



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN
TRABAJO DE GRADO II



**MORFOLOGÍA PLAQUETARIA DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS
(PRP), COMBINADO CON UN CÓCTEL ANTIAGING. ESTUDIO *IN VITRO***

Autoras:

María Gabriela Ocanto Duarte

Isabel Virginia Salazar Ruíz

Tutora:

Dra. Nancy Díaz de Villabona

Cotutora:

MSc. Anajulia González

Mérida, junio 2019.

AGRADECIMIENTO

A Dios todopoderoso, por ser mi guía en este trayecto de conocimientos, sabiduría, fortaleza y mucha fe en lograr cumplir esta meta y por las que aún faltan por iniciar en este sendero de la ciencia.

A la Ilustre Universidad de los Andes ULA, por abrir sus puertas hacia las nuevas oportunidades el cual recibí con cariño la educación profesional y la dicha de ser lo que soy hoy.

A la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, por recibirme y ser parte de la Escuela de Bioanálisis, obtener el conocimiento básico y profesional.

A la Facultad de Odontología, por ser miembro de la familia del Laboratorio del Centro de Investigaciones Odontológicas y obtener gran parte del conocimiento de esta investigación.

A las Profesoras Nancy Díaz de Villabona y Anajulia González, quienes me dieron la iniciativa de la presente investigación, el apoyo, la dedicación sin descanso, la paciencia y por ser perseverantes hasta el final. Mil gracias por todo sus consejos y sabiduría que recibí con mucho cariño las quiero mucho.

A mis Padres (María Aurora Duarte y Helviz José Ocanto), quienes me apoyaron y me impulsaron a ser mejor cada día para lograr mis objetivos de vida, recibiendo sus consejos, fortalezas y confianza en mí para ser la persona que soy ahora.

A mis Hermanos (María Alejandra y Helviz José), quienes me dieron ese ejemplo a seguir como profesionales, sus luchas, esfuerzos y mucha fe en todo momento, los extraño mucho

A mi compañera y amiga, Isabel Virginia Salazar Ruíz quien me acompañó en este proyecto desde el principio de la carrera hasta el final y por ser mi amiga y compañera de tesis, gracias por tus consejos y entusiasmo para poder culminar nuestro objetivo.

A la familia Sulbaran Bracamonte, María de Sulbaran, Nestor Sulbaran y Marian Sulbaran, quienes me dieron el calor familiar y me recibieron como parte de ellos. El amor, consejo y preocupación que me demostraron cada uno de ustedes.

A mis hermanos que me regaló Mamá ULA, Kuinderlly, Bexibel, Maryory, Dayalba, Anly, Neyra, Guis, Violeta, Maikel Diana, Yilia, Daniel, Juan y Ali quienes estuvieron presente en mis pasos y a pesar que ya pronto nos distanciamos siempre los tendré en mi corazón y nunca los olvidare.

A mis familiares Tíos y Primos, quienes estuvieron presentes en mi proyecto de vida.

AGRADECIMIENTO

A Dios todopoderoso; Espíritu Santo, a la Virgen Santísima del Carmen, Santa Rita de Casia, por ser mis protectores y guías, por iluminarme y darme el entendimiento e inspirar mi espíritu para la culminación de esta tesis.

A la Ilustre Universidad de los Andes, Facultad de Bioanálisis, por aceptarme como su alumna e inculcar en mí educación de calidad, permitiéndome alcanzar esta meta tan anhelada.

A la Facultad de Odontología; al Departamento de Ciencias de Investigaciones Odontológicas, por cedernos sus espacios en la realización teórico-práctico de esta investigación.

A las Profesoras Nancy Díaz de Villabona y Anajulia González, por infundir en mí valiosos conocimientos, por el apoyo y dedicación, por ser las grandes guías en esta investigación. Agradecida queridas profesoras.

A mi Madre y colega (Alba Sofía), quien me dio la vida, educación, y apoyo incondicional en cada paso, por confiar en mí, en lograr esta meta, y por las que vendrán. Agradecida infinitamente mamá. Te quiero con el alma.

A mi Padre (Juan), por darme la vida y apoyarme en cada momento

A mi hijo (Samuel Alejandro), que posiblemente aun no entiendas mis palabras, pero cuando lo hagas, sepas que fuistes mi mayor motivación. Gracias por la paciencia en aquellos momentos de ausencia, que hoy reflejan nuestro logro. Mi niño hermoso que Dios te bendiga siempre.

A mi hermana (Laura), **mis tías** (Lorena, Tere), **mi tío** (Carlos, Oscar), **abuela** (Balbi) que estuvieron conmigo apoyándome siempre y fueron mi compañía.

A mi Abuelo (Papa Guillermo), que aunque ya no estás con nosotros, inculcaste en mí la Fe, la educación, el respeto, la responsabilidad, el hacer las cosas bien. Te extrañamos.

A mi compañera de tesis y amiga María Gabriela Ocanto, por la dedicación, el esfuerzo y perseverancia, puesta en este trabajo. Lo logramos Gabiii !!!

A mis compañeros de estudio que poco a poco se convirtieron en mis grandes amigos, gracias por las enseñanzas y momentos compartidos.

DEDICATORIA

A DIOS TODOPODEROSO Y A LA SANTÍSIMA VIRGEN MARÍA, por acompañarnos en nuestra carrera en ser nuestros guías y darnos el entendimiento, sabiduría, paciencia, fortaleza para lograr nuestro objetivo profesional y siempre tener presente la fe por delante de todo.

A NUESTROS PADRE Y FAMILIARES, quienes son nuestros pilares y ofrecernos el apoyo y ayuda incondicional en el transcurso de nuestro proyecto.

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO	v
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ABREVIATURAS.....	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	5
EL PROBLEMA	5
JUSTIFICACIÓN	8
OBJETIVOS.....	9
Objetivo General.....	9
Objetivos Específicos	9
ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN Y LIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.	9
CAPÍTULO II.....	10
MARCO TEÓRICO.....	10
Trabajos previos	10
Antecedentes Históricos	14
Antecedentes Teóricos.....	15
Envejecimiento.....	15
Manifestaciones clínicas del envejecimiento	16
Causas.....	17
a) Acortamiento de los Telómeros:.....	17
b) Estrés Oxidativo:.....	17
c) Cambios hormonales:.....	18
d) Efecto de la nicotina (Tabaquismo)	18
e) Radiación Ultravioleta (UV).....	19
f) Mala Nutrición.....	19
Tratamientos Antiedad	19
Procedimientos Quirúrgicos.....	20
a. Lifting facial o Ritidoplastia:.....	21

b. Blefaroplastia:.....	21
Procedimientos no quirúrgicos.....	21
a. Fillers o rellenos dérmicos.....	21
b. Microdermoabrasión	22
c. Lipoinyección	22
d. Denervación química	22
e. Laser.....	23
f. Uso de antioxidantes:.....	23
g. Tratamiento con PRP	23
Sangre.....	23
a) Plasma.....	24
b) Elementos celulares	24
b1) Eritrocitos.....	24
b2) Leucocitos o glóbulos blancos.....	24
<i>b2.1) Segmentado Neutrófilo</i>	<i>25</i>
<i>b2.2) Segmentado Eosinófilo</i>	<i>25</i>
<i>b2.3 Segmentado Basófilo.....</i>	<i>25</i>
b3) Linfocitos	26
b4) Monocitos.....	26
b5) Plaquetas	26
Características estructurales de las plaquetas (En reposo).....	27
Zona periférica o pared celular.....	27
a) Membrana externa	28
b) Membrana interna.....	29
Zona estructural.....	29
• Citoesqueleto	29
• Zona de organelos	30
• Gránulos Alfa (gránulos α).....	30
• Gránulos Densos (gránulos delta).....	30
• Los lisosomas.....	31
Sistema de membranas	31

• Sistema tubular denso.....	31
• Sistema canicular abierto.....	31
Origen de las Plaquetas.....	31
Megacariopoyesis	31
Maduración de las plaquetas	33
▪ Megacarioblasto.....	33
▪ Promegacariocito	33
▪ Megacariocito maduro.....	33
Mecanismo de formación de las plaquetas (Trombopoyesis)	35
Hemostasia.....	37
1. Hemostasia primaria	38
a. Adhesión plaquetaria.....	38
b. Activación	39
c. Secreción	39
d. Agregación plaquetaria	39
2. Hemostasia Secundaria (coagulación)	40
a. Fase de Iniciación.....	41
c. Fase de propagación.....	42
d. Fibrinólisis.....	42
Pruebas que evalúan la morfología y función plaquetaria	43
Morfología plaquetaria	43
1. Frotis de sangre periférica	43
Alteraciones en la concentración plaquetaria.....	46
a. Trombocitosis	46
b. Pseudotrombocitosis	46
c. Trombocitopenia.....	46
d. Pseudotrombocitopenia	47
-Satelitismo plaquetario	47
-Presencia de macrotrombocitos.....	48
-Agregados plaquetarios.....	48
e. Presencia de microtrombocitos.....	49
Alteraciones en la Morfología Plaquetaria (Tamaño y Forma).....	49

a) Anisocitosis plaquetaria	49
b) Poiquilocitosis plaquetaria	49
2. Contaje plaquetario	49
Funcionalidad Plaquetaria.....	50
a. Pruebas de Coagulación	50
a1. Tiempo parcial de Tromboplastina activado (TTPa). (Método de Rappaport). 50	
a2. Tiempo de Protrombina (TP). (Método de Quick)	50
a3. Tiempo de Trombina (TT).....	51
a4. Tiempo de sangrado (técnica de Duke)	51
a5. Tiempo de coagulación. (Método de Lee White).....	51
a6. Agregometría	51
Plasma rico en plaquetas en la Medicina <i>Antiaging</i>	52
Los Factores de Crecimiento.....	54
Formas de aplicación.....	56
• Terapia tópica	56
• Terapia subdérmica	56
• Terapia intradérmica	56
Cócteles antienvjecimiento empleados en medicina antiedad.....	57
La vitamina A.....	58
La Vitamina B	58
La vitamina C (Ácido Ascórbico)	59
La vitamina E (Tocoferol).....	59
Minerales	59
a. Selenio.....	60
b. Zinc	60
c. Manganeso.....	60
Aminoácidos	60
Coenzimas.....	61
Ácido Hialurónico (AH)	61
Operacionalización de las Variables.....	62
CAPÍTULO III.....	63
MARCO METODOLÓGICO.....	63

Tipo de investigación	63
Diseño de la investigación	63
Población y Muestra	64
Unidad de Investigación	64
Selección del Tamaño Muestral	64
Criterios de inclusión	64
Criterios de exclusión	64
Sistema de Variables	64
Variable dependiente	65
Variable independiente	65
Técnica e Instrumento de recolección de datos.....	65
Procedimientos Metodológicos	65
Fase 1: Recolección de la Muestra	66
Fase 2: Obtención del Plasma Rico en Plaquetas	67
Fase 3: Contaje del PRP.....	68
Fase 4: Frotis Sanguíneo.....	69
Fase 5: Combinación del PRP con el cóctel <i>antiaging</i>	70
Diseño de Análisis.....	71
CAPÍTULO IV	72
ANÁLISIS DE RESULTADOS	72
Fase 1: Recolección de la Muestra	72
Fase 2: Obtención del Plasma Rico en Plaquetas	73
Fase 3: Contaje del PRP.....	73
Fase 4: Frotis Sanguíneo.....	74
Fase 5: Combinación del PRP con el cóctel <i>antiaging</i>	76
a) pH del cóctel <i>antiaging</i>	76
b) Contaje plaquetario del PRP y sus combinaciones con el cóctel.....	77
c) Morfología plaquetaria del PRP y sus combinaciones con el cóctel.....	79
CAPÍTULO V.....	83
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	83
Conclusiones	83
Recomendaciones.....	84

BIBLIOGRAFÍA	85
Anexo 1	95
Anexo 2	97

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla

1	Glicoproteínas de la membrana plaquetaria	29
2	Descripción de los Elementos Celulares (Coloración de Giemsa)	45
3	Clasificación de los factores de crecimiento	55
4	Clasificación de los principales antioxidantes	57
5	Operacionalización de las variables Dependiente e independiente	62
6	Proporciones para la combinación del PRP/Cóctel <i>antiaging</i>	71
7	Parámetros basales	72
8	Contaje plaquetario	74
9	Contaje plaquetario del PRP y sus combinaciones con el cóctel	78
10	Análisis estadístico para esta variable cuantitativa	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura

1	Receptores glicoprotéicos de la plaqueta	28
2	Megacariopoyesis	32
3	Megacariopoyesis	33
4	Maduración de las plaquetas	34
5	Formación de las plaquetas (Trombopoyesis)	36
6	Formación de las plaquetas (Trombopoyesis)	37
7	Hemostasia primaria. Mecanismo de respuesta del vaso frente a una lesión vascular	38
8	Hemostasia Secundaria: Modelo celular de la coagulación	41
9	Hemostasia Secundaria: Sistema Fibrinolítico	43
10	Satelitismo plaquetario	47
11	Macrotrombocitos	48
12	Agregados plaquetarios	49
13	Cámara de Neubauer	50
14	Esquema de la agregación plaquetaria	52
15	Clasificación del plasma	53
16	Procesamiento de la muestra	65
17	Recolección de la muestra	66
18	Protocolo de obtención del PRP	67
19	Distribución y fraccionamiento del PRP	68

20	Contaje plaquetario	69
21	Frotis sanguíneo	69
22	Técnica de la coloración de Giemsa modificada	70
23	Cóctel <i>antiaging</i> . Formula REDOX®	70
24	Obtención del PRP	73
25	Morfología plaquetaria	75
26	Gráfica en barra para la morfología plaquetaria en el PRP	76
27	Valor de pH del cóctel <i>antiaging</i> REDOX®	77
28	Gráfica en barra para la morfología redonda	79
29	Gráfica en barra para la morfología estrellada	80
30	Gráfica en barra para la morfología de acúmulos plaquetarios	81

www.bdigital.ula.ve

ABREVIATURAS

ADN	Ácido desoxirribonucleico
PRP	Plasma Rico en Plaquetas
AEMPS	Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
aPRP	Plasma Rico en Plaquetas activado
aPPP	Plasma Pobre en plaquetas activado
PIP	Péptido carboxi-terminal de tipo I de procolágeno
MMP	Metaloproteinasas de matriz
ERO	Especies Reactivas de Oxígeno
(H ₂ O ₂)	Peróxido de hidrógeno
(O ₂ ⁻)	Superóxido
(OH)	Hidroxilo
(Fe)	Hierro
(Cu)	Cobre
DHEA	Dehidroepiandrosterona
DHEAS	Éster sulfato
RUV	Radiación ultravioleta
Q10	Coenzima ubiquinona-10
AH	Ácido Hialurónico
FDA	<i>Federal and Drug Administration</i> : Agencia de Alimentos y Medicamentos
ADP	Adenosín difosfato
TXA ₂	Tromboxano

GPIIb/IIIa	Receptores plaquetarios
GPIb/IX	Receptores plaquetarios
GPIb	Receptores plaquetarios
GPIX	Receptores plaquetarios
OCS	Sistema Canalicular Abierto
PDGF	Factor de crecimiento derivado de las plaquetas
EGF	Factor de crecimiento epidérmico
FT	Factor Tisular
TFPI	Inhibidor de la activación del complejo FT/FVIIa),
CD4	Linfocitos ayudadores
CD8	Linfocitos supresores
TPTA	Tiempo parcial de Tromboplastina activado
TP	Tiempo de Protrombina
TT	Tiempo de trombina
EDTA	Ácido etilendiaminotetracético

www.bdigital.ula.ve



REPÚBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA.
UNIVERSIDAD DE LOS ANDES.
FACULTAD DE BIOANÁLISIS Y FARMACIA
ESCUELA DE BIOANÁLISIS

MORFOLOGÍA PLAQUETARIA DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP), COMBINADO CON UN CÓCTEL ANTIAGING. ESTUDIO IN VITRO
Trabajo Especial de Grado como requisito para optar al Título del Licenciado en Bioanálisis

Autoras: Br María Ocanto
Br Isabel Salazar

Tutor: Dra. Nancy Díaz de Villabona

Cotutora: MSc. Anajulia González

RESUMEN

La redensificación dérmica es un procedimiento idóneo dentro de las terapéuticas en el campo de la Medicina Estética, empleando métodos invasivos o no invasivos, como son las infiltraciones de antioxidantes y Plasma Rico en Plaquetas (de aquí en adelante, PRP) ya que la piel está expuesta a elementos nocivos, perjudicando el funcionamiento celular que conlleva a su deterioro. La aplicación de PRP combinado con productos químicos (cócteles *antiaging*), ha sido utilizada pero sin comprobar sus efectos, lo que hace que los pacientes accedan a su aplicación sin comprender las complicaciones. El objetivo de este estudio fue describir los cambios en la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaquetas al combinarse con un cóctel *antiaging*. Esta investigación fue de tipo descriptivo y experimental, se seleccionaron 06 muestras en edades de 24-32 años, de ambos géneros. Se obtuvo el PRP según la técnica de Anitua y se procedió a realizar el conteo de plaquetas y el frotis sanguíneo previo a la combinación con el cóctel *antiaging* REDOX para verificar cantidad y morfología plaquetaria (plaquetas redondas, plaquetas estrelladas y acúmulos plaquetarios). Las proporciones de PRP/cóctel fueron 80/20, 50/50 y 20/80 respectivamente, a los cuales se les hizo conteo de plaquetas y frotis sanguíneo. Se obtuvo un aumento de 2 a 3 veces en el número de plaquetas con respecto a su valor basal; la morfología plaquetaria presente en el PRP es abundante y moderadas plaquetas redondas, escasas plaquetas estrelladas y muy escasa acúmulos plaquetarios. En cuanto a las combinaciones, se observó variaciones en la morfología plaquetaria, resaltando la abundancia de acúmulos plaquetarios en la proporción 20/80 (PRP/cóctel). Se concluyó que el cóctel no afecta al número de plaquetas sino a la morfología plaquetaria induciendo la presencia de acúmulos plaquetarios en la combinación con mayor proporción de cóctel.

Palabras claves: PRP, Cóctel *Antiaging*, Combinación, Morfología Plaquetaria.

INTRODUCCIÓN

El envejecimiento es un proceso fisiológico que se evidencia en cada individuo de manera única y particular, regido especialmente por su carga genética. Es un proceso inevitable que afecta en primer lugar a la piel como primera entidad anatómica en contacto con el medio externo, por ser el estrato más expuesto a los rayos solares y que sufre con más frecuencia el estrés oxidativo originado en parte, por la acción de la radiación ultravioleta, causante principal del mayor daño biológico dentro del proceso de envejecimiento (Moya y Moya, 2015).

Los signos del envejecimiento están relacionados con la pérdida de la elasticidad de la piel y el desplazamiento de estructuras subcutáneas, modificando de esta manera, los volúmenes de la cara y físicamente, contribuyendo con la aparición de rítdes o depresiones dermoepidérmicas, que representan el signo más evidente de este proceso fisiológico, siendo una consecuencia del envejecimiento intrínseco, la desorganización de las fibras colágenas y de elastina, así como la pérdida de glicosaminoglicanos como el ácido hialurónico, añadiéndose a esta cadena, otros factores como el fotoenvejecimiento, la fuerza gravitacional, las contracciones repetitivas de los músculos de la expresión y la acción combinada de agresiones ambientales, que las agravan aún más afirman los autores Ruíz y Morales (2015).

De acuerdo a esto último, algunas estructuras extracelulares y celulares, sufren agresión por reacciones de radicales libres, por lo que a nivel bioquímico, aumenta la producción de elementos o especies reactivas del oxígeno (EROx), ocasionando, la presencia de manchas prematuras o queratosis actínicas y posibles enfermedades (Olarte, Sánchez, Aréchiga, Bañuelos, Ramírez y López, 2016). Es por ello que autores como Vélez, Aristizábal y Pérez (2017), afirman que para que no se produzca el estrés oxidativo, debe existir un equilibrio entre los pro-oxidantes y los anti-oxidantes. Esto lleva a pensar que el envejecimiento es un fenómeno multifactorial que afecta todos los niveles de organización biológica y no siempre coincide con la

edad, ya que la influencia de factores externos, es importante (comunicación verbal con Díaz de Villabona, 2017).

Durante el envejecimiento cutáneo, se produce un deterioro de las funciones biológicas propias de la piel, y uno de los factores más incidentes lo representa la exposición a los rayos solares de manera no controlada, lo que puede conllevar a la fotodermatosis definido por Beani (2015), como un conjunto de enfermedades de la piel en cuya génesis interviene la exposición al sol, siendo un proceso demostrado clínicamente por el daño de la radiación ultravioleta, considerándose como la causa más frecuente a temprana edad, ya que no es característico en personas mayores (Laura, Artigiani y Cianchi, 2016). Sin embargo, la piel consta de mecanismos endógenos de reparación para combatir el daño causado por los radicales libres (Estrella, Nipotti, Orive y Fernández, 2015); pero a largo plazo, estos mecanismos reparadores, se tornan ineficientes contribuyendo a la muerte celular y apoptosis.

Así mismo, la exposición prolongada a los rayos ultravioleta, causa alteraciones que se van acumulando desde la adolescencia y principio de la segunda década, de manera continua y prolongada, causando daños en las capas de la piel profunda por la degeneración y agresión celular. Dichos cambios se observarán entre la tercera y cuarta década; éste proceso es conocido como fotoenvejecimiento. (Monteiro e Silva, Michniak-Kohn y Leonardi, 2017).

Por lo antes expuesto, es necesario tomar medidas preventivas, entre ellas la fotoprotección, considerada como un conjunto de estrategias reservadas para complementar la protección dérmica propia de la piel. Es un mecanismo que puede ser exógeno o artificial y endógeno o natural (Castanedo, Torres, Portales, Martínez y Hernández, 2016). En cuanto a los mecanismos exógenos, se pueden citar: evitar la exposición solar, ponerse a la sombra, empleo de gafas, gorros y ropas, aplicación de fotoprotectores y seguir una dieta rica en antioxidantes (Sierra-Talamantes, Zaragoza, Esteve, Fornés, Palomar, 2015). Como mecanismo endógeno, autores como Gilaberte (2014), afirma que existen sistemas de defensa y adaptación, tales como el engrosamiento de la capa córnea, la producción de melanina, la activación de

moléculas antioxidantes, los sistemas de reparación del ADN y la producción y secreción de citosinas, los cuales, pueden variar según la genética del individuo.

Complementando esta idea, existen elementos nutricionales como los oligoelementos, vitaminas, aminoácidos, péptidos, proteínas, agua y antioxidantes, que refuerzan los sistemas de la piel para enfrentar al envejecimiento. Dichos nutrientes pueden actuar a nivel de la piel como fotoprotectores, modulando la respuesta inmune, o pueden efectuar una acción terapéutica en algunas patologías cutáneas (Ganceviciene, Liakou, Theodoridis, Makrantonaki y Zouboulis, 2012).

Autores como Estrella y cols (2015), hablan sobre un tipo de fotoprotección, basado en la dupla hidratación-alimentación. Según este autor, el agua en la piel brinda una funcionalidad específica, pues contribuye con el mantenimiento de su estructura y de la función de barrera que la misma cumple, asegurando de esta manera, la elasticidad y preservando la diferenciación celular. Por ello, se recomienda la ingesta de agua de manera regular antes y después de la exposición al sol, asegurando así, el tono hídrico de la piel.

Otra alternativa usada en la Medicina Antienvjecimiento, es la aplicación de cócteles *antiaging*, que permiten aumentar la capacidad de biosíntesis de los fibroblastos con la reconstrucción de un entorno fisiológico óptimo, la ampliación de la actividad celular, y la producción de nuevo colágeno y elastina, lo que lleva a un aumento de la firmeza, el brillo y la hidratación de la piel. La inyección en la dermis superficial de estos productos es perfectamente biocompatible y biodegradable, cuyo efecto es la disminución de las líneas de expresión, siempre que haya una constante (Vivó, Plá, Carbonell, Ricarte, López, Russo, Ramírez, Ruíz y Martínez, 2015; Rodríguez-Segura, Montoya-García, Pacheco-López, 2016).

Otros autores como Patiño (2016), afirman que la aplicación de mínimas cantidades del propio plasma sanguíneo sobre la piel, logra efectos rejuvenecedores, siendo un procedimiento indoloro que no requiere de reposo, pues básicamente se toma un mínimo volumen de sangre de la propia persona para realizar el preparado. Uno de los efectos más visibles es la regeneración de los tejidos, cuyo resultado es el rejuvenecimiento desde adentro hacia afuera.

En los últimos años, las terapéuticas de regeneración tisular con plasma rico en plaqueta (de aquí en adelante PRP), han ocupado un sitio importante, dentro de la medicina estética y regenerativa, convirtiéndose en técnicas innovadoras, aplicables en distintas entidades patológicas. Dentro de la Medicina Regenerativa, el Plasma Rico en Plaquetas es un producto de naturaleza autóloga que, aplicado bajo una terapéutica clínica, permite utilizar los factores de crecimiento de forma natural presentes en las plaquetas, para regenerar la piel con resultados satisfactorios a corto plazo (comunicación verbal Díaz, 2017).

Sin embargo, dentro de esta gama de terapéuticas, se han realizado combinaciones del PRP con cócteles antienvjecimiento sin estudios previos de cómo afecta dicho cóctel en la estructura de la plaqueta y, por ende, en la liberación de los factores de crecimiento que juegan un papel fundamental en la recuperación de los tejidos. La falta de estudios científicos que respalda el uso y la efectividad que se plantea, puede conllevar a que las personas pierdan interés en tratamientos de antienvjecimientos con materiales autólogos innovadores (comunicación verbal González, 2017).

En la siguiente investigación se estudió el comportamiento de la morfología plaquetaria del PRP, una vez combinado con cócteles *antiaging*, para así, conocer los cambios celulares que pudiesen ocurrir. Esta investigación estuvo estructurada en cinco (05) capítulos:

El primer capítulo: correspondiente al planteamiento del problema, justificación de la investigación, objetivo general y específicos.

El segundo capítulo: conformado por: marco teórico estructurado en dos partes: primera parte: Antecedentes que guardan relación con la investigación y la segunda parte referente a las bases teóricas.

El tercer capítulo: referente al marco metodológico, en el cual se hizo referencia sobre los aspectos metodológico de la investigación.

El cuarto capítulo: agrupó el análisis de los resultados y la discusión.

El quinto capítulo: se finalizó con conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

La Medicina Estética como disciplina del campo de las ciencias de la salud, implica importantes terapéuticas para la restauración de la armonía facial y corporal, restableciendo la belleza y la funcionalidad, acorde a cada paciente, contribuyendo con base científica actualizada, a reforzar la importancia de cada una de las terapéuticas que deban aplicarse según sea el caso, partiendo del principio de que el envejecimiento es causado por un proceso multifactorial y la modificación de cada uno de estos factores, puede hacer de éste, un proceso patológico y acelerado; donde la piel, como órgano, sufre modificaciones propias que tendrán una presentación clínica característica, ocasionada por cambios estructurales y funcionales (Cabrera, Puebla, González, García, Cortes, Márquez, Contreras, Bracamontes, Saucedo y Fuentes, 2017).

Existen dos fenómenos diferentes fundamentales que constituyen la causa de este proceso de envejecimiento: uno intrínseco, comúnmente conocido como cronoenvejecimiento y el otro extrínseco referido al fotoenvejecimiento, característico de las zonas normalmente expuestas a los rayos ultravioletas. El cronoenvejecimiento, es la suma de las características genéticas y hereditarias del tiempo y de la calidad del estilo de vida adoptado por cada individuo (Monteiro e Silva y cols, 2017), y por otra parte, el fotoenvejecimiento, es causado por la agresión progresiva de los rayos ultravioletas y, en parte, por la contaminación del medio ambiente, que suele ser proporcional al tiempo de exposición y a la intensidad de estos elementos, (Franco, Olivares, Pérez, 2017), incluyendo también los efectos de la nicotina, la carencia de antioxidantes en la dieta, debido a una alimentación pobre o no balanceada, la presencia de enfermedades de base y el tabaquismo (Ramírez, Ríos, Gómez, Rojas y Gracia, 2015), contribuyendo también al aumento de los radicales libres y a la disminución de la irrigación sanguínea, actuando contra los procesos

metabólicos de la piel (Etulain, 2016). Adicionalmente, a lo largo de los años, la piel como órgano rico en grasas de diferente composición y estructura, sufre atrofia y distrofia, perdiendo su textura, disminuyendo la vascularización y los volúmenes (González, Galimberti, Valdivia, Sharon, Bollea, 2015),

Los factores antes mencionados, muestran las distintas manifestaciones del envejecimiento cutáneo, lo que permite comprender que dichos cambios, se presentan en el organismo estableciendo cuadros clínicos distintos que ameritan diseñar terapéuticas preventivas, tal como lo afirman Cabrera y cols (2017). Aunado a esto, del metabolismo celular de cada individuo, dependerá si el envejecimiento es prematuro o acelerado, buscando la manera de conservar la reserva y la capacidad funcional de las células, órganos y tejidos (Ruíz y col, 2015).

De este modo, queda claro que el deterioro prematuro puede contrarrestarse mediante la aplicación de terapéuticas relacionadas con la Medicina *Antiaging*, las cuales se basan en el uso de tratamientos que mejoran la respuesta dérmica frente a un estímulo externo (comunicación verbal, Díaz de Villabona, 2018). Dentro de estas terapéuticas se pueden citar: rejuvenecimiento con láser, aplicación de compuestos *antiaging* que pueden incluir vitaminas, aminoácidos, minerales, coenzimas, células madres, ácido hialurónico y la aplicación de Plasma Rico en Plaqueta, como terapéutica innovadora de los últimos años. Vale destacar, que los aportes de antioxidantes de forma natural mediante una dieta equilibrada son claramente beneficiosos, pero su administración a dosis altas y sin control, puede ser contraproducente (Vélez y cols, 2017).

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se define como una concentración autóloga de plaquetas humanas en un volumen pequeño de plasma que representa un aumento de plaquetas respecto de las concentraciones basales normales, por lo que es una fuente de fácil acceso a los factores de crecimiento contenidos en ellas; tiene un pH entre 6.5 y 6.7. Se obtiene posterior a una centrifugación y por ser un material autólogo, evita efectos secundarios relacionados a reacciones de hipersensibilidad (Alcaraz, Oliver y Sánchez, 2015; Moreno, Gaspar, Jiménez, Alonso, Villimar y López, 2015). Este es un procedimiento llevado a la luz científica por Anitua (1980),

quien descubrió el plasma rico en factores de crecimiento para la regeneración tisular de lesiones como úlceras cutáneas, patologías oculares, lesiones periodontales, defectos óseos, lesiones traumatológicas, según lo afirma Etulain (2016).

Por otra parte, el PRP ha tenido un buen auge en el área de la estética facial para el tratamiento de hiperpigmentaciones (Gómez, Casas y Merchan, 2017), modificaciones de la dimensión vertical, sonrisa gingival, hidratación profunda de la piel y, por ende, la recuperación de la lozanía de la misma acota los autores Vélez y cols, 2017. Es común que la mayoría de las personas desean mejorar su aspecto de una manera inmediata, con tratamientos no invasivos de bajo costo, sin necesidad de cirugías y que sus resultados sean duraderos (Tusell y Jiménez, 2018; Ramírez y cols, 2015).

En la actualidad, se están realizando combinaciones de Plasma Rico en Plaquetas con compuestos “*antiaging*” de manera empírica sin considerar las modificaciones que podrían sufrir las plaquetas y en consecuencia, disminuir el efecto terapéutico del PRP.

Es por ello, que el interés de esta investigación se basó en describir los cambios en la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaquetas al combinarse con un cóctel *antiaging*, que permitan responder la siguiente interrogante:

¿Los compuestos *antiaging* modifican la morfología de las plaquetas presentes en el Plasma Rico en Plaquetas?.

JUSTIFICACIÓN

La Medicina *Antiaging* o Medicina Antienvejecimiento, se enfoca en la comprensión de la fisiopatología del envejecimiento a nivel de alteraciones en la energía, homeostasis y armonía bioquímica por estrés oxidativo, inflamación crónica, entre otros (Pavani y Fernández, 2017; Ramírez y cols, 2015). El empleo de mezclas nutritivas para aportar oligoelementos que se pierden con el envejecimiento, favorece las terapéuticas antienvejecimiento como por ejemplo los cócteles antienvejecimiento o las combinaciones de los mismos con Plasma Rico en Plaquetas, aunque existe poca literatura científica que avale dicha práctica.

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP), es un tratamiento aprobado por la FDA (*Federal Drugs Administration*), para su empleo en diversas áreas de la medicina tales como la cirugía bucal y dental, cirugía plástica, cirugía ortopédica, neurocirugía, cirugía cardiorrástica, procesos de cicatrización y en oftalmología; siendo aplicado tanto en países europeos (Alemania, Francia, Suiza e Inglaterra), como en países del continente americano (Estados Unidos en Canadá, Brasil, Colombia y Argentina, Venezuela). Su uso se fundamenta en la liberación de factores de crecimiento que interviene en los procesos celulares de proliferación, diferenciación y metabolismo celular, en los cuales se basa la Medicina Regenerativa (Arcuri, 2013).

Dado que las plaquetas son estructuras celulares muy lábiles que pueden degranularse por diferencias en el pH, contacto con material de vidrio o mala manipulación de la muestra, trayendo como consecuencia, la liberación precoz de factores de crecimiento. Es por ello que en la presente investigación se propuso describir los cambios en la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaquetas al combinarse con un cóctel *antiaging*. Los resultados obtenidos, podrían proporcionar una base científica para la validez de estas combinaciones y que aporten un beneficio para el paciente.

OBJETIVOS

Objetivo General

Describir los cambios en la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaquetas al combinarse con un cóctel *antiaging*.

Objetivos Específicos

- Determinar cualitativamente el pH del cóctel *antiaging*
- Realizar el conteo plaquetario del PRP antes y después de combinarse con un cóctel *antiaging*.
- Describir la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaqueta (PRP), antes y después de combinarse con un cóctel *antiaging*.

ALCANCE DE LA INVESTIGACIÓN Y LIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.

www.bdigital.ula.ve

Esta investigación estuvo orientada a desarrollar información con base científica actualizada y de interés sobre los cambios morfológicos de las plaquetas, una vez combinadas con cócteles *antiaging*; dirigida a los especialistas en el área de Medicina Regenerativa, con el propósito de que se sigan abriendo canales y líneas de investigación aplicables al área de Estética Facial y de la Medicina Regenerativa en Venezuela.

Así mismo, se consideró una limitación la obtención de los materiales utilizados para la preparación del Plasma Rico en Plaquetas, ya que por razones de oferta en los lugares comerciales no estaban disponibles y por razones de costo, se hicieron poco accesibles.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Autores como Londoño (2012), realizó una investigación referida a los antioxidantes en el cual se determinó la importancia biológica y los métodos para medir su actividad. Dicho estudio se enfocó en la capacidad que tiene los antioxidantes en reaccionar con los radicales libres, mediante dos funciones: a) la actividad estabilizadora de radicales libres, que mide la velocidad de la reacción entre la reactividad de un antioxidante frente a radicales libres y b) la actividad antioxidante que mide la capacidad de retardar la degradación oxidativa. Entre los antioxidantes más utilizados como suplementos son: la Vitamina E que juega un papel en la prevención de la peroxidación de membrana por estabilización de radicales, la Vitamina C la cual actúa en combinación con otros antioxidantes primarios como la vitamina E, los carotenoides y enzimas antioxidantes, y por último, los carotenoides que desempeñan su papel biológico previniendo el daño genético e inhibiendo la inducción tumoral provocada por los rayos UV. El aporte de esta investigación va en relación a los cócteles *antiaging* enfocados en la disminución del estrés oxidativo, contrarrestando la proliferación de especies reactivas de oxígeno.

Alcaraz y cols (2015), en su artículo referido a Plasma rico en factores de crecimiento plaquetario. Una nueva puerta a la Medicina regenerativa, donde lograron como objetivo obtener una amplia evidencia científica en el uso del Plasma rico en plaqueta en diversas especialidades en el área de la salud como Otorrinolaringología, Cirugía Plástica, Dermatología, Cirugía General, Oftalmología, Obstetricia y Ginecología y Neurocirugía, entre otras. De esta manera, se creó una nueva disciplina médica: Medicina regenerativa, en el cual han incrementado de manera exponencial los tipos de metodología de obtención, así como las formas de aplicación incluso contra una misma enfermedad. Tanto es así que, en la actualidad,

su utilización ha sobrepasado la capacidad científica de producir evidencia para la correcta aplicación clínica. Estos autores señalaron que la terapéutica con PRP, dentro de la Medicina Regenerativa, representa un abanico de posibilidades de aplicaciones clínicas extraordinarias, creciente, pero que precisa un proceso de sistematización científica y médica que permite encauzarlos de manera segura y eficaz en las aplicaciones en que realmente exista una evidencia científica de peso suficiente para su administración. El aporte de esta investigación, se fundamenta en que la aplicación de la terapéutica con PRP, es confiable dentro de la Medicina Regenerativa como un procedimiento adecuado para su administración.

Moreno y cols (2015), reportaron sobre las técnicas de obtención del PRP, las consideraciones legales sobre su obtención y empleo, el mecanismo de acción molecular, así como la evidencia disponible sobre su seguridad y tolerancia. Los resultados de esta investigación demostraron que el PRP se obtiene de forma manual, mediante “técnica abierta” a partir de menores volúmenes de sangre y equipamiento sencillo con un debido proceso de forma estéril y aséptica, ó mediante kits desechables con “técnica cerrada” como ejemplo, el Sistema de Extracción de Plaquetas tipo GPS III®, BIOMET®, y BTI®. Aunado a esto, estos autores se apoyan en una afirmación dada por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), quien considera al PRP como medicamento, estableciendo unos requisitos mínimos para garantizar su seguridad, trazabilidad, farmacovigilancia e información. Por esta razón, este estudio resalta, que el PRP actúa como factor de crecimiento óseo requeridas para regeneración y consolidación de fracturas en distintos tipos de implantes óseos, sin embargo, la aplicación de PRP va depender del sistema empleado, las concentraciones de plaquetas y sus componentes sanguíneo, lo cual pueden variar sus valores, restringiendo sus efectos en el tratamiento tisular.

Conde, Fernández y Suarez (2015), realizaron una investigación cuyo objeto de estudio fue el mecanismo de acción atribuido al PRP en la regeneración tisular, resumiendo la evidencia científica disponible en el momento actual para las diferentes indicaciones propuestas. Estos autores demostraron que el PRP es un potencial

biorregenerador en múltiples aplicaciones en diferentes áreas de la salud, entre ellos la dermatología, con buenos resultados en los casos publicados, al igual con escaso número y calidad deficiente de los ensayos clínicos en los diferentes usos sugeridos del PRP. Este estudio aporta, que los efectos bioquímicos y fisiológicos del PRP en la regeneración tisular, representan un gran potencial en múltiples aplicaciones, en especialidades clínicas y en diversas áreas de la salud con eficacia del PRP en los diferentes ensayos médicos, así mismo, estudiar el conocimiento de los principios biológicos y mecanismo moleculares en la biorregeneración tisular para la aplicación del PRP.

En el 2016, Abuaf, Yildiz, Baloglu, Bilgili, Simsek y Dogan, realizaron una evidencia histológica de nueva formulación de colágeno utilizando Plasma Rico en Plaquetas en el rejuvenecimiento de la piel: un estudio clínico prospectivo controlado, donde la optimización del PRP, proporciona un efecto de proliferación y cambios en el colágeno mediante el análisis histológico facial, de este modo indicaron que el número y grosor de fibras elásticas, aumentó después de su aplicación, arrojando efectos óptimos en regeneración dérmica. Dicha investigación aporta que el uso del PRP ha sido beneficioso para la renovación cutánea desde el punto de vista histológico, lo cual permite erradicar el deterioro y minimizar los signos del envejecimiento prematuro.

El autor Ulusal (2016), en su investigación del Plasma rico en plaquetas y ácido hialurónico: un método eficiente de bioestimulación para el rejuvenecimiento facial. Donde proporciona datos y comentarios para ayudar y agregar a las directrices actuales evidenciando los efectos positivos de la combinación del PRP y el ácido hialurónico. Como resultado de este estudio, las inyecciones del PRP y ácido hialurónico proporcionaron una mejoría clínicamente visible y hubo una diferencia estadísticamente significativa en la apariencia general y, la firmeza de la piel y la textura de la piel de acuerdo con las aplicaciones de los pacientes antes y después de PRP, es decir, el tratamiento del PRP combinado con el ácido hialurónico logró mejores resultados para el rejuvenecimiento facial. El aporte de este estudio se ve reflejado en las combinaciones con el PRP y el beneficio que otorga en la medicina

regenerativa. Sin embargo, no hay evidencia científica de la estructura plaquetaria al ser combinadas con antioxidantes.

Autores como Wanas, Khalaf y Elmandoooh (2017), describieron en su investigación el efecto del gel de fibrina autólogo y plasma rico en plaquetas activado por el ozono frente a los activados por el cloruro de calcio en la curación de heridas y la prevención de la infección en las cesáreas de alto riesgo: Estudio controlado aleatorizado, donde compararon el efecto de la aplicación de gel de fibrina autólogo y plasma rico en plaquetas (PRP) activado por ozono médico (PRP ozonizado) frente a los activados por CaCl₂. Los resultados de este estudio proporcionan evidencia de que la aplicación de plasma rico en plaquetas autólogo (PRP) promueve la cicatrización de heridas y cuando se activa por ozono da mejores resultados y ayuda a la prevención de la infección en la cesárea de pacientes de alto riesgo. El aporte para la presente investigación va dirigido al efecto que tiene el ozono médico combinado con el PRP, activándolo para potenciar su acción regeneradora.

Los autores Arroyo y Jaramillo (2017), en su investigación referente a la evaluación de la viabilidad de los concentrados plaquetarios a los tres, cinco y siete días de su obtención a partir de sangre total en el Hemocentro de la Cruz Roja Ecuatoriana, donde monitorearon los parámetros de calidad (el tiempo y los aspectos físico de las plaquetas: agregados plaquetarios, presencia de burbujas, conteo de leucocitos residuales y el pH del plasma) en las diferentes etapas de producción y que es primordial en estos hemocomponentes. Los análisis mostraron que todos los concentrados plaquetarios cumplen en un 100% con los parámetros físicos, es decir, que existe una variación significativa el cual se presencié la activación plaquetaria aumentando significativamente desde el quinto día hasta el séptimo día, observando una relación inversamente proporcional con el pH. Como aporte para la presente investigación es limitar el tiempo de manipulación y aplicación del PRP evitando la formación de agregados plaquetarios.

Antecedentes Históricos

A mitad del siglo XIX el Dr. Michel Pistor expuso ampliamente el papel de la procaína inyectada intradérmicamente en patología humana, quien difundió esta técnica médica inyectiva clásica, la cual bautizo con el término de Mesoterapia. A partir de esta técnica, se desarrolló la aplicación de sustancias llamadas cócteles. Por otra parte, Bravo (2014), indica que las primeras recetas de cosmética surgieron de las tumbas egipcias donde se registró que las mujeres egipcias utilizaban los elixires para conservar la juventud. Así mismo, señala que Nefertiti como reina era la menos obsesionada por la belleza a “pesar de que le gustaba cuidarse”. Otro ejemplo, lo fue Cleopatra considerada como la precursora de la mesoterapia, para lo cual cita “Mataba a un cordero cada mañana y ponía su carne sobre cara, cuello y escote hasta que se secaba”, de esta manera conseguía que su piel se nutriera y adquiriera tersura. Por otra parte, la condesa Bhátory, en la época medieval, estudiaba y realizaba sus propios ungüentos de belleza empleando sangre de jóvenes.

Ahora bien, en la actualidad la tecnología médica ha desarrollado nuevas técnicas de tratamiento, que tiene como objetivo fundamental el de restaurar determinados tejidos dañados y el de ralentizar el deterioro de otros que por mecanismos degenerativos o por la misma edad se va produciendo en el organismo humano, tales métodos han recibido el nombre de Medicina Regenerativa y de Ingeniería de los Tejidos (Schwartz, Martínez, Re, 2016; González, Fernández, Forrellat y Hernández, 2014). Es aquí donde los Factores de Crecimiento originarios de las Plaquetas, han sido desarrollados para mejorar el proceso bioquímico mediante el estímulo de la migración, la diferenciación y división celular.

Los principales pioneros en el descubrimiento de los Factores de Crecimiento fueron Rita Levi Montalcini quien descubrió el Factor de Crecimiento Neuronal (NGF) en 1948 y Stanley Cohen quien hizo el segundo hallazgo del factor de crecimiento epidérmico (ECF) en 1952, consiguiendo ser retribuidos con el Premio Nóbel (Palacios, Palacios, Botero, 2016).

El uso del gel de Plasma Rico en Plaquetas (PRP), fue originalmente propuesto por Robert Marx en 1986 para la colocación de injertos óseos en cirugía oral y maxilofacial. Para ello se recurrió a la separación de una muestra de sangre en sus componentes y emplearon la fracción plasmática como crioprecipitado (Castillo, Medina, Lomelí, Medrano, Guerrero, Contreras y González, 2017; Guzmán, 2015), y fue el Doctor Eduardo Anitua en 1999, quien a finales del siglo pasado evidencio, la eficiencia de los factores de crecimiento como terapia de regeneración e hizo público el procedimiento para la obtención de plasma rico en factores de crecimiento, el cual está siendo utilizado en la actualidad en la Medicina *Antiaging*, gracias a su poder regenerativo y biostimulante tisular citado por Segura, 2016.

Antecedentes Teóricos

Envejecimiento

De acuerdo con los autores Cabrera y cols (2017), “El envejecimiento se define como un proceso complejo y multifactorial producto de la acumulación en el tiempo con cambios funcionales y estéticos en el organismo y la piel no escapa a estos cambios”, y debido a esto, involucra cambios significativos en el proceso natural de la piel (Cornejo, 2017).

Sin embargo, autores como Monteiro e Silva y cols (2017), explican que el envejecimiento de la piel, también llamado biológico o envejecimiento intrínseco, definido como un proceso complejo de cambios fisiológicos, histológicos y clínicos, acontecen con la edad y que afecta el recambio celular epidérmico, determinado por alteraciones genéticas, por cambios estructurales, moleculares y hormonales como consecuencia del paso del tiempo.

Diversos autores (Franco, Olivares y Pérez, 2017; Romero, 2014), expresan que clínicamente, es posible diferenciar el envejecimiento cronológico y el fotoenvejecimiento generado por la radiación ultravioleta. En la piel (facial, cuello y escote) expuesta de manera prolongada y por la acción solar se produce alteraciones

como: desecación, pérdida de tonicidad, discromías, junto a la aparición de lesiones como léntigos y otras premalignas; adicionalmente hay una gradual disminución del colágeno y alteración de las fibras elásticas y se traduce en una atrofia cutánea denominada "elastosis cutánea" lo cual conlleva el apagamiento de la tez.

Manifestaciones clínicas del envejecimiento

Las manifestaciones clínicas del envejecimiento biológico incluyen el adelgazamiento de la piel, xerosis, laxitud, líneas de expresión y atrofia, que da lugar a la prominencia de los vasos sanguíneos, a la pérdida de elasticidad y a una mayor fragilidad cutánea. A nivel histológico consta de características que acompañan a estos cambios. En la dermis, hay una reducción considerable de su espesor, así como de la vascularización, en el número y en la capacidad de biosíntesis de los fibroblastos, y, con ello, una disminución del nivel de colágeno (tipo I y tipo III), según lo afirma Vélez y cols (2017).

Además, existen otros factores que contribuyen al deterioro de la piel que incluyen cambios en los músculos, la pérdida de grasa del tejido subcutáneo, las fuerzas gravitacionales y la pérdida de sustancia de los huesos faciales y de los cartílagos. A medida que la piel envejece se vuelve laxa y el soporte de tejido blando se ve disminuido. Los efectos de la gravedad se hacen evidentes alrededor de los 50 años, que es cuando la elasticidad de la piel disminuye drásticamente según lo cita González y cols (2015).

Al hablar de fotoenvejecimiento, algunos autores como Raimondi, 2016; Ruiz y col, 2015, definen como cambios de la piel causados por la exposición crónica a la Radiación Ultravioleta (RUV), e incluso Franco y cols (2017), confirman que el producto de esa interacción de RUV con los fibroblastos, hace que su ADN mitocondrial se deteriore y conduzca a la disminución de colágeno y elastina. Es decir, el proceso natural de la piel se degrada de manera prematura y sus efectos son reflejados externamente.

Así mismo, Laura y cols (2017), refieren que el fotoenvejecimiento afecta al envejecimiento intrínseco acelerando y exagerando los procesos cronológicos y

también introduciendo cambios cualitativos en la piel, como consecuencia de la exposición acumulativa a los rayos ultravioleta, dando origen daños en el recambio celular epidérmico, al grosor y a la celularidad de la dermis, al funcionamiento de las glándulas sebáceas y sudoríparas, a la termorregulación, a la respuesta inmunológica y a un gran grupo de factores que hacen que su prevención o al menos la modulación de sus efectos, mejore ostensiblemente la calidad de vida.

Causas

Entre las causas del envejecimiento, se pueden citar:

- a) **Acortamiento de los Telómeros:** Los cromosomas son estructuras imprescindibles en la protección de su integridad. Es decir, permite proteger los extremos de los cromosomas de las actividades de reparación y degradación del ADN. Es uno de los mejores biomarcadores del grado de envejecimiento del organismo, por medio de su longitud, a una determinada edad. De esta manera con el incremento de los años, la longitud de las repeticiones teloméricas se erosiona progresivamente como consecuencia de la multiplicación celular necesaria para la regeneración de tejidos. Por lo tanto, los telómeros se consideran como reloj biológico determinante de la vida proliferativa de la célula (Cornejo, 2017). Con respecto al acotamiento de los telómeros surge el modelo del Estrés Oxidativo, que postula las mutaciones y los daños acumulados con los años relacionado con el aumento del envejecimiento (Pemberthy, Jaramillo, Velásquez, Cardona, Contreras y Jaramillo, 2016).

- b) **Estrés Oxidativo:** Factor presente en la alteración de la homeóstasis óxido-reducción intracelular. Este desequilibrio entre su producción y eliminación (pro-oxidantes y antioxidantes) puede ocasionar una excesiva proliferación de especies reactivas de oxígeno (ERO) (iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos), tanto inorgánicos como orgánicos. Afectando a los componentes celulares y conduciendo al daño celular, de órganos y tejidos provocando una

modificación estructural, que se traducirá en una alteración funcional. Es decir, el estrés oxidativo es responsable del envejecimiento prematuro y está involucrado en numerosas enfermedades (cardiovasculares, neurológicas, degenerativas y ciertos tipos de cáncer), según lo refieren los autores Sánchez-Valle y Méndez-Sánchez (2018) y Olarte y cols (2016).

c) **Cambios hormonales:** Escobar (2012), citado por Cornejo (2017), define a las hormonas como uno de los factores intrínsecos productores del envejecimiento de la piel. La producción de las hormonas sexuales en las gónadas, hipófisis y glándulas suprarrenales disminuye gradualmente con la edad. Las mejor conocidas son la disminución de estrógenos, testosterona, dehidroepiandrosterona (DHEA) y su éster sulfato (DHEAS). El estrógeno ejerce sus acciones sobre los fibroblastos donde actúa a través de receptores en la piel. Al igual con la progesterona contribuyen al mantenimiento de la fibra elástica, por lo que su deficiencia causa diversas alteraciones cutáneas. Así mismo la disminución de otras hormonas (la insulina, el cortisol, la tiroxina y la hormona del crecimiento), también conduce al deterioro de diversas funciones de la piel. Los autores Jiménez-Rubio, Herrera-Pérez, Hernández-Hernández y Martínez-Mota (2017) hacen referencia a otros factores que desencadenan el envejecimiento, llamados factores extrínsecos, como lo son:

d) **Efecto de la nicotina (Tabaquismo):** Se debe a la disminución del flujo sanguíneo, lo que lleva a la falta de oxígeno y nutrientes, ocasionando daño del colágeno y de la elastina. El fumar aumenta la displasia del queratinocito y, por lo tanto, el aspecto despulido de la piel. También aumenta la expresión de radicales libres, lo que favorece al estrés oxidativo en el sistema (Ramírez y cols, 2015).

- e) **Radiación Ultravioleta (UV):** El fotodaño de la piel es causado por los efectos acumulativos de la radiación UV que proviene principalmente, pero no en forma exclusiva, del sol. El colágeno de la dermis superior se altera y disminuye en cantidad, aumentan los glicosaminoglicanos de la matriz y se producen importantes alteraciones de las fibras elásticas. La RUV inicia los cambios moleculares en la piel a través de la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO) que actúan directamente con los lípidos (peroxidación) de la membrana celular (De Sancovich y Sancovich, 2018; Franco y cols, 2017).
- f) **Mala Nutrición:** Los antioxidantes son moléculas dotadas de la capacidad de neutralizar los radicales libres que dañan la piel y aceleran su envejecimiento. Una dieta con carencia de antioxidantes no contribuirá en absoluto a retrasar el envejecimiento cutáneo en general. No obstante, la ingestión de grandes cantidades de frutas y verduras ricas en antioxidantes puede llegar a ser una herramienta fundamental en el enfoque natural de la prevención del proceso de envejecimiento (Franco y cols, 2017).

www.bdigital.ula.ve

Tratamientos Antiedad

Los autores González y cols (2014) afirman que en la última década se ha producido un extraordinario avance en los conocimientos relacionados con las diversas ramas biomédicas, entre ellas, la biología celular, lo que ha dado un notable impulso a una nueva disciplina de la Medicina denominada, *Medicina Regenerativa*, la cual se sustenta en la terapia celular, en la administración de elementos subcelulares y en la ingeniería de tejidos, conductas usadas para reemplazar las células dañadas por células sanas, procedimientos destinados a la promoción de la regeneración celular por medio de diversos procesos en determinados tejidos.

Es por ello, que la Medicina Regenerativa ha surgido como una conducta científica de naturaleza multidisciplinaria dado que, a través de ella, pueden ser atendidas algunas entidades patológicas (cardiovasculares, enfermedades neurológicas degenerativas, diabetes mellitus, enfermedades traumatológicas, entre otras), también de naturaleza no patológicas sino fisiológicas (envejecimiento

biológico o intrínseco) (Monteiro e Silva y cols, 2017; Rodríguez-Segura y cols, 2016).

Monteiro e Silva y cols (2017), acota que dentro de la Medicina Regenerativa consta de procedimientos empleados entre ellas esta las terapias a base de materiales autólogos como los concentrados plaquetarios (Plasma Rico en Plaquetas o PRP), marcando tendencias innovadoras y vanguardistas dentro de la medicina estética y en especial para el envejecimiento, por ser este un proceso continuo, universal e irreversible que determina una pérdida progresiva de la capacidad de adaptación.

Actualmente, existen muchas terapéuticas para el envejecimiento cutáneo, a partir de técnicas no quirúrgicas hasta procedimientos quirúrgicos, productos que se van sofisticando y aportan nuevos beneficios impensables, no obstante, se debe elegir el más idóneo para las alteraciones que quiere corregir el paciente, cada vez se intenta conseguir mejores resultados en menos tiempo y los problemas más comunes del envejecimiento de la piel, no solamente la líneas de expresión, más aun en restaurar los niveles de antioxidantes para contrarrestar los niveles de radicales libres y con esto disminuir el daño que causan a la piel y al músculo. Entre los antioxidantes más aplicados como los proteoglicanos, la vitamina E y los polifenoles parecen ser los que más evidencias a favor de sus efectos beneficiosos presentan (Cornejo, 2017; Ramírez y cols, 2015). Entre los principales agentes en el tratamiento del deterioro facial se definen en:

Procedimientos Quirúrgicos.

Según autores Vélez y cols (2017) refieren que la cirugía del envejecimiento facial consiste en un complejo de técnicas quirúrgicas, desarrolladas en la vertiente estética de la cirugía plástica para revertir los principales signos del proceso de envejecimiento facial. El éxito de esta cirugía, depende del conocimiento cabal de la anatomía humana y de la correcta evaluación de los cambios tisulares producidos en el paciente y de la experiencia del cirujano, que le permitirá adaptar variantes a cada caso:

a. Lifting facial o Ritidoplastia: Es una técnica quirúrgica consiste en reponer la grasa, piel y capas de músculos que se necesiten y luego eliminar el tejido o grasa sobrante; todo este proceso se realiza en una sola sesión quirúrgica que por lo general dura entre 5 a 7 horas. Este procedimiento puede realizarse con anestesia local o general, esto dependerá del estado emocional y psicológico del paciente (Espinosa y García, 2018; Vargas y Marca, 2014).

b. Blefaroplastia: consiste en modificar los efectos fisiológicos del envejecimiento, corrige la expresión de cansancio y fatiga mediante la exéresis de la piel redundante en párpado superior y la extirpación de las bolsas grasas del párpado inferior, tienen una gran influencia en la expresión facial lo cual es uno de los motivos más frecuente de consulta (Hernández, Amador, Centelles y Porro, 2018; Bescós, Pamias, Sáez, González, Moreno y Burgueño, 2014).

Procedimientos no quirúrgicos

Los autores Ramírez y cols (2015) señalan que en el campo de la Medicina Estética cuenta con importantes avances, seguros y con muy buenos resultados. Por esto el interés en el campo de la Cirugía Estética, tiene un gran aliado en estos procedimientos médico-estéticos, pues complementan y realzan la cirugía de la mirada. Por estas razones, cirujanos plásticos deciden incluir procedimientos no invasivos como parte de su arsenal terapéutico a la hora de rejuvenecer las diferentes subunidades del rostro. La unión y combinación de todas estas técnicas no invasivas son bien conocidas tanto por cirujanos plásticos como por médicos estéticos con el nombre mesoplastia; que utiliza agujas intradérmicas para estimular los procesos metabólicos del organismo y lograr una reestructuración cutánea. A continuación, se mencionan algunos de estos tratamientos:

a. Fillers o rellenos dérmicos: consiste en depositar en los labios y surcos peribucales, un material que no migre ni cambie de consistencia y a la vez que no produzca una reacción inflamatoria. Los más utilizados son las inyecciones de colágeno bovino, ácido hialurónico, o hidroxiapatita de calcio, que

aumentan el espesor de la piel, suavizando arrugas y rellenando surcos (Vélez y cols, 2017).

b. Microdermoabrasión: Permite la formación de miles de canales microscópicos a través de la epidermis con el objeto de estimular la neoformación de colágena, o bien, permitir el uso de diferentes elementos terapéuticos que pueden administrarse a través de estos microcanales, cristales diminutos bajo presión para eliminar y extraer por vacío células superficiales de la piel para mejorar la textura y disminuir las maculas (Medina y Rodríguez, 2015).

c. Lipoinyección (trasplante de grasa autóloga): Se define como la transferencia heterotópica de células grasas y de tejido estromal, lo que proporciona un aumento de los tejidos blandos faciales. Es una forma rápida, segura y económica para restaurar el aspecto juvenil de la cara, es decir es un procedimiento reconstructivo con implicaciones regenerativas tisulares, debido a que el tejido adiposo humano contiene una población de células mesenquimales capaces de proliferar y diferenciarse a múltiples tipos celulares (Magallanes, 2014).

d. Denervación química: Aplicada en la mayoría de casos en el tercio superior de la cara, mediante el uso de la Toxina botulínica de tipo A, neurotoxina producida en los cultivos de la bacteria *Clostridium botulinum*. Es un inhibidor neuromuscular altamente específico que produce una denervación química que inhibe de manera temporal la liberación de acetilcolina desde las neuronas presinápticas. Existen 7 serotipos distintos de esta toxina (A, B, C1, D, E, F y G), sin embargo, el tipo A es el subtipo más frecuentemente utilizado en la clínica y el más potente. Este procedimiento produce una paresia selectiva de los músculos tratados, eliminando las líneas cutáneas (Marín, 2018; Resina, Jones-Caballero, Hernández-Núñez, Pascual, Daudén, 2018; Rojas, Llamas, Ramírez, Gómez, Rodríguez y Álvarez, 2016; Wheeler y Smith, 2013).

e. Laser: Consiste en producir una vaporización de la epidermis facial mediante un rayo de energía infrarroja, utilizado en el fotoenvejecimiento que permite eliminar totalmente las líneas leves o moderadas del rostro y mejorar ostensiblemente el aspecto de las más profundas ya que incrementa la producción de colágeno (Leal, Carmona y Leal, 2017).

f. Uso de antioxidantes: Según Etulain (2016), define a los antioxidantes como sustancias que retrasan o inhiben la oxidación, habiéndose identificado miles de ellos. Nuestro organismo biológicamente presenta mecanismos de defensa contra estos radicales libres, llamados antioxidantes o antirradicales.

g. Tratamiento con PRP: En Medicina y Cirugía Estética, el PRP se emplea para bioestimulación cutánea, propiciando la estimulación de colágeno y elastina dando una apariencia joven y un cutis luminoso, en tratamiento postpeeling, injertos de piel, mamoplastia, rinoplastia, lifting de cara y cuello, cicatrización de heridas difíciles, reconstrucción nerviosa, lipoescultura, autoinjerto adiposo, implante capilar, flacidez y celulitis. (Pérez, Medina, Hernández, Morales y Jurado, 2017). El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) es un material autólogo que presenta un número de plaquetas superior a la del plasma basal, debido a que ha sido sometido algún proceso de extracción y concentración, según lo afirman Moreno y cols (2015).

Sangre

Es definido como un fluido opaco y denso del tejido conectivo que se moviliza en el sistema circulatorio (Guyton y Hall, 2016), su color varía desde rojo escarlata (rica en oxígeno) a rojo oscuro (pobre en oxígeno). El pH de la sangre es 7.35 a 7.45, la temperatura es 38°C, ligeramente superior a la temperatura corporal normal y su volumen es aproximadamente de 5 litros de acuerdo al género, edad y peso corporal. La sangre comprende de una sustancia intercelular llamada plasma sanguíneo junto con elementos celulares (eritrocitos, leucocitos, linfocitos y plaquetas) (Swisher y Patton, 2016). De este modo, la sangre actúa manteniendo la composición adecuada y casi constante de los líquidos corporales, los que permiten la

nutrición, el crecimiento y la función de las células del organismo, es decir, participa en el intercambio entre el medio externo y los tejidos corporales y además es portadora de hormonas y de otras sustancias biológicamente activas, que regulan el funcionamiento de órganos como el hígado, la médula ósea y las glándulas endocrinas (Costanzo, 2018; Tortora y Derrickson, 2018). A continuación, se definen la composición de la misma:

a) Plasma. Se define como un líquido amarillento claro, de aspecto acuoso, salado y de volumen plasmático total de la sangre de 55% (40-50mL/Kg peso), constantemente se encuentra en movimiento gracias al sistema circulatorio (Aguilar y Romero, 2014). El plasma sanguíneo está compuesto en un 91% de agua y un 9% de componentes orgánicos e inorgánicos tales como: electrolitos, nutrientes, metabolitos, proteínas, vitaminas, lípidos, hormonas, anticuerpos y oligoelementos; asimismo de fibrina y otros factores de coagulación (Cervera, Álvarez, 2016; Aguilar y col, 2014).

b) Elementos celulares:

b1) Eritrocitos. También conocidos como glóbulos rojos; son unos discos bicóncavos, esto es, con forma de esfera hueca, sin núcleo, que se componen de hemoglobina, siendo esta una sustancia rica en hierro cuya función es transportar el oxígeno desde los pulmones hasta el resto de células del cuerpo (López, 2016). Su tamaño, forma y flexibilidad les permiten introducirse en espacios pequeños, teniendo una vida media que puede llegar a unos 120 días. Pasado este tiempo, mueren y son eliminados a través del hígado y del bazo, órganos encargados de recuperar y reutilizar sus elementos más valiosos, como el hierro que contienen. El recuento normal de eritrocitos es aproximadamente de 4,5 a 6 millones por milímetro cúbico para los hombres y de 4 a 5,5 millones por milímetro cúbico para las mujeres (De la Serna, 2015).

b2) Leucocitos o glóbulos blancos. Son un grupo de diferentes células, que cumplen diversas funciones en el sistema inmunológico, atacando directamente al invasor, otros producen anticuerpos, otros apenas hacen la identificación y así sucesivamente (Pinheiro, 2018). Normalmente hay entre 6000 y 10000 leucocitos por mm³ y se

habla de leucopenia cuando se encuentran disminuidos y de leucocitosis cuando están aumentados. De acuerdo a la presencia o ausencia de gránulos específicos, los leucocitos pueden ser clasificados como granulocitos (neutrófilos, eosinófilos, y basófilos) y agranulocitos (linfocitos y monocitos) (Guyton y col, 2016).

b2.1) Segmentado Neutrófilo. Presentes en sangre entre 2500 y 7500 células por mm³, son los más numerosos, ocupando entre el 55% y 70% de los leucocitos, teniendo como tarea fagocitar sustancias extrañas (bacterias, agentes externos, etc.) que entran en el organismo (Agramonte y Agustín, 2016). Poseen un núcleo multilobulado (3-5 lobulaciones), y gránulos azurófilos en su citoplasma que contienen enzimas hidrolíticas, lisozima y mieloperoxidasa, las cuales le permiten actuar en la fase aguda de la inflamación (Rodríguez, 2015).

b2.2) Segmentado Eosinófilo. Son células redondeadas de unos 15 µm de diámetro, con valores normales en sangre entre del 1 al 5 %, presentando un núcleo bilobulado y citoplasma con gran cantidad de gránulos, denominados gránulos específicos, los cuales al ser teñidos con colorantes ácidos como la eosina se tiñen de color rojo anaranjado (Rodríguez, 2015), además de ello, presentan gránulos inespecíficos azurófilos, los cuales son en realidad lisosomas que contienen hidrolasas acidas y otros enzimas hidrolíticas, que ayudan a la detección y fagocitosis de larvas de parásitos. Otras de las funciones que se conocen hoy en día son las asociadas con las reacciones alérgicas, inflamatorias, inmunes y otras homeostáticas en lugares concretos del cuerpo, sobre todo relacionadas con infecciones víricas. (Megías, Molist, Pombal, 2017).

b2.3 Segmentado Basófilo. Constituyen sólo un 0,5 % de leucocitos con un tamaño aproximado de 10 a 14µm, presentando numerosas granulaciones de naturaleza basófila en su citoplasma, ricas en histamina, heparina, sustancias quimiotácticas, kaliceína y factor activador de plaquetas (Guyton y col, 2016), sustancias indispensables para cumplir su principal función en la intervención de las reacciones alérgicas; al liberar la histamina, aumenta la circulación sanguínea en la zona afectada para que aparezcan otro tipo de glóbulos blancos, también liberan heparina participando así en la anticoagulación (Moraleda, 2017).

b3) Linfocitos. Autores como Prieto, Barbarroja, Barcenilla y Díaz en el (2013) describen a los linfocitos como los leucocitos más pequeños, con un diámetro de 6-15 μm , que contienen un núcleo circular, excéntrico teñido de color oscuro con un escaso citoplasma azul claro, existiendo en nuestro organismo un promedio 25-35% de ellos, de los cuales se diferencian tres tipos (Guyton y col, 2016): 1. Los linfocitos T: Proliferan y diferencian en el timo, llegando a circulación sanguínea para ser los principales artífices de la inmunidad celular, al poseer funciones como ayudadores (CD4) o supresores (CD8), modulando la respuesta a través de sus efectos sobre otras células (Muñoz, Regueiro y Fernández, 2016). 2. Linfocitos B: Estos en cambio se diferencian en la médula ósea y son los principales encargados de la respuesta humoral a través de la producción de anticuerpos una vez se colocan en contacto con un antígeno. 3. Linfocitos citolíticos espontáneos (NK): al igual que los linfocitos B, las NK se desarrollan en la médula ósea; y se caracterizan por ser de mayor tamaño que los linfocitos B y T (Konta, 2017), y por ser capaces de reconocer y eliminar aquellas células que han sido infectadas por virus o que son tumorales sin necesidad de una sensibilización previa.

b4) Monocitos. Son las células circulantes sanguíneas de mayor tamaño citado por (Megías y cols, 2017), con hasta 25 μm de diámetro, con un valor normal de 4-8 %. Se conforman de un núcleo grande arriñonado o en forma de U, con existencia de nucléolos, y un citoplasma que contiene gran cantidad de lisosomas y espacios similares a vacuolas que producen un aspecto en vidrio deslustrado (Jakubzick, Randolph y Henson, 2017) habitando sólo unos días en la sangre antes de migrar a los tejidos, donde se diferencian hasta convertirse en macrófagos, encargados de formar el sistema reticuloendotelial, que participa sobre todo en la fagocitosis, destruyendo células muertas e ingiriendo material extraño (Moraleda, 2017).

b5) Plaquetas. Son células anucleadas, procedentes de los megacariocitos como fragmentos liberados de sus bordes y generadas en la médula ósea, su tamaño oscila de 1-2 μm . En gran parte, contribuyen a la formación y reparación de los vasos, es decir, inician con la formación de trombo donde se acumulan en el lugar del endotelio disfuncional o dañado dentro de la pared arterial, por lo tanto, las plaquetas están

implicadas en la hemostasia normal con la participación de sus glicoproteínas (GPs). El intervalo fisiológico normal de un adulto es de $150-400 \times 10^9 /l$. ($150.000-440.000 \times mm^3$). La expectativa de vida de las plaquetas es de 7 a 10 días (Guyton y col, 2016).

Asimismo, estas células desempeñan un papel fundamental en la hemostasia, contribuyendo en el mecanismo fisiológico que previene la pérdida de sangre como consecuencia de la injuria vascular partiendo rápidamente a una respuesta funcional secuencial que incluyen varios pasos de activación como la adhesión a componentes del subendotelio, la agregación entre ellas, la liberación del contenido de sus gránulos y la formación de una superficie procoagulante que favorece la generación de trombina, la formación de fibrina y la consolidación del trombo plaquetario (Panicia, Prioria, Liotta y Abbate, 2015). Además, participan activamente en otros procesos fisiológicos incluyendo la cicatrización de heridas y la regeneración de tejidos a través de la liberación de factores de crecimiento, modeladores de la matriz extracelular, y moléculas que inducen la quimiotaxis y diferenciación de células madre endoteliales y la activación y diferenciación de células mesenquimales (Etulain, 2016; Machlus e Italiano, 2013).

Es por ello que, la aplicación local de estos factores de crecimiento en altas concentraciones a través del plasma rico en plaquetas ha sido utilizada, por varias décadas, para acelerar el proceso curativo de diferentes lesiones.

Características estructurales de las plaquetas (En reposo)

Zona periférica o pared celular.

Bermejo, 2017 afirma que la morfología de las plaquetas en estado de baja afinidad donde su forma es discoidal y esta experimenta modificaciones en su estructura cuando son activadas. Para el desarrollo de esta función, la superficie plaquetaria juega un rol crucial de contacto (Figura 1), primero asegurando la adhesión a los componentes del subendotelio expuesto y luego su activación participando la liberación de gránulos y así favoreciendo la agregación y formación

b) Membrana interna. Esta segunda bicapa, lipídica es asimétrica, especialmente rica en ácido araquidónico. La membrana expone una superficie cargada negativamente (en respuesta a la activación), denominado factor plaquetario 3 (FP3) o fosfolípidos plaquetarios, esenciales como soporte o fase sólida de las reacciones enzimáticas de las proteasas de serina y sus cofactores para la formación de fibrina. De igual forma, el ácido araquidónico entra en el metabolismo de los eicosanoides, participando en la transmisión del estímulo recibido en las membranas hacia las regiones celulares efectoras. (Gremmel y cols, 2016; Hernández, 2014).

Mediante microscopía electrónica se ha analizado la distribución y la funcionalidad de las GPs tanto en la superficie como a nivel intracelular, de las cuales las más relevantes son (Tabla 1):

Tabla 1. Glicoproteínas de la membrana plaquetaria.

Complejo GPIIb-IX-V	<ul style="list-style-type: none"> •Receptor más importante implicado en la adhesión, uniendo la superficie plaquetaria al subendotelio, mediante el vWF y la trombina. •Situado en la superficie total de la plaqueta en reposo. •Constituido por tres GPs (GP Ib, GP IX y GP V). •La conexión del complejo con la malla de actina se produce a través de una proteína de unión a actina (ABP) y es particularmente importante en la modulación del mecanismo de adhesión (Bermejo, 2017; Hernández, Zavala, Quintana y Reyes, 2014)
La GPVI	<ul style="list-style-type: none"> •Es el receptor vital para colágeno. •Participa en los eventos tempranos de la función plaquetaria, así mismo en la activación y la agregación inducida por colágeno (Estévez y Du, 2017).
Complejo GPIIb-IIIa (αIIbβ3)	<ul style="list-style-type: none"> •Principal receptor en la agregación plaquetaria, está comprometido en unir el fibrinógeno al vWF. •Este complejo homogéneamente se encuentra distribuido sobre la superficie y en la membrana del sistema canalicular conectado a la superficie (SCCS). •Además, la membrana externa consta de depósitos internos que conlleva la presencia de los gránulos α que representan una cantidad mayor al 3 •La función más importante de este pool interno es la incorporación y almacenamiento del fibrinógeno plasmático en los gránulos α (Juárez, Gallegos, Mayoral, Campos, Pina y Cruz, 2017; Farré y col, 2013).
La GPIV (CD36)	<ul style="list-style-type: none"> •Está involucrada en las propiedades de adhesión y agregación plaquetaria. •Actúa como receptor del colágeno tipo II y de la trombospodina, participando en la transducción de señales. •Por microscopía electrónica se ha detectado GP IV sobre la superficie plaquetaria, en el sistema canalicular y en la membrana de los gránulos α (Semple, Italiano y Freedman, 2011).
Complejo GPIa-IIa (α2β1)	<ul style="list-style-type: none"> •Une al colágeno, mientras que GPIc-IIa y GPIc * -IIa (α5β1, α6β1) unen laminina y fibronectina, respectivamente. •Otra forma de GPIa-IIa, es el complejo α5β3 (Li, Delaney, O'Brien y Du, 2010) que está presente sobre la superficie en bajas concentración y une proteínas adhesivas tales como fibrinógeno, fibronectina y VWF (Bermejo, 2017; Juárez y cols, 2017).

Zona estructural: conformada por citoesqueleto, organelos y sistemas de membranas.

- **Citoesqueleto.** Es un gel viscoelástico que contiene filamentos de actina entrecruzados, conectados a la GPIIb por proteínas enlazantes de actina,

confiriendo estabilidad a la plaqueta y, junto a los microtúbulos, propicia el mantenimiento de su forma (Etulain, 2016).

- **Zona de organelos.** El citoplasma contiene partículas de glucógeno diseminadas o aglomeradas que constituyen la fuente energética de esta célula en forma similar a las células musculares. Contiene ribosomas en muy pocas cantidades, mitocondrias, lisosomas (Gremmel y cols, 2016). Además de esto, la plaqueta porta en su interior tres tipos de compartimentos de almacenaje, cuyo contenido es liberado a la circulación al activarse.
- **Gránulos Alfa (gránulos α).** Constituyen un 15 % del volumen total de las células, son organelos esféricos que miden entre 140 a 400 nm en diámetro, compuesta de abundantes macromoléculas con una porción de alta densidad en electrones. Sus membranas contienen GPIIb/IIIa, PGDF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas), fibronectina, además en pequeñas cantidades de GPIb, GPIX y P selectina. Para el funcionamiento celular, tiene una importante participación, al propiciar la interacción entre plaquetas, de ahí que la cantidad de gránulos α (como promedio 35-40) determina el valor funcional de la célula. También interactúan con otras células a través de la liberación de su contenido (Guyton y col, 2016).
- **Gránulos Densos (gránulos δ).** Almacenan calcio en altas concentraciones, además de ATP, ADP, serotonina, Pirofosfatos y polifosfatos. El calcio liberado por estos gránulos en el citoplasma desencadena una serie de eventos fundamentales para la agregación plaquetaria, que incluyen entre otros, la activación de la Fosfolipasa A2, (con liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de las membranas, y su conversión en Tromboxano A2), y desencadena la contracción del complejo actina-miosina asociado al citoesqueleto interno flexible de las plaquetas, lo cual provoca cambios conformacionales con centralización de organelas y formación de los pseudópodos característicos de la plaqueta activada (Gremmel y cols, 2016; Yungan, 2013).

- **Los lisosomas.** Son los gránulos más pequeños, menos de 300 nm de diámetro al microscopio electrónico. Contienen enzimas: fosfatasa ácida, arilsulfatasa, b-glucuronidasa, entre otras. El rol de estas enzimas durante la activación plaquetaria está relacionado a la interacción con la pared vascular y la digestión de componentes de la matriz, la mayoría de los lisosomas contienen enzimas hidrolasas ácidas (Gremmel y cols, 2016; Yungan 2013).

Sistema de membranas:

- **Sistema tubular denso.** Es un sistema de membranas que aparece en la vecindad de los microtúbulos y rodea los organelos, con apariencia, y funciones similares a las del retículo endoplásmico liso de otras células. Regula la activación plaquetaria mediante el secuestro o liberación de calcio, localizándose además en su membrana importantes actividades enzimáticas (fosfolipasas, ciclooxigenasa) que serán estimuladas durante las fases de activación celular. También posee ATPasas, enzimas del metabolismo del ácido araquidónico y adenilato ciclasa (Gremmel y cols, 2016)
- **Sistema canicular abierto.** Este sistema es una red tubular muy entrelazado que pone en comunicación con la superficie de la plaqueta, a través de poros, con el sistema tubular denso de la granulómera (Ru, Dong, Liang & Zhao, 2016). A través de este sistema se transportan las GPIIb/IIIa y la GP1b hacia los gránulos alfa, durante la reacción de secreción (Yungan 2013).

Origen de las Plaquetas

Megacariopoyesis

Según autores Rivadeneyra, Ivani, Schattner y Pozner, 2016, el desarrollo se lleva a cabo el proceso de diferenciación de la línea megacariocítica, a partir de la médula ósea y trombopoyesis al proceso de liberación de plaquetas del megacariocito. El megacariocito derivado de la célula troncal hematopoyética (CTH) de la médula ósea consta de dos características funcionales que las distinguen: son

capaces de auto-renovarse y son multipotenciales, en su superficie se ha encontrado antígenos que se expresan (CD34, CD90, CD117 y CD133) y carece de la expresión de antígenos de linajes específicos (Figura 2). Dichas células dan origen a células progenitoras hematopoyéticas que pierden la capacidad de renovación, pero siguen conservando su monopotencialidad, bipotencialidad o multipotencialidad, según sea el caso, conservan el antígeno CD34, ya expresan antígenos del linaje al cual darán origen. La célula progenitora multipotente da origen al progenitor linfoide común (PLC) y al progenitor mieloide común (PMC); que da origen a su vez a los progenitores granulocito/monocíticos (PGM) y progenitores eritroides/megacariocíticos (PEM).

La diferenciación de progenitores a células precursoras depende de la activación de genes específicos para cada linaje en particular, como de la presencia de diversos factores de crecimiento, citocinas y quimiocinas, las cuales determinan el destino de cada célula en particular (Rivadeneira y cols, 2016).

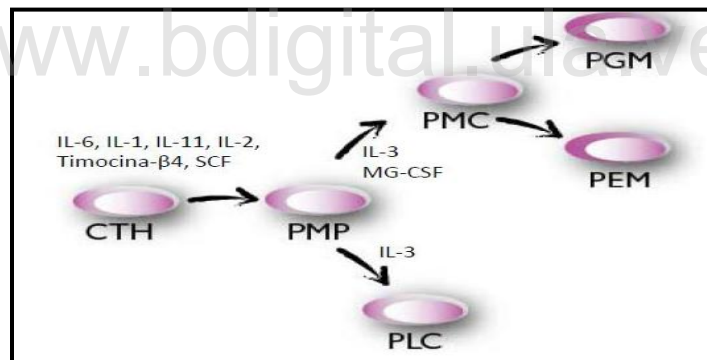


Figura 2: Megacariopoyesis. **Fuente:** <https://es.slideshare.net/victorcastillo271/las-plaquetas-origen-formacin-y-funcin>

De esta manera, la célula bipotente PEM da lugar a unidades formadoras de brotes megacariocitos (UFB-Meg), los cuales, se encargan de generar unidades formadoras de colonias megacariocíticas (UFC-Meg). Para la estimulación de las unidades formadoras de colonias de la serie megacariocítica se requiere de la trombopoyetina, una glucoproteína producida primordialmente por el hígado (en menor cantidad por los riñones y por los miocitos esqueléticos). Los marcadores de las CFU-Meg y BFU-Meg que indican que ya se diferenció a línea megacariocítica

son CD34, CD33 y CD41. Luego de ello, dan origen a los precursores denominados megacarioblastos, en orden jerárquico madura y genera el megacariocito inmaduro (Meg-I), este una vez que desarrollan un citoplasma maduro dan lugar a los megacariocitos maduros (Meg-M), quienes finalmente liberaran las plaquetas (Figura 3) (Hernández, 2014).

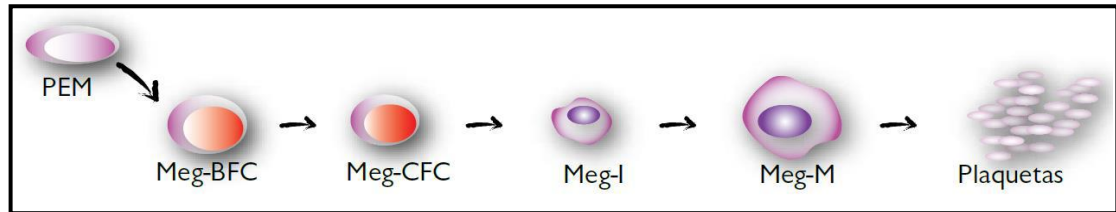


Figura 3: Megacariopoyesis. **Fuente:** Hernández, 2014.

Maduración de las plaquetas

Se han utilizado varios esquemas de clasificación basados en las características morfológicas, la tinción histoquímica y los marcadores bioquímicos para categorizar las diferentes etapas del desarrollo de los megacariocitos. En general, se pueden identificar tres tipos de morfologías en la médula ósea (Figura 4):

- **Megacarioblasto:** Es una célula con diámetro de 15-50 micras, núcleo grande, ovalado o en forma de riñón. El núcleo se hace poliploide; dos conjuntos de cromosomas (4N) y contiene hasta 30 veces la cantidad normal de ADN; solo después tiene lugar la diferenciación del citoplasma, que es homogéneo e intensamente basófilo (Ru y cols, 2016).
- **Promegacariocito:** Luego que el megacarioblasto madura se convierte en un promegacariocito que alcanza un diámetro de 15 a 30µm, con citoplasma granular. Estos gránulos aparecen primero en la región perinuclear o de Golgi. El núcleo es lobulado en forma de herradura, sin nucléolos. En esta etapa comienza a desarrollarse el sistema de membrana citoplasmática denominada sistema de membrana de demarcación, pero solo visible por microscopía electrónica (Kaushansky y Kaushansky, 2014; Rivadeneyra y cols, 2016).
- **Megacariocito maduro:** El megacariocito es la célula más grande de la médula ósea, se caracterizan por un tamaño más grande (80 a 100 µm),

presenta un núcleo multilobulado y con relación núcleo/citoplasma disminuida (hasta 64N), un citoplasma basófilo, abundantes gránulos y con membranas de demarcación. A partir del promegacarioblasto ya tiene los antígenos de superficie CD41, CD42 (glucoproteína Ib) y CD61 (glucoproteína IIIa), así como el FvW. Esta célula es capaz de producir entre 1000 a 5000 plaquetas (Rodríguez, 2015; Mormalejo, Tatis, Conde, Hernández, Castillo, 2014).

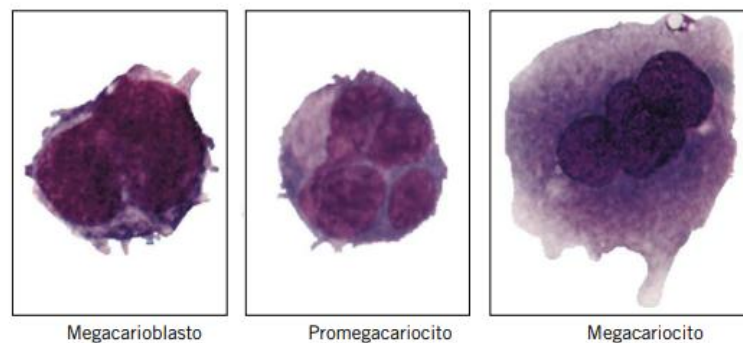


Figura 4: Maduración de las plaquetas.
Fuente: https://www.flickr.com/photos/samantha_ive/3269721170.

En resumen, al final de la fase de proliferación los progenitores megacariocíticos (PMC y PLC) salen del estado diploide para diferenciarse y sufrir endomitosis, resultando en células que poseen múltiplos de un contenido normal diploide de cromosomas (4N, 16N, 32N, 64N, 128N). Aunque la poliploidización, es esencial para la producción eficiente de plaquetas, podría ser el resultado de la ausencia de mitosis después de cada ronda de replicación del ADN, estudios posteriores de Nagata, Muro, y Todokoro, 1997 citado por Grodzielski, 2017, sobre megacariocitos primarios en cultivo, demostraron que la endomitosis no es la consecuencia de una ausencia completa de mitosis, sino de su terminación.

De esta manera, los megacariocitos se vuelven poliploides a través de ciclos repetidos de replicación del ADN sin división celular. Mientras que el número de ciclos puede oscilar entre dos y seis, la mayoría de los megacariocitos experimentan tres ciclos endomitóticos para alcanzar un contenido de ADN de 16N. Esta

poliploidización resulta en una amplificación funcional de genes, cuyo propósito es un aumento en la síntesis proteica en paralelo con el agrandamiento de la célula (Ru y cols, 2015; Kaushansky y col, 2014).

Además, uno de los propósitos de la endomitosis es la proliferación en grandes cantidades de proteínas que, junto con los lípidos necesarios, contribuyen a sintetizar el sistema de demarcación de membrana (SIM). El SIM se encuentra distribuido a lo largo del citoplasma de los megacariocitos, compuesto de un extenso complejo de cisternas y túbulos, que es continuo con la membrana plasmática y constituye un reservorio de la misma (Grodzielski, 2017). Una vez completado el proceso de endomitosis, el megacarioblasto, emprende una etapa de maduración en la que el citoplasma se llena con proteínas plaquetarias y organelas y finamente se desarrolla el sistema tubular denso. La maduración de los megacariocitos se caracteriza, además, por la formación progresiva de una variedad de gránulos secretorios, siendo los más abundantes los gránulos α y seguidamente los gránulos densos que se definirán más adelante (Guo, Wang, Qu, Yin, Jing y Zhang, 2015).

Mecanismo de formación de las plaquetas (Trombopoyesis)

Según autores Schulze, Korpál, Hurov, Kim, Zhang, Cantley, Graf y Shivdasani (2006) citado por Machlus y col, (2013), explican la mecánica de la producción de plaquetas propuesta en tres modelos y definiéndose (Figura 5):

1. Fragmentación citoplásmica, a través del sistema de invaginación de membrana (SIM). Dicho modelo, describe los campos predeterminados del tamaño de las plaquetas dentro del citoplasma de los megacariocitos, es decir, las plaquetas se liberan en forma de fragmentos del citoplasma a lo largo de las líneas de fractura del SIM.

2. Brote de plaquetas, en este modelo a partir de la periferia de los megacariocitos sobresalen las plaquetas desprendiéndose en protrusiones.

3. Formación de proplaquetas, para ello, requiere la producción de las plaquetas a través de sus estructuras intermediarias que son prolongaciones citoplasmáticas

largas que aparecen como cuentas de tamaño de plaquetas unidas entre sí por finas hebras citoplásmicas.

Evidentemente, el descubrimiento de la trombopoyetina (TPO), la interacción de la citoquina junto con el receptor específico de trombopoyetina (c-MPL), promueven el crecimiento y desarrollo de sus precursores, esto ha permitido el desarrollo de sistemas de cultivo que recapitulan la biogénesis plaquetaria resultando en una nueva comprensión de la fase de diferenciación terminal de la trombopoyesis (Grodzielski, 2017; Machlus y col, 2013).

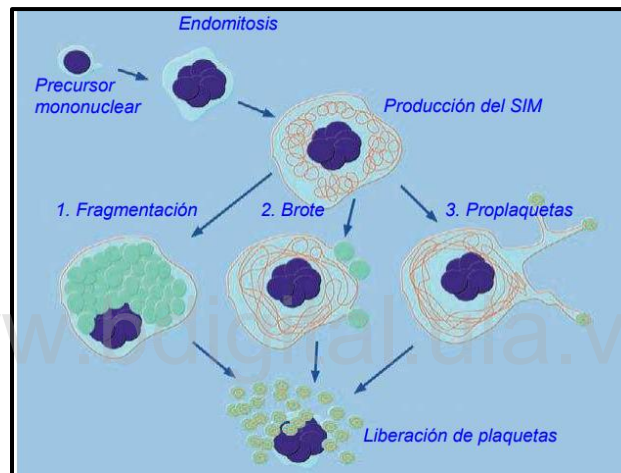


Figura 5: Formación de las plaquetas (Trombopoyesis). **Fuente:** Modificado de Rivadeneyra, Ivani, Schattner, Pozner, 2016.

Finalmente, se destaca que los megacariocitos migran desde el nicho osteoblástico al nicho vascular (Figura 6), diferenciándose a partir de las células madre hematopoyéticas, donde las plaquetas son liberadas al torrente sanguíneo (Ru y cols, 2016; Rivadeneyra y cols, 2016), por otro lado, el lumen es detectado por el megacariocito mediante los podosomas, son estructuras cilíndricas ricas en actina localizadas en la superficie externa de la membrana plasmática, su función es degradación activa de proteínas de la matriz extracelular, como el fibrinógeno, favoreciendo la extensión de proplaquetas a través de la membrana basal (Schachtner, Calaminus, Sinclair, Monypenny, Blundell, Leon, Holyoake, Thrasher, Michie,

Vukovic, Gachet, Jones, Thomas, Watson y Machesky, 2013). Además, la corriente de la sangre constituye una fuerza que permite alargar y organizar las extensiones citoplasmáticas en la dirección del flujo sanguíneo y, a su vez, a separar los fragmentos de las proplaquetas del cuerpo celular del megacariocito (Ru, y cols, 2015)

Considerando una vez que, los megacariocitos liberan la mayoría de su contenido de plaquetas, caen en el torrente sanguíneo, donde su tamaño disminuye tanto que quedan reducidos a casi el sólo núcleo polilobulado y terminan en los capilares alveolares donde liberan algunas plaquetas, o sólo sus núcleos (núcleos desnudos) y son fagocitados por los macrófagos (Contreras, 2013).

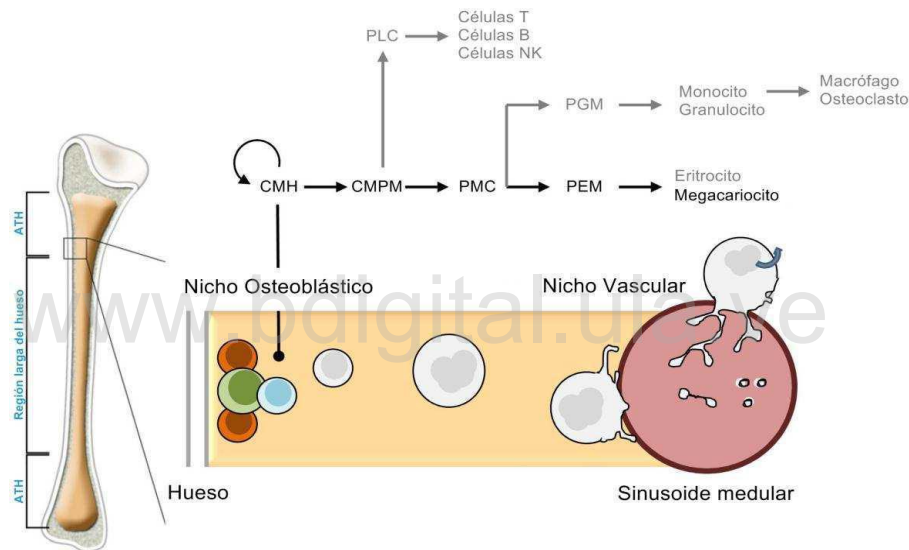


Figura 6: Formación de las plaquetas (Trombopoyesis).
Fuente: modificado de Machlus e Italiano, 2013.

Hemostasia

Es el conjunto de mecanismos que se ponen en marcha para detener los procesos hemorrágicos tras una lesión vascular (Guerrero y López, 2015; Constanzo, 2018), en donde participan la pared del vaso sanguíneo, las plaquetas y los factores de la coagulación afirman Bravo y Álvarez, (2016); es por ello que la hemostasia permite que la sangre circule libremente por los vasos y cuando una de estas estructuras se ve dañada, permite la formación de coágulos para detener el sangrado, posteriormente reparar el daño y finalmente disolver el coágulo, restableciendo el

flujo sanguíneo (Menéndez, Rubio, Sánchez y Valle 2011). Para entender mejor el mecanismo de la hemostasia y coagulación, clásicamente, se la ha dividido en dos fases:

1. Hemostasia primaria: Se caracteriza por el reclutamiento y activación de las plaquetas para formar el tapón plaquetario, que inicia segundos después del traumatismo vascular. Es decir, ante una lesión vascular, las plaquetas se unen al subendotelio o al tejido perivascular expuesto a la sangre desarrollando una serie de mecanismos (Figura 7) como lo son: a) Adhesión, b) Activación, c) Secreción y d) Agregación (Irulegui, Sierra, Moteró, Martín y García, 2016; López y col, 2013), todos ellos para contribuir a la formación de dicho tapón inicial.

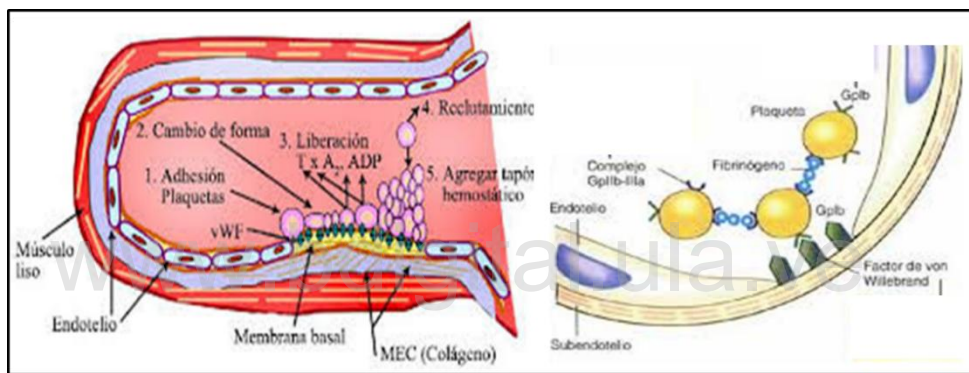


Figura 7: Hemostasia primaria. Mecanismo de respuesta del vaso frente a una lesión vascular.

Fuente: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/44944/Documento_completo.pdf?sequence=1.

a. Adhesión plaquetaria. Ante una lesión vascular que ocasiona ruptura del endotelio queda expuesta la matriz subendotelial, ocasionando que el colágeno, el factor von Willebrand (vWF), factor tisular y otras proteínas que se encuentran en ese lugar entren en contacto con la sangre, favoreciendo con ello la adhesión, activación y agregación plaquetaria, con liberación de diversos mediadores y factores procoagulantes que aseguran la formación del tapón hemostático primario. (Guerrero y col, 2015; Hernández-Zamora, Zavala-Hernández y Reyes-Maldonado, 2015). Aunque el endotelio tiene múltiples proteínas adhesivas, la más importante para la adhesión plaquetaria es el colágeno (Flores, Ramírez, Meza, Nava, 2014), el cual se

une a la plaqueta mediante la GPIb del complejo GPIb/IX/V y el factor de Von Willebrand subendotelial (Barros, 2016) donde éste se enlaza al colágeno y cambia su conformación, lo que permite que la GPIb/IX se le una, fijando la plaqueta al colágeno.

b. Activación. Una vez que el FvW subendotelial se asocia con los filamentos de colágeno tipo IV se induce la activación plaquetaria (Yungan, 2013) y su adhesión firme a la pared vascular para la formación inicial del trombo, trayendo como consecuencia que las plaquetas cambien de forma; donde inicialmente se presentan discoides se vuelvan esféricas y emitan pseudópodos para aumentar y mejorar la superficie de adhesión a la lesión, ocurriendo simultáneamente la secreción plaquetaria (Grimaldo 2017; Arcuri, 2013).

c. Secreción. En el momento en que se produce el contacto de las plaquetas con el subendotelio se disparan varios cambios químicos (Sabbione, 2015); comienza la liberación de sustancias activas almacenadas en los gránulos densos de las plaquetas (ADP o ATP, calcio, y serotonina) y de los Granulos- α (factor 4 plaquetario, factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF beta 1), FCDP, fibronectina, B-tromboglobulina, FvW, fibrinógeno, y factores de coagulación; factor V y XIII), algunas de estas sustancias consideradas agonistas (Gómez y cols 2018) como la epinefrina, trombina, ATP, colágeno y tromboxano A₂; encargados de estimular la unión de unas plaquetas con otras, el reclutamiento de más plaquetas y el crecimiento del coágulo (Flores y cols 2014).

d. Agregación plaquetaria. Después de la deposición de las plaquetas sobre el FvW y el colágeno, se requiere el reclutamiento de nuevas plaquetas desde la circulación, fenómeno dado por factores cooperadores, donde el principal es el TxA₂, que se sintetiza en la plaqueta como consecuencia de la liberación de ácido araquidónico por la acción de la fosfolipasa A₂ (Guyton y col, 2016). Esto conlleva a que se dé la agregación plaquetaria con la ayuda de agonistas de la activación de las plaquetas; (ADP, entre otros), y su secreción, al momento de estar adheridas a la pared del vaso. Así mismo, es indispensable para este proceso el fibrinógeno, él cual se une a su

receptor en las plaquetas; la GPIIb/IIIa presente en la membrana fosfolipídica, es decir, la unión del ADP a su receptor plaquetario induce un cambio conformacional de los receptores GPIIb/IIIa lo que permite que se unan al fibrinógeno y de esta manera se formen agregados plaquetarios (Grimaldo, 2017), permitiendo el establecimiento de puentes estables entre las plaquetas. Autores como Ortiz, Ariza, Trujillo, Bejaranob, Gutiérrez, Gálvese, Duque y Garay, 2016; Flores y cols 2014, alegan que en este punto, el coágulo es una masa de plaquetas empacadas estrechamente y rodeadas de muy poca fibrina, sin embargo, la membrana de las plaquetas activadas ofrecen el ambiente ideal para acelerar la generación de más fibrina, al proveer de fosfolípidos necesarios para la formación del coágulo definitivo, principalmente una lipoproteína denominada factor plaquetario 3 (tromboplastínico), y de otros fosfolípidos, ligandos para los factores de la coagulación Va, VIIIa, IXa y Xa (Hernández 2014).

2. Hemostasia Secundaria (coagulación): Según Ceresetto (2018) es el proceso por el que se activa la cascada de la coagulación, dando lugar a la fibrina estable e insoluble, puesto que este sistema está integrado por una serie de proteínas plasmáticas o factores de la coagulación que circulan en el plasma como proteínas precursoras inactivas (cimógenos o proenzimas) que van a ser activadas por clivaje de residuos de serina (Alvarado, 2013), para que de esta forma quede al descubierto su sitio activo, y las proteínas se conviertan a su vez en enzimas tipo serinoproteasas estado que se designa por el sufijo *-a* (por ejemplo: factor IXa), en donde está, sucesivamente va a clivar residuos de serina de otra proenzima y va a activar otro factor de la coagulación (Osorio y cols, 2013), en una cadena progresiva de activaciones. De acuerdo con el modelo celular se desarrolla en cuatro fases simultáneas sobre diferentes superficies celulares (Figura 8):

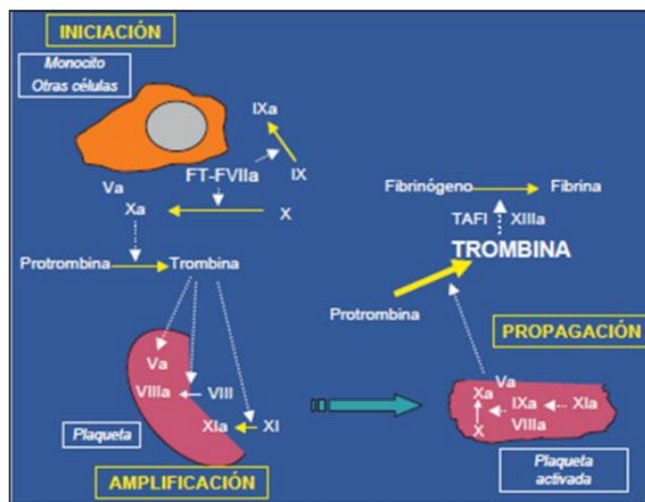


Figura 8: Hemostasia Secundaria. Modelo celular de la coagulación. **Fuente:** Lorenzo, Moreno, Lizasoain, Leza, Moro y Portolés, 2015.

a. Fase de Iniciación: Comienza tras la exposición del FT, una proteína transmembranal normalmente ausente de la circulación y el endotelio sano, pero abundante en células perivasculares como los fibroblastos, monocitos, expuestos luego de una lesión vascular (Osorio y cols, 2013). En primera instancia el factor VII (el único que en un porcentaje del 1% circula activo en el plasma) se une a la porción fosfolipídica del FT a través de sus residuos carboxiglutamato mediante puentes de Ca^{+} , creando el complejo FT/FVIIa (Ceresetto, 2017) principal iniciador de la hemostasia que promueve a la activación de más FVII, así como también del FIX y FX. Este Factor Xa generado se une sobre una superficie fosfolipídica con su cofactor, el FVa (liberado en su forma activa de los gránulos plaquetarios o activado por el FXa u otras enzimas) para producir pequeñas cantidades trombina, que serán insuficientes para completar el proceso de formación de la fibrina, pero que sirven para estimular la sobre expresión de FT y activar a las plaquetas y al FV, así como para disociar al FVIII del vWF y activar al FVIII (Guerrero y col, 2015).

b. Fase de amplificación: Mientras la mayor parte de acontecimientos durante la fase de iniciación se limita a la célula portadora del FT, en la fase de amplificación la célula fundamental es la plaqueta, la cual es dependiente de su adhesión al colágeno subendotelial y su activación por las trazas de trombina que se forman durante la fase

de iniciación (Guerrero y col, 2018); al activarse la plaqueta genera un cambio rotacional en algunos lípidos de su membrana, que al exterior expresan residuos de fosfolípidos como la fosfatidilserina que, normalmente, se encuentran en el interior, este cambio genera una superficie cargada negativamente que, por medio del Ca^{+} sirven como templete para la activación del factor X y mayor síntesis de trombina; la cual conlleva al reclutamiento de más plaquetas y retroalimenta de manera positiva al sistema al activar a los factores V, VIII y XI para formar los complejos enzimáticos requeridos en la siguiente fase (Irulegui y cols, 2016).

c. Fase de propagación: El FIXa que se había originado con la células que contienen FT (generado en la fase de iniciación) y su migración a la superficie plaquetaria forma allí junto con el FVIIIa, en presencia de iones de Ca^{+} , el complejo “Tenasa Intrínseco”, encargado de producir grandes cantidades de FXa, el cual, a su vez, al unirse al FVa sobre la misma superficie celular en presencia de Ca^{+} forma el complejo “Protombinasa” que cataliza la conversión de protombina en grandes cantidades trombina, lo que se conoce como “Explosión de trombina”, permitiendo así la liberación de los fibrinopéptidos A y B de los extremos N-terminales de las cadenas $A\alpha$ y $B\beta$ del fibrinógeno y generar con ello monómeros de fibrina, que luego se polimerizan y entrecruzan por acción del FXIIIa, lo que genera un coágulo de fibrina estable y resistente a una lisis prematura (Grimaldo, 2017; Guerrero y cols, 2015).

d. Fibrinólisis: Una vez cumplida su función hemostática, la generación de trombina es atenuada y neutralizada por la acción de inhibidores del sistema (anticoagulantes naturales) presentes a nivel del endotelio vascular, como: la antitrombina III, el TFPI (Inhibidor de la vía del FT) y el sistema de la Proteína C activada (PCa) (Lorenzo, Moreno, Lizasoain, Leza, Moro y Portolés, 2015). La fibrinólisis es la última etapa de la hemostasia (Figura 9), en donde el efector final del sistema es la plasmina, que degrada la fibrina en productos de degradación (PDF y dímero D) (Irulegui y cols., 2016; Paramo, 2012). Esta plasmina es producida por un precursor inactivo, el plasminógeno, por acción de dos activadores del plasminógeno: activador tisular (t-PA) y activador tipo urocinasa (u-PA), dichos activadores son regulados por la acción

de inhibidores (PAI), de los que el más relevante es el PAI-1, mientras que la plasmina circulante es rápidamente inhibida por la α 2antiplasmina, lo que evita una fibrinólisis sistémica (Ceresetto, 2018).

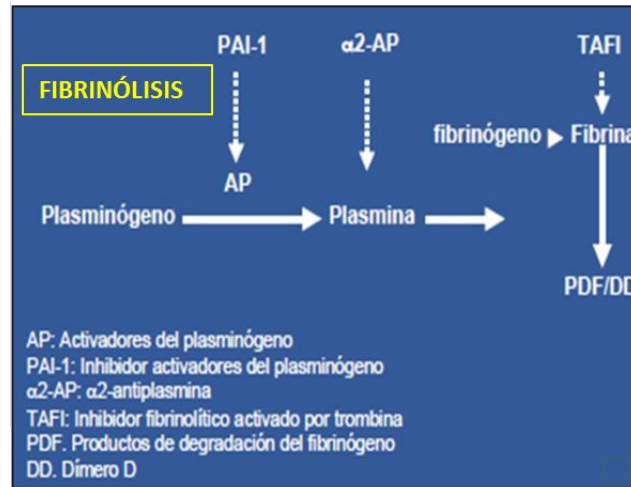


Figura 9: Hemostasia Secundaria. Sistema Fibrinolítico. **Fuente:** Lorenzo, Moreno, Lizasoain, Leza, Moro y Portolés, 2015.

Pruebas que evalúan la morfología y función plaquetaria

En el laboratorio se han desarrollado numerosas técnicas para el estudio de estas estructuras, resultando algunas muy complicadas que solo pueden realizarse en laboratorios especializados (agregonometría). Sin embargo, otras son muy simples, como en el caso de frotis de sangre periférica, el coagulograma, que tienen también una amplia utilidad, tanto para observar la morfología plaquetaria y determinar su función, orientando al analista y médico, en la confirmación de hipótesis y definir un estado clínico (Zamora 2012).

Morfología plaquetaria:



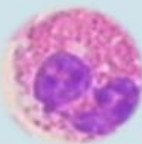
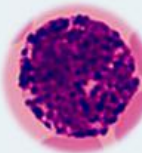

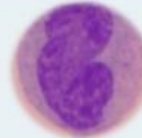
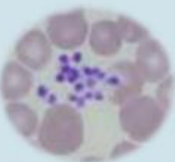
- 1. Frotis de sangre periférica.** El estudio e interpretación del frotis de sangre periférica consiste en precisar e informar las alteraciones morfológicas de los elementos formes de la sangre; como son los glóbulos rojos, glóbulos blancos, linfocitos y plaquetas a través de un extendido de calidad y su protocolar tinción,

pudiendo ser estas, coloración de Wright o Giemsa, entre otras (Leonard y Hernández, 2017).

La coloración de Giemsa consiste en un colorante metacromático que tiñe estructuras con un color diferente (púrpura ó rojizo), debido a que en su contenido presenta una parte de azul de metileno (tinte de anilina) y que presenta un pH de 7,0 y por otra de eosina que es un colorante rojo fuerte, conformado por un ácido débil, perteneciente al grupo de las fluoresceínas, utilizado para la tinción del citoplasma, de las fibras colágenas y del tejido conjuntivo (Cannova, Brito y Simons, 2016), siguiendo el protocolo descrito por Rodríguez (2015). Esta técnica se realiza de la siguiente manera:

- a.** Se cubren con metanol los extendidos de sangre, y se espera 5 minutos.
- b.** Se decantan para eliminar el metanol.
- c.** Luego se cubren con la solución de Giemsa recién diluida 1:10 (1ml de Giemsa por 9 ml de agua destilada) y se deja actuar durante 10 minutos.
- d.** Pasado este tiempo, se lavan los extendidos con agua destilada para eliminar los restos de colorante.
- e.** Se dejan secar al aire, colocándolos de forma vertical.
- f.** Posteriormente, estos frotis se observan al microscopio óptico para visualizar la morfología celular con objetivo de inmersión (aumento 100X) en el microscopio óptico. En condiciones normales las células presentan las siguientes tonalidades como se observa en la tabla 2 (Mejía, Alzate, Rodríguez, 2016).

Tabla 2. Descripción de los Elementos Celulares (Coloración de Giemsa).

Células Sanguíneas	Imagen Referencial	Tamaño	Núcleo	Citoplasma	Granulaciones
Glóbulos Rojos		7-8 μm	Ausente	Rojizo a rosado	Ausentes
Glóbulos Blancos: ▪Segmentado Neutrófilo		10-15 μm	Lobulado (2-5)	Rosado- Azul pálido	<ul style="list-style-type: none"> •Primarias: Azules (Escasas) •Secundarias: Rosadas (Abundantes)
▪Segmentado Eosinófilo		10-15 μm	Lobulado (2-3)	Naranja	<ul style="list-style-type: none"> •Primarias: Azules (Escasas) •Secundarias: Naranjas-Rojo ladrillo (Abundantes)
▪Segmentado Basófilo		10-15 μm	Lobulado (2-3)	Azul-Incorodo a Violeta	<ul style="list-style-type: none"> •Primarias: Azules (Escasas) •Secundarias: Azul oscuro a Negro (Abundantes)
Linfocito		6-15 μm	Redondo	Azul oscuro	Ausentes en su mayoría
Monocito		12-25 μm	Redondo-Arriñonado	Azul grisáceo	<ul style="list-style-type: none"> •Gránulos: Azules (Abundantes y finos) •Vacuolas ausentes o numerosas
Plaquetas		1-2 μm	Ausente	Violeta	Ausentes

Alteraciones en la concentración plaquetaria

Las alteraciones en la concentración aportan información sobre distintas patologías que puede padecer el paciente o sobre problemas en la coagulación, que conllevan a modificaciones en la hemostasia. La reducción de su número se llama trombocitopenia, y si se aumenta la concentración, se hace referencia a la trombocitosis (Jogacho, 2016; Aramburu, 2016).

a. Trombocitosis. Es el término utilizado para indicar el aumento de las plaquetas por encima del valor máximo de referencia (450.000 por μL), datos aportados por autoanalizadores hematológicos y a través de la observación directa en extendidos de sangre periférica (Páramo, Piérola y Varea, 2014). La trombocitosis puede deberse a múltiples causas, las que resaltan; una trombocitopenia esencial, que viene dada por un trastorno en la médula ósea que ocasiona producción excesiva de las células que forman las plaquetas (megacariocitos), originando liberación abundante de plaquetas en la sangre (Torres, Cosentino, Centeno, Suarez y Núñez, 2015), otra causa es la llamada trombocitopenia secundaria y/o reactiva, provocada por una enfermedad no diagnosticada, como una infección (Huerta y Cela, 2018).

b. Pseudotrombocitosis. Es el recuento plaquetario falsamente elevado, un evento mucho más raro, que puede presentarse debido a la presencia de eritrocitos fragmentados, fragmentos citoplásmicos de células nucleadas, microorganismos, gotas de lípidos o agregados de proteínas, todo ello por causa de enfermedades como crioglobulinemia, la leucemia (a partir del momento en que se inicia la quimioterapia), pacientes con quemaduras severas, en los cuales se presenta un cuadro de CID con microesferocitos que el autoanalizador de hematología interpreta falsamente como plaquetas (Larsen, Vikesa y Friis-Hansen, 2017).

c. Trombocitopenia. Aramburu, 2016 hace referencia a este término como la disminución del recuento de plaquetas, en relación al valor mínimo (150.000 por μL). Entre las causas íntimas por las cuales se presenta trombocitopenia están; la disminución de la producción dada por déficit de la formación de TPO, por trastornos congénitos, déficit de vit B12, drogas, radiaciones, infecciones virales, hemopatías, hepatopatías, entre otras (Flores, 2017), así mismo por aumento de la destrucción, que

puede estar asociada también a infecciones virales como en la hepatitis C (HCV) donde, además de un mecanismo frecuente de destrucción inmune, se suma un déficit de producción de TPO y, a veces, de hiperesplenismo. También puede presentarse la trombocitopenia por causas no inmunes como en el cáncer, CID, entre otras.

d. Pseudotrombocitopenia. El autor Torrens, 2015 hace mención de este fenómeno como el recuento falsamente disminuido de las plaquetas, condición que puede ser originada por punciones venosas difíciles, que consiguen ocasionar la activación plaquetaria con formación de microcoágulos, ocurriendo lo mismo cuando la agitación del tubo donde se encuentra la muestra de sangre con el anticoagulante es insuficiente (Ruiz, 2015). Otras causas de pseudotrombocitopenia es la presencia de satelitismo plaquetario, así como también el efecto de agregación plaquetaria “in vitro” provocado por el anticoagulante EDTA (Gonzales, 2017) mediante la activación de anticuerpos antifosfolípidos, fenómeno que puede ser fácilmente visualizado en un frotis sanguíneo; en estos casos el laboratorio sugiere una nueva muestra obtenida con otro anticoagulante como citrato de sodio.

-Satelitismo plaquetario. Es un fenómeno de etiología desconocida descrito en personas de diferentes edades, que padecen diversas afecciones patológicas, que incluyen enfermedades infecciosas, así como en individuos sanos, en donde se presenta agregación de plaquetas alrededor de granulocitos, en su mayoría neutrófilos polimorfonucleares (Figura 10), basófilos y eosinófilos, asimismo de los agranulocitos; monocitos y linfocitos granulados e incluso atípicos (Vidranski, Laskaj, Sikiric y Skerk, 2015).

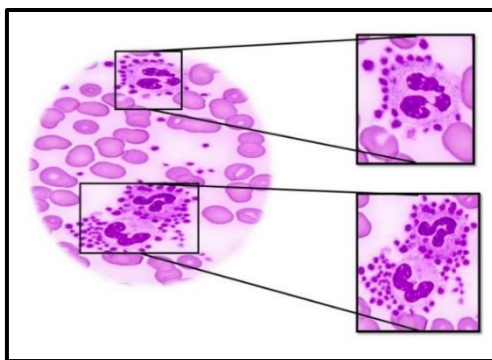


Figura 10: Satelitismo plaquetario. **Fuente:** Modificado de Rivera, Palma-Barqueros, Vicente y Lozano (2018).

-Presencia de macrotrombocitos. Definido por Rivera, Palma-Barqueros, Vicente y Lozano (2018) como la presencia de plaquetas de gran tamaño (Figura 11), con un diámetro entre 4 y 7 μm , presentándose solas (por separado) o cuando varias plaquetas siendo normales se agrupan para formar “una célula más grande”, pudiendo con ello, ser engañados los contadores de células, interpretando incorrectamente estas plaquetas como eritrocitos, esto puede deberse a la presencia de anticuerpos contra EDTA, fenómenos autoinmunes que inducen satelitismo plaquetario o por la formación de agregados plaquetarios, además en enfermedades como el síndrome de Bernard Soulier (Retamales, 2013), expresado por trombocitopenia, macroplaquetas y disminución de la vida media plaquetaria.

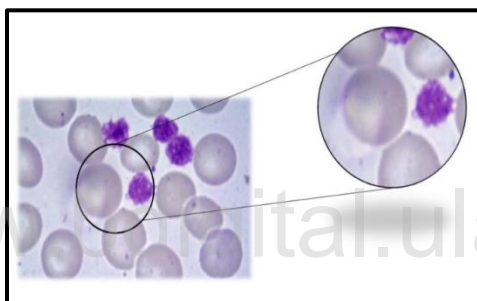


Figura 11: Macrotrombocitos. **Fuente:** <https://hematologia.farmacologia.ufg.br/p/7066-macroplaquetas>.

-Agregados plaquetarios. Es definido por Cajo (2017) como la conglomeración de plaquetas (Figura 12) que generalmente provocan pseudotrombocitopenia, mostrándose más comúnmente en pacientes con enfermedades autoinmunes, hepatopatías como la cirrosis hepática, neoplasias, arteriosclerosis y sepsis. La agregación plaquetaria también puede deberse a factores pre-analíticos, o por la exposición con EDTA (Ruíz, 2015).

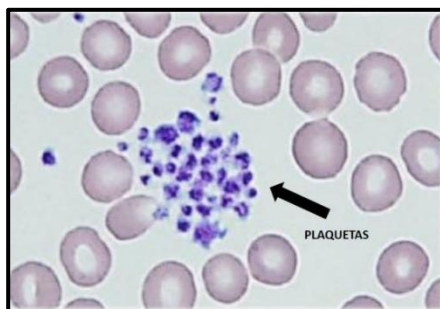


Figura 12: Agregados plaquetarios. **Fuente:** Modificado de http://leucemiashemostasia.blogspot.com/2011/11/fase-plaquetaria_23.html.

e. Presencia de microtrombocitos. Son plaquetas que tienen un diámetro menor a $1\mu\text{m}$ y que se presentan en el Síndrome de Wiskott–Aldrich; donde existe una deficiencia parcial o total (mutación del gen WAS) de la proteína de Wiskott–Aldrich, síndrome que va acompañado de trombocitopenia (Retamales, 2015). Las microplaquetas son también trombocitos envejecidos (Jogacho, 2016).

Alteraciones en la Morfología Plaquetaria (Tamaño y Forma)

a) Anisocitosis plaquetaria. Las plaquetas a menudo muestran anisocitosis, que van desde diminutas plaquetas a gigantes atípicas que pueden revelar formas extrañas, pseudópodos y agranularidad, hallazgos de utilidad en el diagnóstico diferencial de las trombocitopenias de origen inmunológico y en las trombocitosis, especialmente cuando están relacionadas con enfermedades mieloproliferativas (Leonard y Hernández, 2017).

b) Poiquilocitosis plaquetaria. Desde el punto de vista semiológico, las variaciones en la forma de las plaquetas se expresan como poiquilocitosis plaquetaria (López, 2016), sospechosa de un proceso mieloproliferativo, especialmente cuando está acompañada de otras alteraciones cuantitativas o cualitativas del hemograma. Su detección en autoanalizadores de hematología dejan mucho que desear, por lo que se debe hacer mediante observación microscópica, pues de lo contrario muchos casos nunca se diagnosticarían (Leonard y col, 2017).

2. Contaje plaquetario. Consiste en medir la cantidad de plaquetas en sangre total anticoagulada, con una cámara contadora de células con rayado de Neubauer,

modificado en un microscopio de contraste de fases, o en un microscopio de campo brillante (Figura 13). Se llena la cámara y después de un tiempo en reposo, se realiza el recuento de las células en los cuadrados centrales de ambos lados de la cámara. El número total de células contadas se divide entre 2, y el resultado es el número de plaquetas multiplicado $\times 10^9/L$ (Martínez, López y Parra, 2015; Maluenda, 2015).

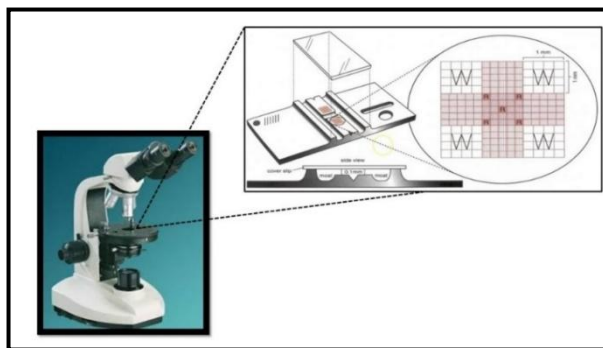


Figura 13: Cámara de Neubauer.

Fuente: Modificado de <https://www.youtube.com/watch?v=Xth6q4LYwQ0>

Funcionalidad Plaquetaria

a. Pruebas de Coagulación. Son definidas por los autores Guerrero y López 2015; López 2017, como ensayos funcionales que tiene como objetivo replicar in vitro la activación del sistema de la coagulación y evaluar la funcionalidad del mismo, lo que permite fundamentar y orientar el diagnóstico. Algunas de las pruebas clásicas son:

a1. Tiempo parcial de Tromboplastina activado (TTPa). (Método de Rappaport). Según Huerta y Cela (2018), el TTPa es prueba global que explora los factores de la vías intrínseca y común de la coagulación (factores XII, XI, IX, VIII, X, V, II y I) por lo que está particularmente indicado para el diagnóstico de las anomalías de estas vías y la vigilancia de la terapia con anticoagulantes no orales como la heparina (Caná y Ruano, 2017; Sanagustín, 2014).

a2. Tiempo de Protrombina (TP). (Método de Quick). Es un método que explora la coagulación extrínseca, por lo que es más sensible a los defectos de los factores VII, X y V que, a la deficiencia de protrombina, citado por (Guerrero y López, 2015). Sin embargo, no detecta disminuciones moderadas de fibrinógeno,

pero si este es muy bajo o existe un potente inhibidor de la reacción trombina-fibrinógeno, se obtiene un TP prolongado, es por ello que este método es de elección para el control de la terapia con anticoagulantes orales (Pollack, 2015).

a3. Tiempo de Trombina (TT). Prueba que permite explorar de forma rápida y simple el tiempo para la formación de fibrina a partir del fibrinógeno presente en el plasma, en presencia de una cantidad estandarizada de trombina (Guerrero y López, 2015), revelando la presencia de fibrinógenos anormales (disfibrinogenemias) o bajos niveles de fibrinógeno circulante (hipofibrinogenemias), asimismo dando prolongado en cuadros de coagulación intravascular diseminada (CID) (Undas, 2017).

a4. Tiempo de sangrado (técnica de Duke). Consiste en la medición de la duración de la hemorragia producida por la punción hecha en el lóbulo de la oreja con una lanceta; donde normalmente debe durar de 3 a 7 minutos, afirma López (2016). Este mismo autor informa que es una forma muy general de evaluar la retracción del capilar, la cantidad y calidad de las plaquetas; manifestando que con cifras menor de plaquetas el tiempo se prolonga, pero que su mayor utilidad es para evaluar la función de las plaquetas cuando la cifra es normal como sucede en la trombastenia de Glazman, enfermedad de von Willebrand y uso de aspirina.

a5. Tiempo de coagulación. (Método de Lee White). Según autor (Mendoza, 2014) señala que es un método que se fundamenta en medir el tiempo que tarda en coagular una muestra de sangre obtenida sin anticoagulante, es decir, hasta la formación de fibrina en cantidad suficiente, en un tiempo normal que va de los 4 a 8 minutos, permitiendo un estudio global del mecanismo intrínseco de la coagulación.

a6. Agregometría. Es una de las pruebas de función plaquetaria más utilizada, que permite la cuantificación de la respuesta plaquetaria, la identificación de una función anormal y la diferenciación de desórdenes hemostáticos hereditarios (Parra, Martínez, López, 2016). Autores como Martínez y cols (2015), mencionan que la agregometría tiene como principio la inducción *in vitro* de la adhesión y agregación plaquetaria con sustancias agonistas o proagregantes

(Figura 14), siendo uno de los métodos más utilizado la turbidimetría que mide el promedio de la agregación plaquetaria proveniente de la diferencia de densidad óptica que existe entre el PRP y el plasma pobre en plaquetas (PPP), al adicionar un agonista como ADP (Adenosin difosfato), epinefrina, colágeno, por nombrar algunos (Gómez, Rodríguez, Díaz, 2018); a medida que se agregan las plaquetas, permiten mayor paso de luz disminuyendo la densidad óptica, arrojando el resultado mediante las curvas de agregación en función del tiempo.

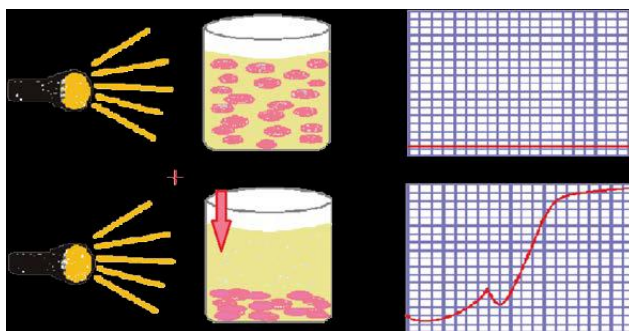


Figura 14: Esquema de la técnica de agregación plaquetaria. En el esquema superior se ejemplifica la falta de transmisión de la luz a través del plasma turbio. En el esquema inferior se induce agregación plaquetaria y paso de la luz y se grafica en porcentaje. **Fuente:** Gómez, Rodríguez, Díaz, 2018.

Plasma rico en plaquetas en la Medicina *Antiaging*

En el ámbito de la Medicina Antienvejecimiento o *Antiaging*, una de las herramientas novedosas regenerativas como principal protagonista se encuentra el PRP ya que se han visto sus beneficios sobre el rejuvenecimiento cutáneo. No obstante, en la actualidad aún se cuestiona sus bases médico científico por existir un terreno amplio en el cual queda mucho por investigar (Ruíz, 2017; Rubio y Hernández, 2017).

La Medicina *Antiaging*, estudia la biología celular, molecular y cuántica; es una bioquímica médica aplicada en diferentes escenarios clínicos muy relacionada con las ciencias de la nutrición, en la cual el médico de cualquier especialidad retoma el conocimiento de los procesos metabólicos y la fisiopatología del envejecimiento a

nivel de alteraciones en la energía, homeostasis y armonía bioquímica por estrés oxidativo.

Existen terapéuticas antienviejimiento basadas en concentrados plaquetarios como **Plasma Rico en Plaquetas** comúnmente conocido como PRP.

En primer lugar, Jiménez (2017), definen que el PRP es como una porción de la fracción del plasma derivado de sangre autóloga compuesta de una concentración de plaquetas superior a la del plasma en condiciones basales, es obtenida a partir de la adición de citrato de sodio (anticoagulante) y de un proceso de centrifugación, con el fin de la separación en tres fracciones del plasma (Figura 15): la primera porción es llamada plasma pobre en plaquetas (PPP), localizada en la parte superior, la segunda porción después del PPP es el plasma moderado en plaquetas (PMP) y la última porción es el plasma rico en plaquetas (PRP) como el fuente principal en diversos estudios. Por otra parte, se puede observar la concentración de hematíes en el fondo del tubo y los leucocitos en la zona intermedia entre estos (Ramírez y cols, 2015).



Figura 15: Clasificación del plasma. **Fuente:** modificado de <https://clinicemel.com/plasma-rico-en-plaquetas/>.

El PRP contiene no solo un alto nivel de plaquetas, sino también de los factores de crecimiento que son secretados activamente por las plaquetas. Además, el PRP también es rico en proteínas que actúan a nivel de la adhesión celular (fibrina, fibronectina, y vitronectina), por lo que proporciona el soporte estructural necesario para la migración celular, y para la proliferación y crecimiento tridimensional de los tejidos sobre los que actúa (Riestra, Cristina, 2016; Pardo, 2017).

Igualmente, el plasma rico en plaquetas tiene efectos no solo sobre las células diana para los factores de crecimiento, sino también como matriz extracelular para la bioestimulación de la reparación y/o regeneración del tejido de un modo global. El descubrimiento de los factores de crecimiento junto con el estudio de su liberación por parte de las plaquetas ha conducido al avance de un concentrado de plaquetas autólogo, útil para estimular la proliferación y la diferenciación celular en diversos tejidos donde esto es requerido, tal y como sucede en las heridas y procesos de regeneración de los tejidos, o para luchar contra la involución celular que tiene lugar con el envejecimiento (Martínez, Martí, Solá, Expósito, Bolívar, Rodríguez y Zaror, 2016).

Los Factores de Crecimiento

Castro y cols (2015), citado por Cornejo, (2017), definen a los factores de crecimiento (FC), como proteínas que favorecen la proliferación, migración y diferenciación celular. Los FC son indicadores universales de la cicatrización, que estimulan de manera efectiva la regeneración, reconstrucción y fisiología normal de los tejidos afectados.

Los Factores de crecimiento (FC) son, además, mediadores solubles endógenos capaces de modificar la respuesta celular ante un determinado estímulo (Moya y col, 2015), funcionando como señales intercelulares, modulando la función celular, uniéndose a receptores específicos de la superficie celular de las células blanco. Cada factor ejerce actividades concretas en cada una de las células y dependerán de contextos propios del entorno o ambiente celular (Tormo y Mifsut, 2017; Romina, Vieira, Telles, Da Cruz, Farias, Granjeiro y Borojevic, 2013).

Muchos de estos factores se encuentran en la sangre y especialmente en las plaquetas, siendo uno de los tipos celulares productores de los FC los fibroblastos, osteoblastos, células endoteliales, leucocitos, monocitos y macrófagos. Además, existen lugares de almacenamiento, como son las plaquetas (en los gránulos α) y el hueso (adheridos a la matriz ósea) (Malanga e Ibrahim, 2018). Por lo tanto, los FC se clasifican en cuanto a la función representado en las Tablas 3.

Tabla 3: Clasificación de los factores de crecimiento. **Fuente:** (Malanga e Ibrahim, 2018).

CONTENIDO	FUNCION
Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Activa los macrófagos. ➤ Promover indirectamente la angiogenesis a través de los macrófagos, por un mecanismo de quimiotaxis. ➤ Actividad mitogena en las células mesenquimales, así como en las neuronas. ➤ Promueve la proliferación de las células adiposas y de los fibroblastos dérmicos. ➤ Facilita la formación de Colágeno tipo 1.
Factor de crecimiento transformante B (TGF-Beta)	<ul style="list-style-type: none"> • Misión fundamental la de quimiotaxis. • Induce la proliferación y diferenciación de células mesenquimales. • Promueve la síntesis del colágeno por los osteoclastos. • Proangiogenico tisular; Inhibe la formación de osteoclastos. • Induce la diferenciación de células madre troncales neurales.
Factor de crecimiento fibroblastico (FGF)	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Activa la proliferación y diferenciación de osteoclasto, fibroblastos e inducción de fibronectina por éstos y células madre troncales neurales. ❖ Inhibe la acción osteoclastica. ❖ Actividad proangiogenica por acción quimiotáctica en las células endoteliales.
Factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1)	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Induce la proliferación y diferenciación de células mesenquimales. ▪ Potente efecto mitótico en la celularidad progenitora troncal neural. ▪ Facilita la síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno tipo 1 por los osteoblastos.
Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Activa la quimiotaxis y diferenciación de células endoteliales. ✓ Promueve la impermeabilidad de los vasos sanguíneos.
Factor de crecimiento ectodérmico (EGF)	<ul style="list-style-type: none"> • Tiene gran capacidad proapoptósica, de quimiotaxis y diferenciación de células epiteliales, renales, gliales y fibroblastos.
Factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF)	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Induce la proliferación, diferenciación y quimiotaxis de celularidad neuronal, microglial y oligodendrocitaria, así como la remielinización de las mismas.
Factor de crecimiento de hepatocitos (HGF)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Tiene como principal función la proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, angiogenesis y síntesis de matriz extracelular.

Los autores Conde-Montero, de la Cueva y Martínez, 2017 acotan que los factores de crecimiento plaquetario (FC) autógenos han tenido gran auge en los últimos años, ya que se ha demostrado importantes aplicaciones en diferentes escenarios clínicos con resultados satisfactorios. No obstante, Del Ojo (2015) cita que los factores de crecimientos plaquetario no forman parte de la historia reciente de la medicina, ya que tienen aparición en la medicina a partir de los años 80.

El pionero del uso de PRP fue el Dr. Eduardo Anitua, aplicado en cirugía oral con el fin de regenerar tejido óseo alrededor de los implantes dentales, reducir su tiempo de consolidación o tras una extracción dentaria para una cicatrización más rápida y predecible.

Formas de aplicación

- **Terapia tópica:** Se emplea mediante la aplicación del PRP activado o también llamado gel plaquetario el cual es producto de la activación de plaquetas presentes en el PRP aplicada directamente sobre la piel, lo que permite la reparación cutánea luego de una exfoliación química para el mantenimiento de las condiciones fisiológicas o estéticas y la protección de agentes externos como, sobre todo, las radiaciones solares (Escobar, 2012; Díaz y Ruíz, 2016).
- **Terapia subdérmica:** Actúa como coadyuvante en implante adiposo, es decir a partir de injerto de grasa con PRP activado con calcio. Esta terapéutica es aplicada por déficit de volumen, ya que provoca una mayor y más rápida revascularización del implante y un aumento en la proliferación de las células pluripotenciales y así mejorar el modelado facial (Ruíz y col, 2015).
- **Terapia intradérmica:** Consiste en la administración del plasma rico en plaquetas por medio de inyección en la dermis, a modo de mesoterapia para bioestimulación cutánea manifestando la estimulación de colágeno tipo I por parte de las células fibroblásticas y así restaura la vitalidad cutánea (Díaz y Ruíz, 2016; Moya y col, 2015).

Cócteles antienviejeimiento empleados en medicina antiedad

En la Medicina Antienviejeimiento existen otra terapéutica llamados cócteles *antiaging*, que se definen la combinación de algunos compuestos para estimular y mantener el metabolismo celular y la arquitectura de los tejidos cutáneos, aportando beneficios, dependiendo de los compuestos que se combinen y pH que se pueda emplear. Por lo tanto, esta área está presente en la práctica médica y pretende de manera científica una nueva visión de recursos a partir de antioxidantes de origen enzimático, ácidos grasos omega-3, aminoácidos, derivados de nutrientes (nutracéuticos, vitaminas, minerales, fitoquímicos), cofactores enzimáticos y principios activos (Tabla 4); a través del empleo de cócteles antienviejeimiento (Pavani y col, 2017; Ramírez y cols, 2015; Estrella y cols, 2015).

Estos beneficios pueden ser: biorevitalización de pieles deshidratadas, devolver firmeza a los tejidos sometidos al proceso del enviejeimiento, contrarrestando la flacidez de manera eficaz prevención del enviejeimiento, corrección de ríides superficiales, estimulación la síntesis de colágeno, reparación del daño producido por los UVB, actividad antioxidante.

Existen vitaminas y oligoelementos reestructurantes que estimula la producción de colágeno, y renueven la firmeza y elasticidad de la piel. Entre las vitaminas destacan la A, B, C, E, utilizada dentro de los protocolos en el rejuvenecimiento de la piel y como arma contra los radicales libres (antioxidantes):

Tabla 4: Clasificación de los principales antioxidantes. **Fuente:** Sabán, 2017.

ORIGEN ENZIMÁTICO	COFACTORES ENZIMÁTICOS O ELEMENTOS TRAZA	DERIVADOS DE NUTRIENTES
Inhibitorios: -Oxidasa de NADPH, -Sintasa de O ₂		Vitamina B3: -Nicotinamida -Ácido nicotínico
Neutralizantes: -Superóxido dismutasa citosólica -SOD mitocondrial -Glutación peroxidasa -Catalasa	Zinc Manganeso Selenio Hierro	Vitamina E (Tocoferol)
Reparadores: Ceruloplasmina y SOD extracelular	Cobre	Vitamina C (Ácido L-ascórbico) Fitoquímicos: polifenoles del té, flavonoides, estilbenos

La vitamina A: A este nombre se les agrupa a tres sustancias con actividad de vitamina A (retinol, el retinal y el ácido retinoico) junto con las provitaminas A (los carotenos). En cuanto a su función, la vitamina A es necesaria para la integridad morfológica de las células epiteliales en la piel; regula el volumen de la epidermis y actúa sobre la flexibilidad de esta, ayudando a la cicatrización y parcialmente corrige la atrofia de la dermis, sin ella se producen alteraciones de los tejidos y depósitos anormales de queratina en las mucosas. También actúa como un potente antioxidante, atrapando los radicales libres en los tejidos cuando la presión parcial de oxígeno es baja, complementando la acción de la vitamina E, eficaz ante concentraciones elevadas de oxígeno. Por otra parte, la vitamina A es necesaria para mantener la buena visión, ya que su deficiencia causa disminución de la misma (Estrella y cols, 2015).

La Vitamina B: Conocidas también con el nombre de complejo vitamínico B, participan del metabolismo de las grasas, carbohidratos y proteínas ayudando a liberar la energía de los mismos, como así también contribuyen a la producción de glóbulos rojos y al buen funcionamiento del sistema nervioso. Se pueden encontrar en alimentos como las carnes, huevos, cereales, hígado, vegetales verdes, granos y frutos secos.

Las principales funciones de las Vitaminas del grupo B son: B1 (tiamina mononitrato), fundamental para la producción de energía por transportación de los azúcares y en la transmisión del impulso nervioso. B2 (riboflavina): Clave en la producción de energía por la transformación de carbohidratos, lípidos y proteínas. B3 (niacina): Tiene un papel esencial en la producción de energía a nivel celular. B5 (ácido pantoténico): Es considerada esencial en el metabolismo y la síntesis de carbohidratos, grasa y proteínas. B6 (piridoxina): Es fundamental en el crecimiento y conservación de todas las células del organismo. B9 (ácido fólico): Indispensable para el sistema nervioso, en el desarrollo y funcionamiento del tubo neural. B12 (cianocobalamina): Contribuye al desarrollo del sistema nervioso. Es indispensable para que la médula ósea sintetice los glóbulos rojos y para el adecuado

funcionamiento del aparato gastrointestinal (Jayashree, Yadhunath, Swati y Vilasraoy, 2015).

La vitamina C (Ácido Ascórbico): La mayoría de los mamíferos y vegetales tienen la capacidad de sintetizar el ácido ascórbico a partir de glucosa o xilosa, sin embargo, el hombre no la puede sintetizar por carecer de la enzima gulonolactona oxidasa, flavoproteína microsomal involucradas en la transformación de 2 ceto gulonolactona en ácido L ascórbico. Es por esta razón que el hombre suple sus necesidades a partir de la vitamina que ingresa a través de la dieta, como lo es el consumo de alimentos de origen vegetal sobre todo en frutas cítricas. Sus funciones son múltiples; es indispensable para la formación y estabilización del colágeno, protegiendo a este último de la acción de oxidantes (H_2O_2), y radicales libres, ya sea interrumpiendo la cadena oxidativa ya iniciada, neutralizando la acción de radicales libres o regenerando la vitamina E que se ha oxidado durante el proceso (Ruíz y Moreno, 2015; Jayashree y cols, 2015).

La vitamina E (Tocoferol): Se encuentra ampliamente distribuida en alimentos vegetales y animales, representa la función más importantes en las células, ya que actuando en conjunto con diversos componentes (vitamina C, los carotenos, el glutatión, las enzimas glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, catalasa, y peroxidases) constituyen las herramientas de defensa contra las sustancias oxidantes que normalmente se producen en el metabolismo celular, tales como; el peróxido, los radicales libres y el superóxido, ocasionando daños a estructuras como los lípidos de las membranas celular, lipoproteínas, grasas de depósito, proteínas y ácidos nucleicos. La vitamina E actúa como antirradical, mediante un mecanismo que neutraliza los radicales libres y también la protección de la piel contra los rayos UV (Ruíz y col 2015).

Minerales: Son micronutrientes inorgánicos que el cuerpo necesita en cantidades o dosis muy pequeñas; entre todos los minerales suman unos pocos gramos, pero son tan importantes como las vitaminas. Su función es tanto estructural como reguladora; forman parte de tejidos como huesos y dientes, y participan en la transmisión

neuromuscular, en la permeabilidad de las membranas celulares, en el balance hidroelectrolítico, en el equilibrio ácido-base y como cofactores de enzimas metabólicas. Entre los oligoelementos más esenciales para combatir el envejecimiento precoz son:

a. Selenio: Facilita la absorción de la vitamina E; protege a las células frente al radical superóxido y aumenta la actividad de algunas enzimas antioxidantes entre ellas el glutatión peroxidasa. Además, su acción está muy relacionado con la vitamina E. Algunas fuentes de selenio son las carnes, pescado y mariscos (Sabán, 2017).

b. Zinc: Participa en la regulación del estrés oxidativo, induce la producción de metalotioneína, que es muy rica en cisteína y es un excelente atrapador de radicales de hidroxilo (Sabán, 2017). Los iones de hierro y cobre catalizan la producción de iones de hidroxilo a partir del peróxido de hidrogeno. El zinc a competir tanto con el hierro como con el cobre por la fijación a la membrana celular disminuye a la producción de dichos radicales (Molina, 2012).

c. Manganeso: forma parte de la enzima peróxido dismutasa, protege contra la peroxidación lipídica, atrapa radicales de hidroxilo y superóxido e induce la síntesis de metalotioneínas (Bargis y Lévy-Dutel 2016).

Aminoácidos: Sustancias que suministran internamente los nutrientes vitales que nutren la piel, el cabello y las uñas, de esta manera se regeneran los tejidos conectivos, la piel permanece suave y elástica, las uñas resistentes y el cabello fuerte y hermoso. Con el paso de los años disminuye la disponibilidad de aminoácidos provenientes de la alimentación y los aminoácidos necesarios se toman de las reservas de nuestro organismo, proceso que perjudica a las fibras musculares y a la piel, que en consecuencia pierden elasticidad. De esta forma, se generan las líneas de expresión y se presenta caída del cabello. Para contrarrestar esto efectos negativos existen cócteles antiaging que contienen aminoácidos; son estables, solubles en agua y parten de la estructura de las proteínas. Ellos construyen polipéptidos, que forman la matriz de la estructura celular, una suplementación específica puede reestructurar o reparar la estructura de la proteína del tejido que ha sido dañado por el

fotoenvejecimiento. Entre los que se mencionan; la arginina, metionina, carnitina, glutamina (Lizarraga, 2013).

Coenzimas: Son componentes orgánicos no proteicos que ayudan a la función catalítica de las enzimas, además son potentes antioxidantes liposolubles sintetizados en el organismo a partir de tirosina, fenilalanina y Acetil CoA y también presentes en todas las células del cuerpo que procede de la dieta. Una de las coenzimas más importantes y beneficiosas es la coenzima Q10 (ubiquinona-10), se encuentra principalmente en la membrana mitocondrial. Sin la existencia de la coenzima Q10 sería incompatible la generación y el transporte de energía celular y, por tanto, la vida, ya que esta genera energía en forma de ATP, siendo utilizada por nuestro organismo para la homeostasis (mantenimiento de la estabilidad normal interna), el crecimiento, la inmunoprotección, reparación y regeneración del daño celular (para la curación de úlceras/heridas). Por otra parte, el paso de los años en el ser humano provoca un estrés oxidativo en la piel (déficit de energía), por lo que las células envejecen y acaban muriendo, debido a que la síntesis de esta coenzima disminuye con la edad, y más aún si se tiene una excesiva influencia a la radiación UV (Vélez y cols, 2017).

Ácido Hialurónico (AH): Es un polisacárido del tipo de glucosaminoglicanos (GAG), en seres humanos su concentración se destaca en las articulaciones, los cartílagos y la piel. Su uso en cosmética, se conoce desde los años 90 para la revitalización de la epidermis ya que reconstituye las fibras que sostienen los tejidos de la piel; es por ello que posee la capacidad de retener el agua en un porcentaje equivalente a miles de veces su peso. La función principal del ácido hialurónico es como material de relleno en cirugía estética utilizándose en implantes y rellenos, además de alisar los pliegues subcutáneos, reducir las cicatrices del acné severo, estimula la producción de colágeno, lo que multiplica y prolonga el resultado rejuvenecedor. Aunque. El AH se inyecta donde no hay músculo justo bajo la piel donde está la arruga, su uso en inyección fue aprobado por la FDA en 2004. Puede

también eliminar los subproductos dañinos para el tejido derivados del metabolismo del oxígeno como lo son los radicales libres (Ruíz y col, 2015).

Operacionalización de las Variables

Las variables se operacionalizaron con el fin de investigar la medición y autores como Hernández, Fernández y Baptista, 2016 definen este procedimiento como la categorizan para relacionar el indicador específico. El cuadro de operacionalización de variables se refleja en las Tablas 5.

Tabla 5: Operacionalización de las variables Dependiente e independiente
Título: Morfología plaquetaria del PRP combinado con cócteles *antiaging*. Estudio *in vitro*
Objetivo general: Describir los cambios en la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaquetas al combinarse con un cóctel *antiaging*

Variable	Tipo	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores
Morfología plaquetaria	Dependiente	Cambio en la morfología de las plaquetas obtenidas a partir del Plasma Rico en Plaquetas	Presencia de la forma de la plaqueta posterior a la combinación de un cóctel <i>antiaging</i>	<ul style="list-style-type: none"> •Plaquetas Redondas •Plaquetas Estrelladas •Acúmulos plaquetarios 	<ul style="list-style-type: none"> •Abundantes •Moderadas •Escasas •Muy Escasas
Cóctel <i>antiaging</i>	Independiente	La combinación de algunos compuestos para estimular y mantener el metabolismo celular y la arquitectura de los tejidos cutáneos, que aportan beneficios dependiendo de los compuestos que se combinen	El producto de la neutralización de radicales libres	•Inducción de cambios en la morfología plaquetaria	Presente o Ausente

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

En toda investigación científica se necesita delimitar los procedimientos de orden metodológico, para dar respuesta al objeto de estudio que se ha planteado. Esta delimitación busca que los hechos estudiados, los resultados que se obtengan y la similitud que tienen estos con el problema planteado, reúnan requerimientos de objetividad y validez. Consecuentemente, se busca reflejar y asentar el conjunto de métodos, técnicas y protocolos instrumentales apropiados para recopilar, presentar y analizar datos, necesarios para cumplir con el propósito de la investigación (Hernández y cols, 2016).

Tipo de investigación

La presente investigación fue de tipo descriptivo y de enfoque cualitativo, definiéndose la investigación descriptiva como aquella que pretende especificar las propiedades, características y perfiles de personas, grupos, comunidades, procesos, objetos o cualquier otro fenómeno en particular teniendo como propósito la descripción precisa de un evento que se someta a un análisis. En este estudio se describieron los cambios morfológicos de las plaquetas ante la acción de un cóctel *antiaging*. (Hernández y cols, 2016).

Diseño de la investigación

El diseño de la investigación se refiere al plan o las diferentes estrategias que utiliza el investigador el cual, pretende establecer el posible efecto de una causa que se manipula y así guarda relación con el dónde y el cuándo se recopilará la información necesaria que contribuirá a responder la pregunta de la investigación según lo citan autores como Hernández y cols (2016).

En tal sentido, el diseño de este estudio fue experimental, ya que se manipularon intencionalmente las plaquetas obtenidas del Plasma Rico en Plaquetas,

al combinarse con un cóctel *antiaging*; según Hernández y cols, 2016 un diseño experimental requiere la manipulación intencional de una o más variables para analizar sus posibles resultados.

Población y Muestra

Unidad de Investigación

La unidad de investigación de este estudio estuvo representada por las plaquetas contenidas en el Plasma Rico en Plaquetas obtenido de individuos sanos que acudieron al laboratorio del Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Selección del Tamaño Muestral

Hernández y cols., (2016), definen la muestra como una parte de la población o un conjunto de elementos obtenidos con el fin de investigar algunas de las propiedades de la población de estudio. Sin embargo, cuando se trata de una población finita como en esta investigación, la muestra representó el total de la población, siendo seleccionados un mínimo de seis (06) muestras en edades comprendidas entre los 24 y 32 años, de ambos géneros y que cumplieran con los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión: Individuos sistémicamente sanos con valores normales de plaquetas.

Criterios de exclusión: Personas diabéticas, hipertensas, con enfermedades autoinmunes o con alteraciones plaquetarias, embarazadas, niños y ancianos.

Sistema de Variables

Las variables de una investigación son características presentes en la unidad de investigación y se pueden medir (Hernández y cols, 2016), específicamente se considera en algunos casos tres categorías: Dependiente, independiente e interviniente: En la presente investigación se presentaron las siguientes variables:

Variable dependiente: Morfología de las plaquetas, obtenidas a partir del Plasma Rico en Plaquetas

Variable independiente: Composición química del cóctel *antiaging*.

Técnica e Instrumento de recolección de datos

Hernández y cols, 2016 indica que toda recolección de datos implica elaborar un plan detallado de procedimientos que conduzcan a reunir datos con un propósito específico. En esta investigación se empleó la técnica de observación estructurada, como técnica de recolección de datos utilizando como instrumento la ficha de cotejo. (Anexo 1).

Procedimientos Metodológicos

La realización de este trabajo estuvo constituido por cinco fases (Extracción de la muestra sanguínea, obtención del PRP, conteo plaquetario, frotis, combinación del PRP/cóctel *antiaging*). Cabe destacar, que previo al procesamiento de las muestras, se realizó un adiestramiento con el fin de lograr habilidades y destrezas en los protocolos empleados. En la Figura 15, se describen las 5 fases experimentales:

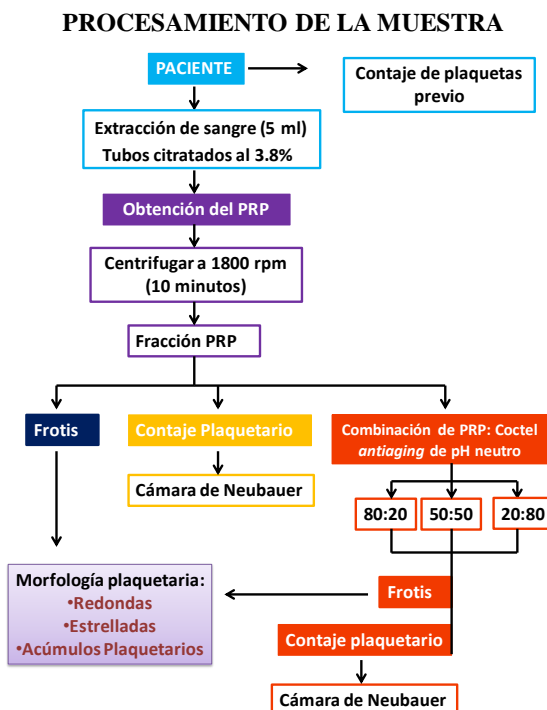


Figura 16. Procesamiento de la muestra.

Fase 1: Recolección de la Muestra

A los participantes de esta investigación se les realizó un examen de hematología completa con la finalidad de conocer si cumplía con el criterio de inclusión referente a valores plaquetarios normales. Aquellos que cumplían este requisito, se les hizo entrega del consentimiento informado (Anexo 2) para su lectura y autorización; el mismo forma parte del cumplimiento de los requisitos bioéticos como argumento filosófico del estudio del comportamiento humano en el ámbito de las ciencias biosanitarias, teniendo en cuenta los principios morales y los valores de las personas (Auñón y Meglono, 2016), además de aplicar el tratado de Helsinki incorporando las modificaciones de la revisión de Fortaleza (2013), en el cual se debe explicar a los participantes los procedimientos correspondientes a la investigación, incluyendo el anonimato de los participantes.

Una vez firmado el consentimiento informado, se procedió a la obtención de las muestras acorde a lo establecido por Ventura y cols (2005), realizando la asepsia y antisepsia de la zona del antebrazo del paciente (Figura 17a). Para ello, se le extrajeron cinco (05) ml de sangre de la vena cefálica en su unión con la vena mediana del codo del miembro superior (Figura 17b), la cual fue dispensada en un tubo citratado al 3.8% (Figura 17c), mezclando suavemente para la homogenización de la sangre con el anticoagulante

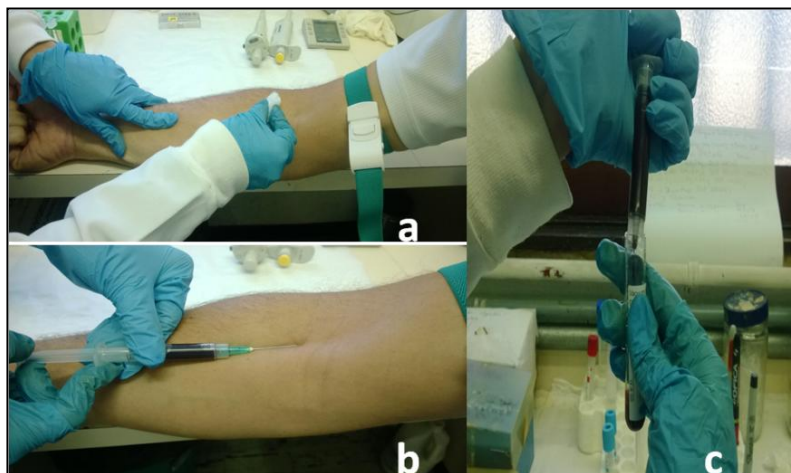


Figura 17: Recolección de la muestra: **a)** Asepsia y antisepsia del antebrazo. **b)** Extracción de sangre. **c.** Deposición de la sangre en el tubo citrato al 3.8%. **Fuente:** Fotografías tomadas por las autoras de la investigación.

Fase 2: Obtención del Plasma Rico en Plaquetas

Considerando la metodología propuesta por Anitua (1999) y estandarizada desde el año 2012 por el personal que se encuentra en el laboratorio del Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes para la obtención de PRP, se trasvasó la sangre citratada, previamente obtenida, a un tubo cónico de 15 ml (Figuras 18a), y se procedió a centrifugarla por 10 minutos a 1800 rpm. En una centrífuga automática *Digisystem Laboratory Instruments INC®* (Figuras 18b).



Figura 18: Protocolo de obtención del PRP. **a)** Trasvasado sanguíneo y **b)** Centrifugación para la obtención del plasma rico en plaquetas **Fuente:** Fotografías tomadas por las autoras de la investigación.

Luego de la centrifugación, se obtuvieron dos fracciones (Figura 19a), la fracción inferior, conformada por un sedimento con los elementos celulares (glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas) y la fracción superior constituida por un sobrenadante denominado plasma; el cual se subdividió en tres partes: la parte superior correspondiente al plasma pobre en plaquetas (PPP), la parte media denominada plasma medio en plaquetas (PMP) y la última parte, más cercana al sedimento, representada por el plasma rico en plaquetas (PRP).

Cada una de las partes fue tomada empleando una micropipeta automática marca Eppendorff, iniciando desde la parte superior hasta llegar a la fase que contenía el PRP

(Figura 19b), el cual se transfirió a un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml de capacidad.



Figura 19: Distribución y fraccionamiento del PRP. **a)** Distribución de los componentes de la sangre. **b)** Fraccionamiento para la obtención PRP. **Fuente:** Fotografías tomadas por las autoras de la investigación.

Fase 3: Contaje del PRP

Para el contaje plaquetario se siguió las instrucciones del prospecto del estuche Diagnopette® (Método Brecher-Conkite) modificado en el laboratorio del Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes desde el año 2012, ya que emplea una alícuota de PRP en lugar de sangre. A continuación se describe el procedimiento: se agregaron 20µl del PRP en un vial de Diagnopette® (Figura 20a), se mezcló bien y se dejó en reposo por 3 minutos (Figura 20b). Posteriormente se colocaron 10µl de esta mezcla en cada lado de la cámara de Neubauer, al pasar 10 minutos se procedió al recuadro central con objetivo de 40X del microscopio óptico (Figura 20c). Se verificó la cantidad de plaquetas sabiendo que este reporte cuantitativo oscila entre 2 a 3 veces mayor al valor basal.

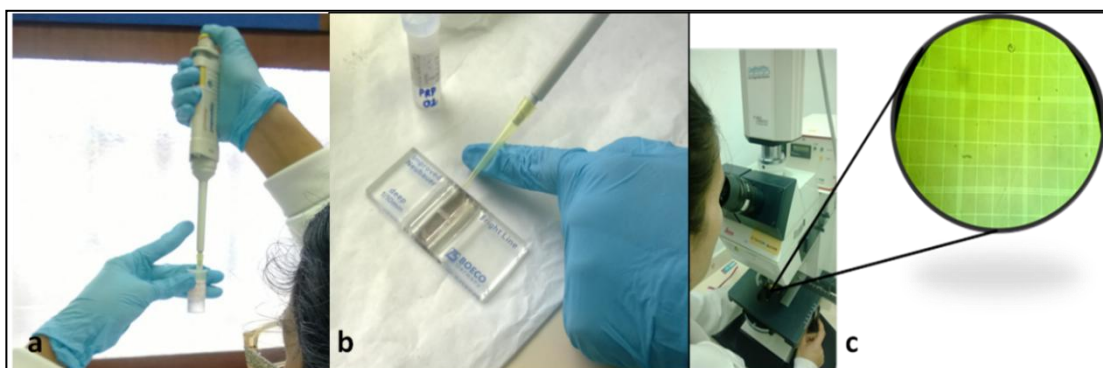


Figura 20: Contaje plaquetario. **a)** Preparación del vial de Diagnopette®; **b)** Montaje en la cámara de Neubauer y **c)** Contaje de plaquetas del PRP empleando el microscopio a 40X. **Fuente:** Fotografías tomadas por las autoras de la investigación.

Fase 4: Frotis Sanguíneo

Para el desarrollo de la presente investigación se realizó una modificación a la técnica del frotis de sangre periférica (FSP), reemplazando la sangre por plasma rico en plaquetas, siguiendo los mismos pasos para su elaboración, de acuerdo con lo descrito por Muñoz y Morón (2005), los cuales describen la correcta realización del frotis de sangre periférica, de la siguiente manera: Sobre un portaobjeto previamente identificado, se colocó 10µl de plasma rico en plaquetas, con la ayuda de una micropipeta (Figura 21a). Seguidamente, se procedió al extendido del frotis, para lo cual se colocó sobre uno de los extremos de la superficie del portaobjeto donde se encuentra la gota de plasma y en ángulo de 45° otro portaobjeto esmerilado, el cual se deslizó en sentido longitudinal y a velocidad moderada a fin de obtener una fina película del mismo (Figura 21b) y se dejó secar a temperatura ambiente.

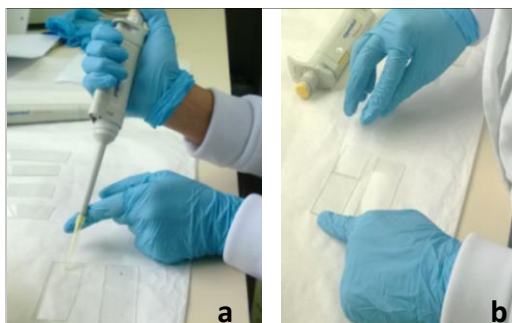


Figura 21: Frotis sanguíneo. **a)** Colocación del plasma en el portaobjetos. **b)** Realización del extendido. **Fuente:** Fotografías tomadas por las autoras de la investigación.

Para la visualización del frotis, se procedió a la tinción del mismo con la **coloración de Giemsa**: se cubrió el frotis con metanol por 5 minutos, se lavó y se agregó el colorante Giemsa por 10 minutos; se procedió a lavar el colorante (Figura 22), se dejó secar a temperatura ambiente y se visualizó en un microscopio Leica con objetivo de 100X y aceite de inmersión.



Figura 22: Técnica de la coloración de Giemsa modificada. **Fuente:** Fotografías tomadas por las autoras de la investigación.

Fase 5: Combinación del PRP con el cóctel *antiaging*

El cóctel *antiaging* que se empleó fue la fórmula REDOX® de la marca Innoaesthetics (Figura 23), indicado para la neutralización del exceso de los radicales libres y que contiene Agua, Manitol, Ácido Glutámico, Glicina, Clorhidrato de L-cisteína, Ácido Tióctico, Superóxido Dismutasa, Mannurato de Metilsilanol, Gluconato de sodio y EDTA disódica.



Figura 23: Cóctel *antiaging*. Fórmula REDOX®. **Fuente:** https://static.wixstatic.com/media/750480_b856cb5c00cd4ed19af31699a45b8a86~mv2.jpg/v1/fit/w_500,h_500,q_90/file.jpg.

Las proporciones que se usaron para las combinaciones de PRP/Cóctel se describieron en la Tabla 6, para un volumen final de 1ml. A cada una de las combinaciones se les realizó el conteo plaquetario y el frotis sanguíneo correspondiente según la técnica descrita previamente.

Tabla 6: Proporciones para la combinación de PRP/ Cóctel *antiaging*.

Proporción	PRP	Coctel (REDOX)
20/80	20 µl	80 µl
50/50	50 µl	50 µl
80/20	80 µl	20 µl

Diseño de Análisis

Para el análisis de resultados, se empleó una estadística descriptiva, en el cual para las variables cualitativas como por ejemplo los indicadores del frotis sanguíneo (cambios en la morfología plaquetaria: redonda, estrelladas y acúmulos plaquetarios) en sus dimensiones Abundantes, Moderadas Escasas y Muy escasas fueron expresadas en tablas o gráficos. Por otra parte, el análisis estadístico de la variable cuantitativa (conteo plaquetario pre y post combinación con el cóctel *antiaging*), fue expresado en promedio aritmético y desviación estándar empleando el programa Excel versión Windows 2016.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Fase 1: Recolección de la Muestra

La muestra para la presente investigación estuvo conformada por 6 personas con edades entre 24 a 32 años, distribuidos según el género en tres hombres y tres mujeres, los cuales cumplieron con los criterios de inclusión de valores normales de Hemoglobina (Hb), Hematocrito (Hto), Glóbulos blancos (GB), Linfocitos (Lin), Granulocitos (Gran), Monocitos (Mid) y Plaquetas basales (Plt) reflejados en la Tabla 7.

Tabla 7: Parámetros basales.

Paciente	Edad	Sexo	Plt (x10 ³ uL)	Hb (g/dl)	Hto (%)	GB (x10 ³ /uL)	Lin (%)	Gran (%)	Mid (%)
P1-2018	31	M	262	14.9	46.2	4.8	47.6	46.3	6.1
P2-2018	27	M	214	13.0	40.9	5.7	28.8	62.0	9.2
P3-2018	32	M	251	13.0	41.1	6.9	35.1	59.9	5.0
P4-2018	27	F	187	12.0	36.2	4.7	23.5	68.4	8.1
P5-2019	25	F	264	12.5	39.0	6.9	26.1	68.2	5.7
P6-2018	24	F	371	12.9	42.5	7.5	36.2	59.7	4.1

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Guyton y col (2016) y Torrens (2015), en el que indican que los valores normales para la Hb deben estar en un intervalo de 12,3-15,3 g/dl en mujeres y en hombres 13-17.5 g/dl, como se demuestra en la Tabla 7. Por otra parte, el análisis del recuento de glóbulos blancos (GB) permitió corroborar que todos los pacientes presentaron niveles normales en este parámetro, como lo afirma Torrens 2015, el cual hace mención que los valores normales en hombres y mujeres deben estar entre 4,4-11,3 x10³ μL. Con referencia a los valores de las plaquetas, Pinheiro (2018), señala que la concentración adecuada de estas estructuras en sangre periférica debe oscilar entre 15,0-45,0 x 10³ μL, es por ello que tanto las muestras pilotos como de los pacientes, se encuentran dentro de los rangos normales. Estos datos demuestran que los individuos tenían una condición sistémicamente sana, desde el punto de vista hematológico.

Fase 2: Obtención del Plasma Rico en Plaquetas

Para la obtención del PRP, se realizó la técnica referida por Anitua (1989) y estandarizada desde el año 2012 por el personal que se encuentra en el laboratorio del Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, en donde se empleó el citrato de sodio al 3.8%, como anticoagulante y se centrifugó a 1800rpm por 10 minutos (Figura 24). Esto coincide con lo expresado por Pérez (2010), quien ratifica como requisito importante la aplicación de sustancias como el citrato sódico, para permitir la conservación de las plaquetas de forma íntegra, pero sin que se activen. Asimismo, este autor refiere que el EDTA como anticoagulante no es recomendable, debido a que tiende a fragmentar las plaquetas.

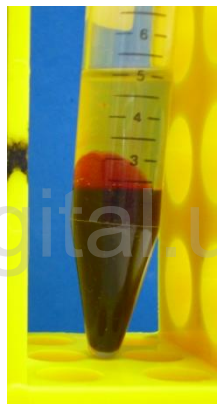


Figura 24: Obtención del PRP. **Fuente:** MSc. Anajulia González.

Fase 3: Contaje del PRP

Se aplicó la metodología descrita en el prospecto del estuche Diagnopette® (Método Brecher-Conkite) modificado en el laboratorio del Centro de Investigaciones Odontológicas de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes desde el año 2012, ya que emplea una alícuota de PRP en lugar de sangre. En la Tabla 8, se reflejan los valores obtenidos, observándose un aumento hasta 3 veces del valor inicial en el número de plaquetas.

Tabla 8: Contaje plaquetario.

Paciente	Plt (x10 ³ uL)	PRP (x10 ³ uL)	[Nº veces]
P1-2018	262	562	2.1
P2-2018	214	522	2.4
P3-2018	251	628	2.5
P4-2018	187	646	3.4
P5-2018	264	541	2.0
P6-2018	371	566	1.5

Al evaluar el contaje plaquetario en este estudio por el método manual empleando la cámara de Neubauer, se observó que la cantidad de plaquetas fue hasta 3 veces mayor al número de plaquetas basales, esto coincide con lo reportado por González, Arteaga, Ruíz, Briceño, Quintero, Quintero y Urdaneta (2016) quienes indican que el número de plaquetas contenidas en el PRP puede oscilar entre 3 a 5 veces el valor inicial de plaquetas. Asimismo, Zabala y Hannaoui (2013), aplicaron diferentes métodos de contaje plaquetario, asegurando la eficacia de este método con cámara de Neubauer (hematocitómetro).

Fase 4: Frotis Sanguíneo

Para poder visualizar la morfología plaquetaria tanto en el PRP como en las combinaciones, se realizó la coloración de Giemsa de acuerdo con lo descrito por Muñoz y Morón (2005). A esta técnica se le hizo una modificación ya que se sustituyó la gota de sangre por una gota de PRP y se suprimió el metanol, ya que daba una coloración muy tenue y no se podían apreciar los elementos celulares; por lo tanto se aplicó el colorante de Giemsa directamente sobre los frotis por un tiempo de 10 minutos.

La morfología plaquetaria observada se aprecia en la Figura 25 como redondas que representan las plaquetas inactivas, las estrelladas que simbolizan las

plaquetas activadas y los acúmulos plaquetarios que ejemplifican la agrupación de plaquetas una vez activadas para la formación de un trombo.

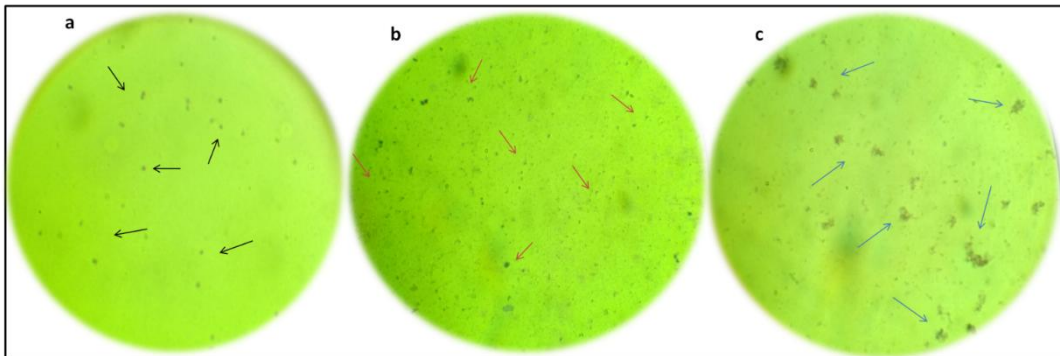


Figura 25: Morfología plaquetaria: **a.** Redondas **b.** Estrelladas **c.** Acúmulos plaquetarios.

En el PRP, la morfología redonda se observa de manera abundante y moderada en todas las muestras (Figura 26), siendo ésta una condición natural de las plaquetas, es decir, se mantienen inactivas hasta entrar en contacto con un potencial activador como por ejemplo soluciones cálcicas, vidrio o compuestos que favorezcan la degranulación plaquetaria (cócteles antiedad), como lo describe el autor Gómez y cols, 2017. Hubo una escasa presencia de la morfología estrellada en 5/6 de las muestras observadas y muy escasa de acúmulos plaquetarios (6/6) sin embargo, se puede activar un pequeño número de plaquetas debido a una activación transitoria relacionado a los procedimientos para la obtención del PRP, que concuerda con lo referido por Gómez y cols (2018).

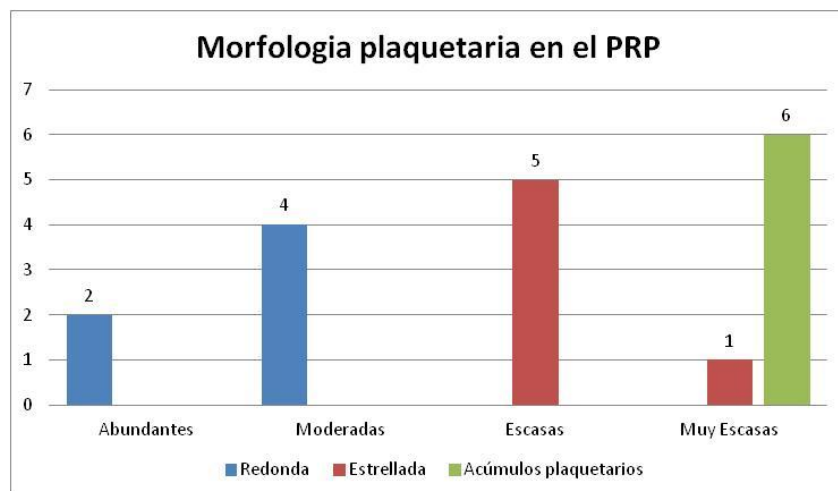


Figura 26: Gráfica en barra para la morfología plaquetaria en el PRP.

Vale mencionar que autores como Arroyo y col, (2015), afirman que la eficacia de los factores de crecimiento va a depender de la calidad de las plaquetas, por lo que es de gran importancia controlar todos los parámetros que determinen la viabilidad de cada concentrado. Dentro de los parámetros evaluados por estos autores se encuentra el tiempo, donde observaron que, en un transcurso de más de 3 días, hubo un incremento de la formación de agregados plaquetarios y sugieren que el PRP debe emplearse en un tiempo no mayor a 24 horas.

Fase 5: Combinación del PRP con el cóctel *antiaging*

a) pH del cóctel *antiaging*

Al medir el pH del cóctel *antiaging* REDOX®, marca Innoaesthetics, empleando el papel tornasol marca Macherey-Nagel® (Figura 27), se obtuvo un valor de 7 (pH neutro), lo que indica que la aplicación de dicho cóctel en la piel no causaría efectos adversos en la superficie dérmica del rostro. Cabe destacar que Lucero (2017) indica que a medida que se desarrolla el ciclo vital del hombre el pH dérmico varía desde un pH neutro en el recién nacido a un manto ácido entre los 18 y 60 años para finalmente alcalinizarse en la vejez.



Figura 27: Valor de pH del cóctel *antiaging* REDOX®. Fuente:

https://static.wixstatic.com/media/750480_b856cb5c00cd4ed19af31699a45b8a86~mv2.jpg/v1/fit/w_500,h_500,q_90/file.jpg. Fotografías tomadas por las autoras de la investigación.

b) Contaje plaquetario del PRP y sus combinaciones con el cóctel

En la Tabla 9, se resume los resultados obtenidos del contaje plaquetario realizado tanto al PRP como a las combinaciones decrecientes de PRP y crecientes de cóctel (PRP/cóctel: 80/20; 50/50; 20/80); donde cada preparación fue analizada al momento y el tiempo de análisis fue no mayor a 3 horas. Además, se refleja los valores porcentuales obtenidos de la desviación estándar porcentual entre la combinación respectiva con respecto al valor del PRP.

Cabe destacar que la combinación 20/80 arrojó valores negativos lo que significa que ésta no es una combinación adecuada para usar ya que altera o disminuye los valores del contaje plaquetario; mientras que la combinación 80/20, a pesar de presentar en dos muestras valores negativos, se observó un leve aumento del número de plaquetas. No menos importante, la combinación 50/50 en donde se observó la disminución de los valores de plaquetas (desviación porcentual negativa) con respecto al valor del PRP.

Tabla 9: Contaje plaquetario del PRP y sus combinaciones con el cóctel.

Paciente	Plt (x10 ³ uL)	PRP (x10 ³ uL)	80/20 (x10 ³ uL)	DEP	50/50 (x10 ³ uL)	DEP	20/80 (x10 ³ uL)	DEP
P1-2018	262	562	572	1.78%	559	-0.53%	526	-6.4%
P2-2018	214	522	530	1.5%	531	1.7%	488	-6.5%
P3-2018	251	628	657	4.6%	595	-5.2%	579	-7.8%
P4-2018	187	646	638	-1.2%	655	1.4%	633	-2.0%
P5-2018	264	541	530	-2.0%	553	2.2%	528	-2.4%
P6-2018	371	566	566	0	557	-1.5%	527	-6.8%

DEP: Desviación estándar porcentual, Plt: Plaquetas, PRP: plasma rico en plaquetas

El empleo del contaje manual es útil para llevar a cabo un control de calidad como lo indica Alcaraz (2015), donde menciona que el contaje manual es eficiente y evita la contaminación de los preparados. Por otra parte, Etulain (2016), refiere que existe una gran variabilidad en los protocolos de centrifugación que incluye tiempo, velocidad, temperatura y ciclos de centrifugación; en consecuencia el número de plaquetas recuperadas en el PRP puede variar desde 300.000 a 1.900.000 plaquetas/ μ L.

El análisis estadístico para esta variable cuantitativa se expresó en media aritmética (\bar{x} , desviación estándar (σ) (Tabla 10), en donde se observa que los valores del promedio aritmético y desviación estándar ($\bar{x} \pm \sigma$) del PRP y las combinaciones 80/20 y 50/50, fueron similares a excepción del valor obtenido de la combinación 20/80 el cual estuvo disminuido, que podría ser atribuido a una mayor cantidad de cóctel. Los valores estadísticos obtenidos confirman lo anteriormente expuesto en cuanto al contaje plaquetario, como variable cuantitativa y se relaciona con la desviación porcentual estándar reflejada en la Tabla 9.

Tabla 10: Análisis estadístico para esta variable cuantitativa.

	PRP (Pltx10 ³ uL)	80/20 (Pltx10 ³ uL)	50/50 (Pltx10 ³ uL)	20/80 (Pltx10 ³ uL)
$\bar{x} \pm (\sigma)$:	574,12 \pm 49,04	578,14 \pm 53,89	572,34 \pm 44,27	543,05 \pm 51,19

c) Morfología plaquetaria del PRP y sus combinaciones con el cóctel

En cuanto a la morfología redonda, en la Figura 28 se refleja el número de frecuencia de cada una de las categorías (Abundantes, Moderadas y Escasas) tanto del PRP como de las combinaciones con el cóctel (80/20; 50/50; 20/80). Se evidenció que la morfología plaquetaria redonda presente en la combinación 80/20, es similar al PRP, ya que presenta tanto las categorías abundantes como moderadas. Por el contrario, al comparar el comportamiento de la combinación 20/80, se observó un aumento significativo de la categoría escasa lo que se relaciona con el conteo plaquetario que se visualiza disminuido.

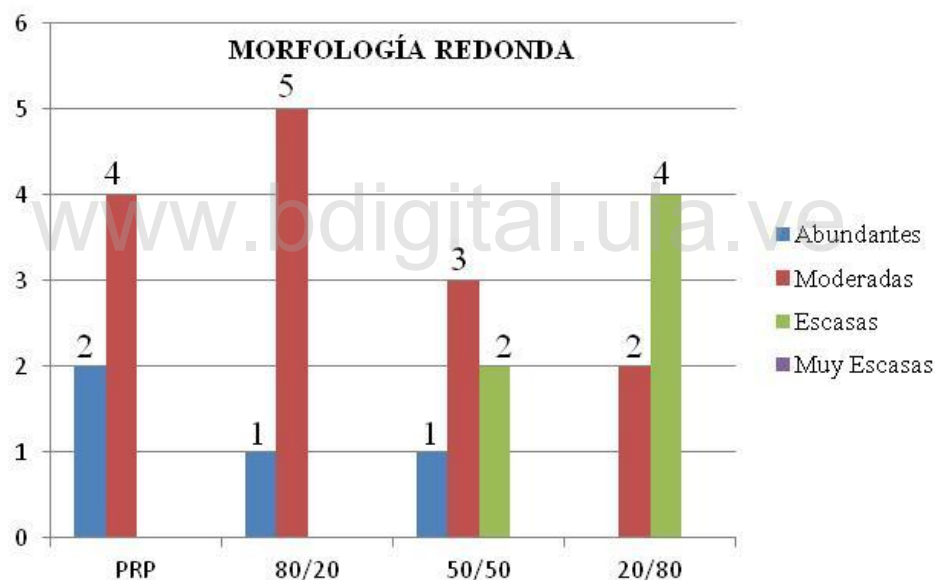


Figura 28: Gráfica en barra para la morfología redonda.

Se observó que la morfología redonda se mantuvo normal en el PRP, una vez cumplido su proceso de obtención, aplicando el sistema abierto (manual), en comparación con el autor Pérez (2010), que utilizó un sistema cerrado (automatizado), verificando por medio de microscopía electrónica, la conservación de la integridad plaquetaria del PRP en mayor medida, lo que favorece que los depósitos de TGF- β (factor de crecimiento transformante beta) que están en los gránulos alfa se

mantengan íntegros hasta el final sin perder su contenido pudiendo liberarse en el momento de su utilización, siendo estos importantes en la síntesis de colágeno. En el caso de las combinaciones hubo una disminución notable en la mezcla 50/50 y 20/80 de la estructura redonda, siendo una posible causa, el cóctel. Cabe destacar que puede haber un cierto grado de activación en el momento de la extracción sanguínea como lo recalca Pérez (2010).

En la Figura 29, se observa que la morfología estrellada tiende a ser escasa y muy escasas en el PRP, valores que se asemejan en la combinación 80/20; pero destaca, la categorización de muy escasas en la combinación 20/80. Tomando en cuenta que la presencia de morfología estrellada refleja una activación previa a la formación de acúmulos plaquetarios y lo que se observó en este estudio, en donde hubo una mínima activación en un cierto tiempo en la fracción de PRP y en las tres combinaciones, no es recomendable el uso de combinaciones de PRP/cóctel en tratamientos antienvjecimiento.

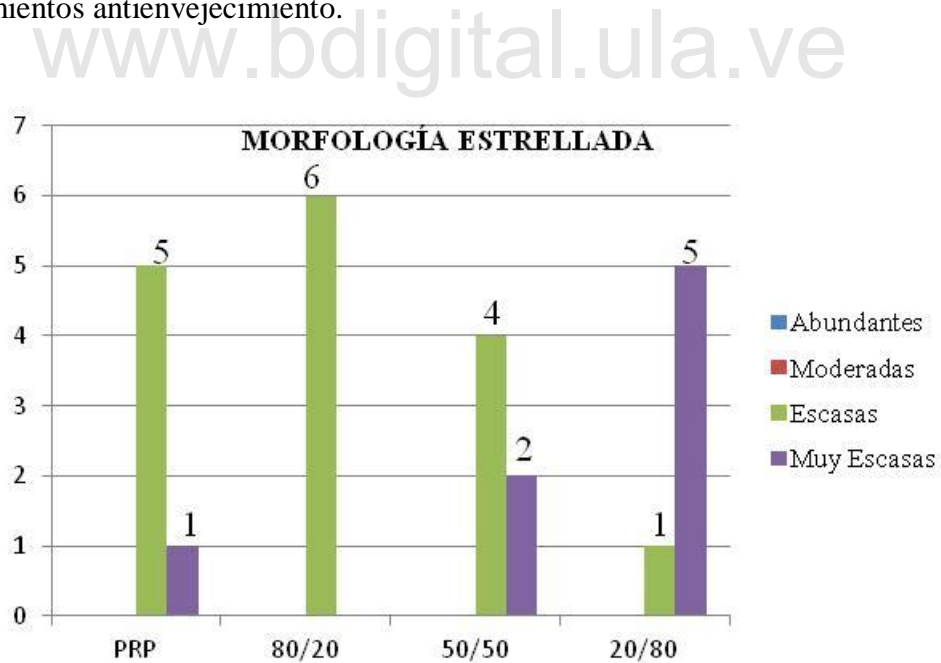


Figura 29: Gráfica en barra para la morfología estrellada.

Cabe destacar que en este estudio, a la combinación PRP/cóctel no se le añadió ningún activador cálcico como lo recomienda la literatura; por lo tanto, la presencia de morfología estrellada o acúmulos plaquetarios está relacionado más a la presencia del cóctel que al procedimiento como tal; a diferencia del PRP, cuyo proceso de activación puede estar sujeto a la manipulación del analista cuando no se le añade ningún compuesto cálcico, como lo acota el autor García (2018). Además de los compuestos cálcicos para la activación y consiguiente degranulación plaquetaria, autores como Wanas y cols (2017), emplearon ozono médico y cloruro de calcio; mientras que autores como Lippi, Danese, Brocco, Gelati, Salvageo y Montagnana (2016) confirmaron que las plaquetas se activan y generan un tapón plaquetario (acúmulo plaquetario) al estar en contacto con las ondas de radiofrecuencia emitidas por los teléfonos móviles, contribuyendo esto a un factor adicional que puede afectar la calidad y funcionalidad de las plaquetas durante su procesamiento.

Con respecto a los acúmulos plaquetarios, en la Figura 30, se observó la poca presencia de los mismos en el PRP (6/6 en la categorización muy escasas) comportamiento ligeramente similar en la combinación 80/20; sin embargo, en la combinación 50/50, se denota un leve aumento de los acúmulos plaquetarios en la categoría moderada (2/6) mientras que la combinación 20/80 se incrementa la presencia de dichos acúmulos en las categorías abundante y moderadas.

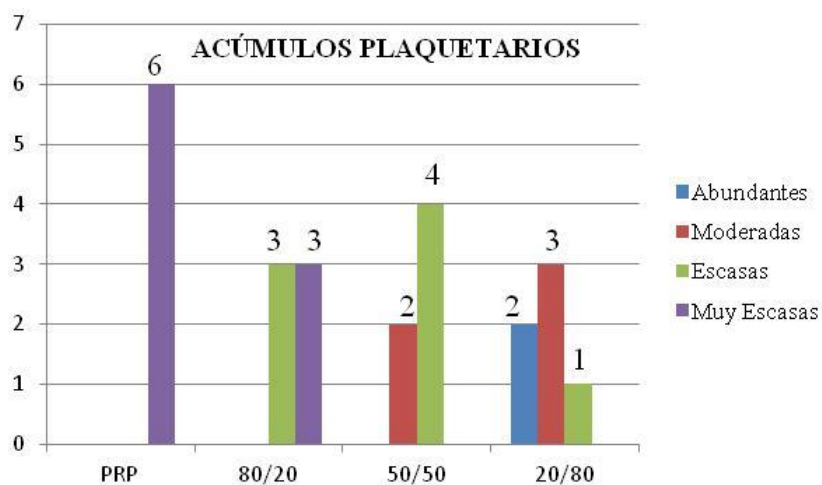


Figura 30: Gráfica en barra para la morfología de acúmulos plaquetaria.

Pérez, 2010 indica que las plaquetas tienen una morfología redondeada desde que se escinden del megacariocito. Esta morfología se mantiene en el torrente sanguíneo siempre que no se provoque la activación de las mismas por un proceso intravascular o por la salida del torrente sanguíneo lo que provoca cambios en la morfología para facilitar la agregación plaquetaria. Es así como en su estudio observó mediante microscopía electrónica la similitud en la forma de las plaquetas de la sangre periférica y las que se encuentran en los concentrados de PRP, como se demuestra en la presente investigación, en donde resaltan las categorías Muy Escasas y Escasas para la formación de acúmulos, reflejando un 100% de plaquetas redondas, mientras que en las combinaciones 50/50 y 20/80 se crea mayor cantidad de estas estructuras (acúmulos plaquetarios), probablemente por la incorporación de mayor cantidad de cóctel, sin embargo, no se encontraron trabajos científicos que acotaran la formación de acúmulos al integrar el PRP con antioxidantes.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En referencia al conteo plaquetario el número de plaquetas se duplicó y triplicó en relación al valor basal y que al ser combinado con el cóctel *antiaging* se mantuvo un número equitativo de plaquetas, con una ligera diferencia en la combinación 20/80.

Con respecto a la morfología plaquetaria del PRP se observó que la forma redonda es la predominante seguida de la forma estrellada y con muy pocos acúmulos plaquetarios.

En la fracción del PRP y en la combinación 80/20 (PRP/cóctel) se observó un mayor predominio de plaquetas redondas, a diferencia de las demás combinaciones 50/50 (PRP/cóctel) y en especial a la 20/80 (PRP/cóctel), hubo una disminución de estas formas redondeadas, debido posiblemente a la mayor cantidad de cóctel.

La presencia de la morfología estrellada de las plaquetas sugiere una activación, que estuvo presente en baja cantidad en la fracción de PRP y demás combinaciones.

Se observaron los acúmulos plaquetarios, indicativo de formación de trombos, con la siguiente escala: escasos en la fracción de PRP, moderados en la combinación 20/80, moderados en 50/50 y abundantes en la 20/80.

La presencia de acúmulos plaquetarios (trombos) sugieren una activación temprana de la plaquetas contenidas en el PRP y esta activación se aumenta cuando se incrementa la cantidad de cóctel *antiaging* REDOX®, a pesar de que éste tenga un pH neutro.

Recomendaciones

Se sugiere continuar con esta línea de investigación realizando ensayos con éste y otros tipos de cócteles *antiaging*; aumentando el número de muestra con los cuales se puedan analizar la morfología plaquetaria y sus posibles cambios.

Se sugiere la aplicación del PRP sin ninguna combinación con otros componentes químicos (cóctel *antiaging*).

De igual modo, se propone realizar investigaciones *in vitro* preferiblemente en animales para visualizar a través de estudios histológicos los cambios tisulares que se generen con el fin de comprobar los efectos o cambios a nivel tisular.

www.bdigital.ula.ve

BIBLIOGRAFÍA

- Abuaf, O., Yildiz, H., Baloglu, H., Bilgili, M., Simsek, H., Dogan, B. (2016). Histology evidence of new collagen formulation using Platelet Rich Plasma in skin rejuvenation: A prospective controlled clinical study. *Annals Dermatology*, 28(6), 18-24.
- Aguilar, A., y Romero, A. (2014). *Envejecimiento cutáneo: aplicación de técnica de bioestimulación con plasma rico en plaquetas como potenciador de resultados en tratamiento con peeling químico en pacientes de 30 a 65 años de edad en la Urbanización Ciudad Celeste del Cantón Zamborondón*. (Tesis pregrado). Universidad Católica de Santiago de Guayaquil, Ecuador, 11-150.
- Agramonte, I., y Agustín, B. (2016). Leucocitosis con desviación izquierda en apendicitis aguda. *Revista Archivo Medico Camagüey*, 20(2), 123-128.
- Alcaraz, J., Oliver, A. y Sánchez, J (2015). Plasma rico en factores de crecimiento plaquetario. Una nueva puerta a la Medicina regenerativa. *Revista de Hematología*, 16, 128-142.
- Alvarado, I. (2013). Fisiología de la coagulación: nuevos conceptos aplicados al cuidado perioperatorio. *Revista Javeriana*, 54(3), 338-352.
- Arcuri, A (2013). Plasma Rico en Plaquetas. España: Editorial Amolca.
- Ayora, R., Cristina, A. (2016). *Plasma rico en factores de crecimiento. Desarrollo y estandarización de su aplicación por vía oftálmica*. (Tesis de Doctorado) Universidad de Oviedo. España.
- Bargis, P y Lévy-Dutel, L. (2016). Nutrientes, vitaminas y elementos minerales. Madrid, España: Editorial EDAF.
- Barros, G. (2016). *Estudio molecular del síndrome de plaqueta pegajosa mediante Análisis del exoma*. (Tesis de postgrado). Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia, 1-62.
- Aramburu, C. (2016). Trombocitopenia y PDF de los trastornos plaquetarios más importantes. Zapopan, México: Editorial Sapiens Medicus. Recuperada de <https://sapiensmedicus.org/trombocitopenia-trastornos-plaquetarios>.
- Beani. (2015). Fotodermatosis. *EMC Dermatología*, 49(2), 1-27.
- Bescós, M., Pamias, J., Sáez, M., González, J., Moreno, J., y Burgueño, M. (2014). Blefaroplastia. *Protocolos clínicos de la Sociedad Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 793-804.
- Bravo, Á. (2014). Nefertiti también usaba mascarilla. Colombia. Editorial Tombooktu.
- Bravo, A., y Álvarez, M. (2016). Fisiopatología y trastornos de la coagulación hereditarios más frecuentes. *Pediatría Integral*, 387.
- Cabrera, J., Puebla, A., González, A., García, D., Cortés, J., Márquez, A., Contreras, G., Bracamontes, J., Saucedo, J., y Fuentes, C. (2017). Plasma Rico en Plaquetas en el tratamiento del fotodaño cutáneo en las manos. *Actas Dermo-Sifiligráficas*, 4(006), 1-6.
- Cajo, A. (2017). *Evaluación de la concordancia de resultados de trombocitopenia mediante el principio de impedancia y el frotis en sangre periférica en el servicio de consulta externa de hematología del hospital Carlos Andrade*

- Marín-quito, durante el periodo de septiembre - diciembre del 2016* (Tesis de Pregrado). Universidad Central del Ecuador, Ecuador, 1-54.
- Caná, E., Ruano, M. (2017). *Perfil hematológico, Tiempo de Tromboplastina y Protrombina en una población adulta que asiste a la consulta externa de un Hospital Público Urbano*. (Tesis pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Cannova, D., Brito, E., y Simons, M (2016). Evaluación de técnicas de coloraciones para el diagnóstico de la Leishmaniasis cutánea. *Revista de Salud Pública*, 20(2), 24-29.
- Castaneda-Cázares, J. P., Torres-Álvarez, B., Portales-González, B., Martínez-Rosales, K., y Hernández-Blanco, D. (2016). Análisis de la radiación solar ultravioleta acumulada en México. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(1), 26-31.
- Castillo, G., Medina, V., Lomelí, M., Medrano, F., Guerrero, C., Contreras, C., y González, A. (2017). Plasma rico en plaquetas y su efecto en la regeneración ósea en fracturas mandibulares. Ensayo clínico controlado. *Gaceta Médica de México*, 153(4), 461-467.
- Cervera, A., y Álvarez, M. (2016). Fisiopatología y trastornos de la coagulación hereditarios más frecuentes. *Pediatría Integral*, (5), 318-33.
- Ceresetto, J.M. (2017). Fisiología de la hemostasia. Introducción general. *Sociedad Argentina de Hematología*, 21(4).
- Conde, E., Fernández, M. y Suárez, R (2015). Plasma Rico en Plaquetas: aplicaciones en dermatología. *Actas de Dermosifiliográficas*, 106 (2), 104-111.
- Constanzo, L. (2018). Fisiología. España: Elsevier-Saunders.
- Contreras, D. (2013). Origen y destino de los megacariocitos. *Morfología*, 5(3), 1-15.
- Conde-Montero, E., de la Cueva, P., y Martínez, J. (2017). Platelet-rich plasma for the treatment of chronic wounds: evidence to date. *Chronic Wound Care Management and Research*, 4, 107-120.
- Cornejo, J. (2017). *Evaluación in vivo de la eficacia cosmética de dos procedimientos de bioestimulación con la aplicación de Plasma Rico en Plaquetas en arrugas faciales, para mejorar la elasticidad y firmeza de la piel tratada* (Tesis de Postgrado). Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador.
- De la Serna, J. (2015). Linfoma de células del manto. Guía española para pacientes y familiares. Madrid, España: Editorial AEAL Explica, 15-22.
- Del Ojo, D. (2015). Plasma rico en plaquetas, ¿es útil en dermatología?. *Medicina cutánea Ibero-Latino-Americana*, 43(2), 87-89.
- De Sancovich, A. F., y Sancovich, H.A. (2018). Interacciones de las radiaciones electromagnéticas y especies reactivas del oxígeno sobre la piel. *Revista Argentina de Dermatología*, 99(1).
- Díaz, y Ruiz, (2016). Aplicaciones del plasma rico en plaquetas como terapia en dermatología. *Más Dermatología*, 24, 4-10.
- Espinosa, J., y García, L. (2018). Rejuvenecimiento perioral. *Acta De Otorrinolaringología & Cirugía De Cabeza Y Cuello*, 39(4), 201-211.
- Escobar, H.M. (2012). Terapia de bioestimulación con plasma rico en plaquetas para el envejecimiento cutáneo. *Revista Argentina de dermatología*, 93(1), 1-10.

- Estrella, V., Nipotti, J., Orive, M., y Fernández, R (2015). La piel y sus nutrientes. *Revista Argentina de Dermatología*, 96(2), 1-13.
- Etulain, J (2016). Plasma Rico en Plaquetas (PRP): ¿Es una herramienta terapéutica en diferentes situaciones clínicas?. *Hematología*, 20, 91-103.
- Franco, M., Olivares, E., y Pérez, N. (2017). Terapia regenerativa con Plasma Rico en Plaquetas para el rejuvenecimiento facial. *Revista Medisan*, 19(11), 1353-1358.
- Flores, M. (2017). Diagnóstico de citopenias. Algoritmo de estudio. *Hematología*, 21, 250-278.
- Flores, O., Ramírez, K., Meza, J. y Nava, J (2014). Fisiología de coagulación. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 37, 382-386.
- Ganceviciene, R., Liakou, A., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., y Zouboulis, C. (2012). Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), 308-319.
- García, C. (2018). Coagulación y fibrinólisis. Recuperado de <https://dereflection.wordpress.com/2013/06/09/coagulacion-y-fibrinolisis>.
- Gilaberte, Y. (2014). Terapia fotodinámica con luz de día. *Elsevier*, 29(1), 6-7.
- Gómez, B., Rodríguez, F., y Díaz, E. (2018). Platelet physiology, platelet aggregometry and their clinical usefulness. *Medicina Interna de México*, 34(2), 244-263.
- Gómez, A., Casas, V., y Merchan, W. (2017). The use of platelet-rich plasma in the treatment of acne and its scars: a pilot study. *Surgical Cosmetic Dermatology*, 9(2), 156-9.
- González, J. (2011). Análisis general de los factores de crecimiento. Recuperado de <http://www.deyre.com/analisis-factores-de-crecimiento>.
- González, M., Arteaga, M., Benito, M., y Benito, M (2012). Aplicación del plasma rico en plaqueta (PRP) y sus derivados en implantología dental y cirugía plástica. *Investigación Clínica*, 53(4), 408-418.
- González, A., Fernández, N., Forrellat., M., y Hernández, P. (2014). Caracterización de los concentrados plaquetarios utilizados en la Medicina Regenerativa. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 30(2), 171-178.
- González, M., Galimberti, D., Valdivia, D., Sharon, S., Bollea, L., y Galimberti, R. (2015). Celulitis: tratamiento combinado con mesoterapia, láser y radiofrecuencia. *Dermatología CMQ*, 13(1), 13-19. Obtenido de <http://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2015dcm151c.pdf>.
- Gonzales, F. (2017). Trombocitopoyesis. Recuperado de <https://www.franzmn.com/trombocitopoyesis>.
- Gremmel, T., Frelinger, A., y Michelson, A. (2016). Platelet physiology. In *Seminars in thrombosis and hemostasis*. Thieme Medical Publishers 42(03), 191-204.
- Grimaldo, A. (2017). Fisiología de la hemostasia. *Revista Mexicana de Anestesiología*, 40(2), S398-S400.
- Guerrero, B., y López, M (2015). Generalidades del sistema de la coagulación y pruebas para su estudio. *Revista de Investigación Clínica*, 56(4), 432-454.
- Guo, T., Wang, X., Qu, Y., Yin, Y., Jing, T., y Zhang, Q. (2015). Megakaryopoiesis and platelet production: insight into hematopoietic stem cell proliferation and differentiation. *Stem cell investigation*, 2.

- Guyton, A. C., y Hall, J.E. (2016). Tratado de Fisiología Médica. Elsevier Saunders.
- Guzmán, G. (2015). Efectividad cicatrizante de la fibrina rica en plaquetas (prf) en la cirugía de terceros molares retenidos en el centro quirúrgico de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador. Período 2015 (Bachelor's thesis, Quito: UCE).
- Hernández, L. (2014). *Refractariedad plaquetaria* (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad de Javeriana, Colombia. 1-94.
- Hernández-Zamora, E., Zavala-Hernández, C., Quintana-González, S., y Reyes-Maldonado, E. (2015). Enfermedad de von Willebrand, biología molecular y diagnóstico. *Cirugía y Cirujanos*, (3), 255-264.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2016). Metodología de la investigación. *México: McGraw-Hill Interamericana*.
- Hernández, Y, Amador, B. E., Centelles, I. A., y Porro, J. A. H. (2018). Elevación de la ceja y abordaje mínimamente invasivo mediante la blefaroplastia. *Revista Cubana de Oftalmología*, 31(2).
- Huerta, J., y Cela, E. (2018). Hematología práctica: interpretación del hemograma y de las pruebas de coagulación. Curso de Actualización Pediatría. *Madrid: Lúa Ediciones* 3(0), 507-526.
- Irulegui, G., Sierra, C., Moteró, A., Martín, X., y García, J (2016). Alteraciones del sistema hemostático. Estrategias diagnósticas de la patología hemorrágica. Coagulopatías congénitas. *Medicine*, 12(22), 1255-1266.
- Jakubzick, C., Randolph, G., y Henson P. (2017). Monocyte differentiation and antigen-presenting functions. *Nature Reviews Immunology*. 17(6), 349-362.
- Jayashree, M., Yadhunath, J., Swati, D. Vilasrao, K (2015). Mesotherapy: An overview. *Indo American Journal of Pharm*, 5, 1423-1431.
- Jiménez, A. (2017). *Plasma rico en factores de crecimiento en el tratamiento de desórdenes articulares. Revisión sistemática de la literatura*. (Tesis de postgrado). Universidad Nacional de Colombia.
- Jiménez, G., Herrera, J., Hernández, O., y Martínez, L. (2017). La deficiencia de andrógenos y su relación con el deterioro en la memoria en el envejecimiento y en la enfermedad de Alzheimer. *Actas Españolas de Psiquiatría*, 45(5).
- Kaushansky, A., y Kaushansky, K. (2014). Systems biology of megakaryocytes. In a systems biology approach to blood. Springer, New York, NY. 59-84.
- Konta, A. (2017). *Células natural killer y cáncer*. (Tesis pregrado). Universidad Complutense Madrid. España. 1-20.
- Larsen, P., Vikesa, J., Hansen, y L. (2017). EDTA-induced pseudothrombocytosis and citrate-induced platelet agglutination in a patient with Waldenstrom macroglobulinemia. *Clinical Case Reports*, 5(8), 1243–1247.
- Laura, S., Artigiani, A., y Cianchi, S. (2017,). Biodermogénesis: nuevo enfoque regenerativo contra el envejecimiento cutáneo. *Cosme News*, I, 18-22.
- Leonard, N., y Hernández, C. (2017). Importancia del estudio del frotis de sangre periférica en ancianos. *MediSur*, 15(3), 362-382.
- Leal, H., Carmona, E., y Leal, S. (2017). Tecnología en dermatología (parte 2). *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*. 15(1), 38-43.

- Lizarraga, A (2013). Nutrición y envejecimiento cutáneo. Departamento de Ciencias Fisiológicas II. Campus Bellvitge. Universidad de Barcelona.
- Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. *Programa de Ingeniería de Alimentos*. Corporación Universitaria Lasallista.
- López, A., y Macaya, C. (2013). Plaqueta: fisiología de la activación y la inhibición. *Revista Española de Cardiología y Suplementos*, 13, 2-7.
- López, N. (2016). Pruebas de coagulación. *Acta Pediátrica de México*, 37(4), 241-245.
- López, N. (2016). La biométrica hemática. *Acta Pediatra de México*, 37(4), 246-249.
- López, N. (2017). Pruebas de coagulación. *Acta Pediátrica de México*, 37(4), 241-247.
- Lucero, M. (noviembre de 2017). El pH de la piel y los productos cosméticos. 4ta Jornada Nacional de Dermofarmacia. Madrid, España.
- Machlus, R., y Italiano, J. (2013). The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. *The Journal of Cell Biology*, 201(6), 785-796.
- Magallanes, N. (2014). Transferencia de tejido graso autólogo mediante lipoinyección: una técnica de cirugía reconstructiva y estética en crecimiento cuyos límites aún no están definidos. *Annals of medicine*, 59, 5-7.
- Malanga, G., y Ibrahim, V. (2018). Tratamiento regenerativo en medicina del deporte y traumatología España: Elsevier.
- Maluenda, F. (2015). Recuento de plaquetas. Recuperado de <http://laboratoriohematologiadefelipe.blogspot.com/2015/08/recuento-de-plaquetas.html>.
- Marmolejos, A., Tatis, M., Conde, J., Hernández, L., y Castillo, V. (2014). Las plaquetas. Origen, formación y función. Recuperado de <https://es.slideshare.net/victorcastillo271/las-plaquetas-origen-formacin-y-funcin>.
- Martínez, M., López, B. y Parra, I (2015). Pruebas de laboratorio para la evaluación de la función de las plaquetas. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica et Medicina de laboratorio*, 62(4), 245-252.
- Martínez, M., Martí, A., Solá, I., Expósito, J., Bolívar, I., Rodríguez, L., y Zaror, C. (2016). Plasma Rico en Plaquetas (PRP) autólogo para las heridas crónicas. Recuperado de <http://www.cochrane.org/es/CD006899/plasma-rico-en-plaquetas-prp-autologo-para-las-heridas-cronicas>.
- Medina, R y Rodríguez, U (2015). Dermoabrasión con microagujas. *Revista del Hospital Juárez de México*. 82(1), 26-30.
- Megías, M., Molist, P., y Pombal, M. (2017). Tipos celulares. Eosinófilo. Atlas de la Universidad de Vigo. Recuperado de <https://mmegias.webs.uvigo.es/descargas/tipos-cel-eosinofilo.pdf>.
- Mejía, M., Alzate, M., y Rodríguez, J. (2016). Clasificación automática de glóbulos rojos en frotis de sangre periférica. *Revista Salud*, 48(3), 311-319.
- Mendoza, V (2014). Pruebas de Coagulación. Recuperado de <https://es.slideshare.net/garciaj.cesar/pruebas-de-coagulacion>.

- Menéndez, E., Rubio, S., Sánchez, M., y Valle, T. (2011). Visión moderna de la hemostasia: nuevo modelo de coagulación. *Asociación Española de Biopatología Médica*. Madrid, España.
- Molina, E (2012). El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento. *Nutrición Clínica*. 6(3), 1109-1119.
- Monteiro e Silva, S., Michniak-Kohn, B., y Leonardi, G. (2017). An overview about oxidation in clinical practice of skin aging. *Anais Brasileiros de Dermatología*, 92(3), 367-374.
- Moraleda, J. (2017). Pregrado de Hematología. Universidad de Murcia. España. Editorial Luzán 5.
- Moreno, R., Gaspar, M., Jiménez, J., Alonso, J., Villimar, A. y López, P (2015). Técnicas de obtención del Plasma Rico en Plaquetas y su empleo en terapéutica osteoinductora. *Farmacia Hospitalaria*, 39(3), 130-136.
- Moya, E., y Moya, Y (2015). Bioestimulación facial con Plasma Rico en Plaquetas. *Revista Electrónica Archivo Médico de Camagüey*, 19(2). 167-178.
- Muñoz, M., Moron, C. (2005). Manual de procedimientos de laboratorio en técnicas básicas de hematología. Recuperado de http://bvs.minsa.gob.pe/local/INS/845_MS-INS-NT40.pdf.
- Muñoz, M., Regueiro, J., y Fernández, E (2016). De la genética del receptor de antígeno de los linfocitos T a una potencial diana terapéutica para tratar la malaria cerebral. *Genética Médica*. Recuperado de <https://revistageneticamedica.com/2016/04/29/linfocitos-receptor-antigeno>.
- Olarte, M., Sánchez, S., Aréchiga, C., Bañuelos, R., Donaji, E., Ramírez, A. y López, A (2016). Daño y respuesta celular en piel por exposición prolongada a radiación UV. *Revista de la Asociación Nacional Científica de Estudiantes de Medicina*, 9(1), 44-61.
- Ortiz, G., Ariza, F., Trujillo, A., Bejaranob, A., Gutiérrez, J., Gálvese, K., Duque, L. y Garay, M (2016). Manejo del sangrado y la coagulación en la práctica clínica. Evaluación de la evidencia y recomendaciones mediante estrategia GRADE. Primera reunión de expertos. *Acta Colombiana de Cuidado Intensivo*, ACCI-72, 23.
- Palacios, L., Palacios, X y Botero, J. (2016). Rita Levi-Montalcini, 30 years of her Nobel prize. *Revista MED*, 24(1), 11-15.
- Paniccia, R., Priora, R., Liotta, A. A., y Abbate, R. (2015). Platelet function tests: a comparative review. *Vascular health and risk management*, 11, 133.
- Páramo, J., Piérola, A., y Varea, S. (2014). Alteraciones de la hemostasia primaria. Púrpuras y alteraciones de las plaquetas. *Medicine*, 11(22), 1337-1344.
- Pardo, M. (2017). *Evaluación in vivo de la eficacia cosmética de dos procedimientos de bioestimulación con la aplicación de Plasma Rico en Plaquetas sobre estrías, para mejorar la elasticidad y firmeza de la piel tratada*. (Tesis de Postgrado). Universidad Politécnica Salesiana. Ecuador.
- Parra, I., Martínez, M., y López, B. (2016). Diagnóstico y características del síndrome de plaquetas pegajosas. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 63(2), 60-66.

- Patiño, S. (2016). Éxitos médicos en provincia. *Revista Exitosa*. Recuperado de https://issuu.com/revistaexitosa/docs/revista-exitosa_edicion16/17
- Pavani, A., y Fernandes, T. (2017). Plasma rico em plaquetas no rejuvenescimento cutâneo facial: uma revisão de literatura. *Revista Uningá Review*, 29(1), 227-236.
- Pérez, A. (2010). *Estudio de Microscopía Electrónica y cuantificación de los Factores de Crecimiento mediante un nuevo procedimiento de obtención de Plasma Rico en Plaquetas*. (Tesis Doctoral). Universidad Complutense de Madrid. España.
- Pérez, G., Medina, A., Hernández, H., Morales, M., y Jurado, F. (2017). Plasma rico en plaquetas: estudio comparativo de cuatro protocolos para su obtención. *Revista del Centro Dermatológico Pascua*. 26(2), 41-44.
- Pollack, C. (2015). Coagulation assessment with the new generation of oral anticoagulants. *Emergency Medicine Journal*. 0. 1-8.
- Prieto, A., Barbarroja, E., Barcenilla, H., y Díaz, D (2013). Funciones de los linfocitos B. *Medicine*, 11(28), 1752-1759.
- Quilligana, C. (2016). *Determinación del ancho de distribución plaquetaria como marcador oportuno y diferencial entre fiebre del dengue, fiebre del dengue hemorrágico y chikungunya en pacientes atendidos en el centro de salud tipo c "Unidad Médica Asistencial" del Cantón Joya de los Sachas*. (Tesis pregrado). Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. 1-96.
- Raimondi, A. (2016). Factores de crecimiento: una alternativa no invasiva para tratar el envejecimiento cutáneo. Recuperado de la *Estética Médica*: <http://www.esteticamedica.info/noticias/val/553-49/factores-de-crecimiento-una-alternativa-no-invasiva-para-tratar-el-envejecimiento-cutaneo-.html>.
- Ramírez, L., Ríos, M., Gómez, C., Roja, I., y Gracia, J. (2015). Bioestimulación cutánea periocular con Plasma Rico en Plaquetas. *Revista Cubana de Oftalmología*, 28(1).
- Resina, E., Jones-Caballero, M., Hernández-Núñez, M., Pascual, M., y Daudén, E. (2017). Hiperhidrosis localizada. Evaluación de la efectividad, calidad de vida, seguridad y satisfacción tras el tratamiento con toxina botulínica. *Medicina Cutánea Ibero-Latino-Americana*. 46(1), 22-29.
- Retamales, E. (2015). Recomendación para la interpretación del frotis sanguíneo del subprograma de morfología sanguínea [Internet]. Santiago de Chile: Instituto de Salud Pública. Laboratorio Nacional de Referencia de Hematología. Recuperado de <https://docplayer.es/19700604-Recomendaciones-para-la-interpretacion-del-frotis-sanguineo-del-subprograma-de-morfologia-sanguinea.html>
- Retamales, E. (2013, 14 de enero). Recomendaciones para la interpretación del hemograma: serie roja, blanca y plaquetaria. *Documentos Técnicos para el laboratorio Clínico*, 1-19. Recuperado de <http://www.ispch.cl/sites/default/files/documento/2013/04/RECOMENDACIONES%20PARA%20LA%20INTERPRETACION%20DEL%20HEMOGRAMA%20SERIE%20ROJA,%20BLANCA%20Y%20PLAQUETARIA.PDF>.

- Rivadeneira, L., Ivani, P., Schattner, M., y Pozner, R. (2016). Así comienza la vida plaquetaria: un viaje desde los megacariocitos medulares a las plaquetas circulantes. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 50(2), 233-45.
- Rivera, J., Palma, V., Vicente, V., y Lozano, M. (2018). Trastornos plaquetarios congénitos: *Hematología*, 22(9), 191-209.
- Rodríguez, P. (2015, 6 de mayo). Glóbulos blancos granulocitos: clasificación y función. *Infobiología*. Recuperado de <https://www.infobiologia.net/2015/05/globulos-blancos-granulocitos-clasificacion-funcion.html>.
- Rodríguez-Segura, A., Montoya-García, C., y Pacheco-López, R. (2016). Rejuvenecimiento facial: cambios clínicos e histológicos con la aplicación de plasma rico en plaquetas. *Cirugía Plástica*, 26(3): 132-139.
- Rojas, I., Llamas, J., Ramírez, L., Gómez, C., Rodríguez, G., y Álvarez, N. (2016). Aplicaciones de la toxina botulínica en afecciones palpebrales. *Revista Cubana de Oftalmología*, 29(2), 316-331.
- Romero, V. (2014). *Escala para la valoración clínica de fotoenvejecimiento cutáneo en la cara*. (Tesis de Pregrado). Universidad del Rosario. Colombia.
- Romina, P., Vieira, B., Telles, M., Da Cruz, P., Farias, R., Granjeiro, J., y Borojevic, R. (2013). Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Research & Therapy*. 4(67), 1-13.
- Rubio, M., y Hernández, L. (2017). *Medicina Estética: claves, abordajes y tratamientos actuales*. Jaén, España: Editorial Formación Alcalá.
- Ru, Y., Zhao, S., Dong, S., Yang, Y., y Eyden, B. (2015). On the maturation of megakaryocytes: a review with original observations on human in vivo cells emphasizing morphology and ultrastructure. *Ultrastructural Pathology*, 39(2), 79-87.
- Ru, Y., Dong, S., Liang, H., y Zhao, S. (2016). Platelet production of megakaryocyte: A review with original observations on human in vivo cells and bone marrow. *Ultrastructural Pathology*, 40(4), 163-170.
- Ruiz, A. (2017). Envejecimiento: causa, mecanismos y regulación. *Revista Española de Geriátría y Gerontología*, 36(5), 13-19.
- Ruiz, M., y Morales, M. (2015). Aproximación al tratamiento del envejecimiento cutáneo. *Ars Pharmaceutica*, 56(4), 183-191.
- Ruiz, R. (2017). *Antiaging: Como mantener tu piel más joven*. Barcelona, España: Editorial Roca.
- Sabán, J. (2017). *Control global del riesgo cardiometabólico II: la disfunción endotelial como diana preferencial*. Madrid, España: Ediciones Díaz de Santos.
- Sabbione, A. (2015). *Actividad antitrombótica de proteínas de amaranto*. (Tesis de Doctorado). Universidad Nacional de la Plata. Argentina.
- Sánchez, V., y Méndez, N. (2018). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Médica Sur*, 20(3), 161-168.

- Schachtner, H., Calaminus, S. D., Sinclair, A., Monypenny, J., Blundell, M. P., Leon, C., y Gachet, C. (2013). Megakaryocytes assemble podosomes that degrade matrix and protrude through basement membrane. *Blood*, 121(13), 2542-2552.
- Schwartz, A., Martínez, G., y Re, L. (2016). Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador (growth factors derived from platelet and its applications in regenerative Medicine. Potential use of ozone as activator). *Bioradicals and Antioxidants*, 3(2).
- Segura, J. (2016). *Factibilidad y seguridad del plasma rico en factores de crecimiento (prgf) en el tratamiento de la fístula anal criptoglandular* (Tesis Doctoral inédita). Universidad de Sevilla, Sevilla.
- Sierra, C., Zaragozá, V., Martínez, A., Fornes, y Palomar, F. (2015). Reacciones de fotosensibilidad de origen exógeno. *Enfermería Dermatológica*, 9(26), 10-18.
- Swisher, L., Patton, T. (2016). Study guide for anatomy & physiology. Ninth Edition. Elsevier Saunders.
- Torrens, M. (2015). Interpretación clínico del hemograma. *Revista médica clínica condes*, 26(6), 713-725.
- Torres, L., Cosentino, C., Centeno, J., Suarez, R., y Núñez, Y. (2015). Cefalea en trombocitosis esencial: reporte de un caso juvenil. *Revista Neuropsiquiatra*, 78(1), 52-56.
- Tortora, GJ., y Derrickson, B. (2018). *Principios de Anatomía y Fisiología*. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana.
- Tormo, F., y Mifsut, M. (2017). Infiltración de PRP autólogo como tratamiento de las tendinopatías crónicas del tendón de Aquiles. *Revista Española de Cirugía Osteoarticular*. 269(52), 18-27.
- Tusell, O., y Jiménez, J. (2018). Concentrado de plaquetas para el tratamiento de la artrosis de rodilla. *Acta Medica del Centro*, 12(1), 93-103.
- Ulusal, B. Platelet-rich plasma and hyaluronic acid-an efficient biostimulation method for face rejuvenation. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 1-18
- Undas, A. (2017). Determinación de fibrinógeno y tiempo de trombina (TT). En hemostasia y trombosis. *Humana Press*, (pp. 105-110)
- Vargas, T., y Marca, L. (2014). Lifting facial. *Revista de Actualización Clínica e Investigación*, 48, 2529.
- Vélez, C., Aristizábal, A., y Pérez, C. (2017). Estrategias antienvjecimiento. *Dermatología Cosmética Médica y Quirúrgica*, 15(2), 103-113.
- Ventura, A., Terzaghi, C., Borgo, E., Verdoia, C., Gallazzi, M., y Failoni, S. (2005). Use of growth factors in ACL surgery: preliminary study. *Journal of Orthopaedics and Traumatology*, 6 (2), 76-79.
- Vidranski, V., Laskaj, R., Sikiric, D., y Skerk, V. (2015). Platelet satellitism in infectious disease?. *Biochemia Medica*, 25(2), 285-94.
- Vivó, I., Plá, M., Carbonell, C., Ricarte, P., López, J., Russo, G., Ramírez, P., Ruíz, A., y Martínez, F. (2015). Estudio de eficacia del producto factor de crecimiento epidérmico + ácido hialurónico fórmula. *Actualidad Médica*, 100(795), 76-80.

- World Medical Association. (2013). World medical association declaration of helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *jama*, 310(20), 2191.
- Zamora, Y. (2012). Pruebas del coagulograma y componentes de la hemostasia. Utilidad para diagnosticar las diátesis hemorrágicas. *Revista Cubana Hematología, Inmunología y Hemoterapia*, 28(2), 141-150.

www.bdigital.ula.ve

Anexo 1

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BIOPATOLOGÍA
LABORATORIO INTEGRADO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR

“MORFOLOGÍA PLAQUETARIA DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS
(PRP), COMBINADO CON UN CÓCTEL *ANTIAGING*. ESTUDIO *IN VITRO*”

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Código _____
Fecha: _____
Nombre de Paciente: _____ Edad _____
Dirección: _____
Teléfono: _____

www.bdigital.ula.ve

PARAMETROS HEMATOLÓGICOS

Hemoglobina (HGB):		Hematocrito (HCT):	
Cuenta de Glóbulos Blancos :			
HEMOGRAMA			
Linfocitos:	Granulocitos:	Células Medias:	
Cuenta de Plaquetas: Valor de Referencia: $145 \times 10^3/\mu\text{L}$ - $450 \times 10^3/\mu\text{L}$			

Observación microscópica:

CONTAJE PLAQUETARIO					
CÓDIGO	Plaqueta basal (x10³ uL)	PRP (x10³ uL)	80/20 (x10³ uL)	50/50 (x10³ uL)	20/80 (x10³ uL)

MORFOLOGIA PLAQUETARIA				
PLAQUETAS	PRP (x10³ uL)	80/20 (x10³ uL)	50/50 (x10³ uL)	20/80 (x10³ uL)
Redondas				
Estrelladas				
Acúmulos plaquetarios				

ME: Muy Escasas E: Escasas M: Moderadas A: Abundantes

Descripción del frotis:

Anexo 2

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE BIOPATOLOGÍA
LABORATORIO INTEGRADO DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR**

CONSENTIMIENTO INFORMADO

La Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes, el Departamento de Biopatología y el Laboratorio Integrado de Biología Celular y Molecular (LIBCEM), le están invitando a participar en el trabajo especial de grado **“Morfología plaquetaria del plasma rico en plaquetas (prp), combinado con un cóctel *antiaging*. Estudio *in vitro*”**, con el objeto de describir los cambios en la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaquetas al combinarse con un cóctel *antiaging*.

Yo, _____ C.I. _____
Nacionalidad _____ Estado Civil, _____, siendo mayor de 18 años, y en uso de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento, naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio que más abajo indico, declaro mediante la presente:

1.- Haber sido informado de manera objetiva, clara y sencilla, de todos los aspectos relacionados con el trabajo especial de grado, intitulado: **“Morfología plaquetaria del Plasma Rica en Plaquetas (PRP), combinado con un cóctel *antiaging*. Estudio *in vitro*”**.

2.- Tener conocimiento claro de que los objetivos del trabajo antes señalado son:

- Describir los cambios en la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaquetas al combinarse con un cóctel *antiaging*.
- Determinar cualitativamente el pH del cóctel *antiaging*
- Realizar el contaje plaquetario del PRP antes y después de combinarse con un cóctel *antiaging*.

- Describir la morfología plaquetaria del Plasma Rico en Plaqueta (PRP), antes y después de combinarse con un cóctel *antiaging*.

3.- Conocer bien el protocolo experimental expuesto por los investigadores; en el cual establece que la participación en el trabajo consiste en donar una muestra de 5 ml de sangre, la cual se extraerá mediante punción venosa en el brazo.

4.- Que las muestras de 5 ml de sangre que me serán extraídas, acepto sean donadas, así como la información que suministre al grupo de Investigación, será utilizada para dicha investigación.

5.- Que el equipo de investigadores conformado por las tesoreras Br. María Gabriela Ocanto Duarte, C.I N° 21365062 y la Br. Isabel Virginia Salazar Ruiz, C.I: N° 21.637.344, la tutora Prof. Nancy Díaz de Villabona, C.I 7.544.985, y como Cotutora, MSc Anajulia González, C.I 11.377.298, me han garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como de cualquier información relativa a la que tengan acceso por concepto de la participación en el proyecto antes mencionado.

6.- Que bajo ningún concepto podre restringir el uso, para fines académicos, de los resultados obtenidos del presente estudio.

7.- Que la participación en dicho estudio no implica riesgo ni inconveniente alguno para mi salud.

8.- Que cualquier pregunta que yo tenga en relación con este estudio, me será respondida oportunamente por parte del equipo de investigadores: Dra.: Nancy Díaz MSc. Anajulia González, los Brs. María G Ocanto D y Isabel V Salazar R, personalmente o por sus teléfonos que aparecen a continuación: Teléfonos: Br. María G. Ocanto D (0414-7074526), Br Isabel V Salazar R (0426-1002006).

9.- Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendido recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que puedan producirse en el referido proyecto de investigación.

10.- Que los resultados de las pruebas realizadas me serán entregados oportunamente.

DECLARACION DEL VOLUNTARIO:

Luego de haber leído, comprendido y recibido las respuestas a mis preguntas con respecto a este formato de consentimiento:

A.- Acepto las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores de la Facultad de Odontología de la Universidad de Los Andes a realizar el referido estudio en la muestra que sea donada por mí a los fines indicados anteriormente.

B.- Reservarme el derecho de renovar esta autorización y donación en cualquier momento sin que conlleve algún tipo de consecuencia negativa.

Nombres _____ Firma del Investigador

C.I _____

Nombres _____

Firma _____ C.I _____

Lugar _____ Fecha _____

DECLARACION DEL INVESTIGADOR:

Luego de haber explicado detalladamente al Sr (a)._____, la Naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante la presente que, a mi leal saber, el sujeto que firme este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimiento, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médico, idioma o instrucción han impedido al sujeto tener una clara comprensión con este estudio.

Lugar y Fecha: _____