Estándar
11	Licuadora	Material	\$60	Estándar
12	Nipple Gal soporte de embudo	Material	\$0.29	Estándar
13	Dimmer	Material	\$5.9	Estándar
14	Polidiaxepoxido	Material	\$3.9	Estándar
15	Guantes	Material	\$6	Estándar
16	Cinta aislante	Material	\$1.5	Estándar
17	Conteo de plaquetas Laboratorio	Material	\$57.98	Estándar
18	Copia de ficha de paciente	Material	\$1	Estándar
19	Esterilizacion de material	Material	\$20	Estándar
20	Transporte	Material	\$35	Estándar
21	Reunion con Acesor	Trabajo	\$3/h	Estándar
22	Reunion para arreglo de protocolo	Trabajo	\$3/h	Estándar
23	Liquido esteril	Material	\$1	Estándar
24	Soporte de tubos	Material	\$1.5	Estándar
25	Cinta aislante	Material	\$0.6	Estándar
26	Total	Material	\$348.39	Estándar

Anexo 10: Cronograma

	Nombre	Duración	Inicio	Fin
1	FASE I - SEMINARIO DE GRADUACION Y CREACION DEL PROYECTO	70d	05/03/2012	08/06/2012
2	Busqueda de Informacion	40d	09/01/2012	02/03/2012
3	Reunion para realizacion de tareas	1d	06/02/2012	06/02/2012
4	Realizacion de instrumental para centrifuga	27d	17/02/2012	26/03/2012
5	Inicio de Marco teorico	7d	09/03/2012	19/03/2012
6	Primer Prueba piloto	1d	02/03/2012	02/03/2012
7	Segunda Prueba piloto	1d	20/04/2012	20/04/2012
8	Compra de Materiales	7d	30/04/2012	08/05/2012
9	Entrega de Protocolo	1d	11/05/2012	11/05/2012
10	FASE II ESTUDIO FASE EXPERIMENTAL Y OBTENCION DE DATOS	120d	07/05/2012	19/10/2012
11	Inicio de fase experimental	1d	07/05/2012	07/05/2012
12	Revision y ajuste de Protocolo	1d	01/06/2012	01/06/2012
13	Recoleccion de primeros datos	1d	06/07/2012	06/07/2012
14	Metodologia spss	1d	08/06/2012	08/06/2012
15	Edicion de fotografia	7d	02/07/2012	10/07/2012
16	Realizacion Anexos	20d	31/05/2012	27/06/2012
17	Revision de Protocolo	120d	07/05/2012	19/10/2012
18	FASE III TESIS DOCTORAL ENTREGA Y DEFENSA	60d	25/10/2012	16/01/2013
19	Recoleccion de datos	4d	25/10/2012	30/10/2012
20	Resultados Creacion de graficos y analisis de datos	7d	25/10/2012	02/11/2012
21	Discucion	2d	29/10/2012	30/10/2012
22	Conclusion	2d	29/10/2012	30/10/2012
23	Presentacion	60d	28/09/2012	20/12/2012
24	Revision de Tesis	7d	29/10/2012	06/11/2012
25	Entrega al comite	1d	02/11/2012	02/11/2012
26	Defensa	1d	14/12/2012	14/12/2012

Anexo 11: Fotografías de Pacientes tratados con PRP

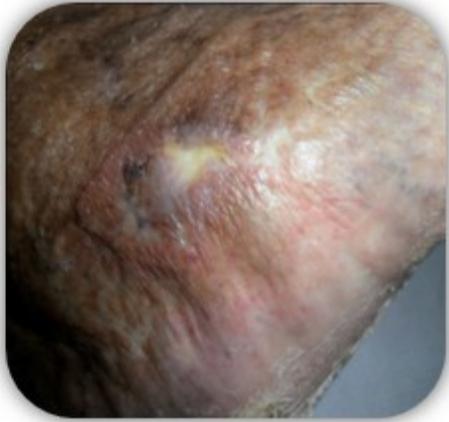


P A C I E N T E (1)



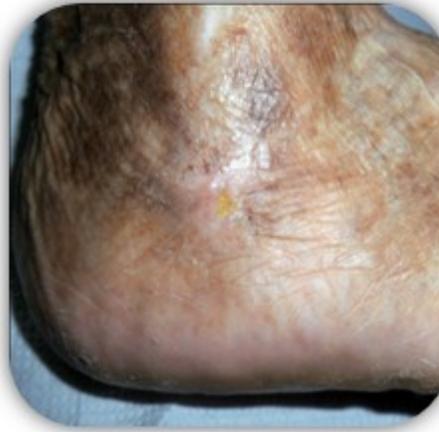
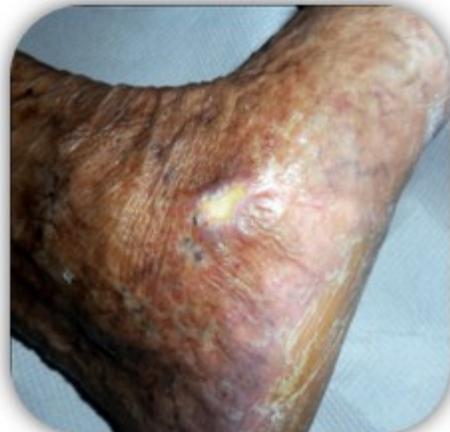
P A C I E N T E (2)





P A C I E N T E (3)





P A C I E N T E (4)



P A C I E N T E (5)



P A C I E N T E (6)

Camila
ma



P A C I E N T E (7)



P A C I E N T E (8)

□



P A C I E N T E (9)





P A C I E N T E (10)