

Tratamiento del envejecimiento cutáneo mediante BIOESTIMULACIÓN: Utilización de factores de CRECIMIENTO AUTÓGENOS (Parte II)

Dr. J. Víctor García Jiménez; Dr. J. Antonio González-Nicolás Albandea (ESPAÑA)

Cortesía de: Internacional Journal of Cosmetic Medicine and Surgery (Volumen 8 - Número 3 – 2006)

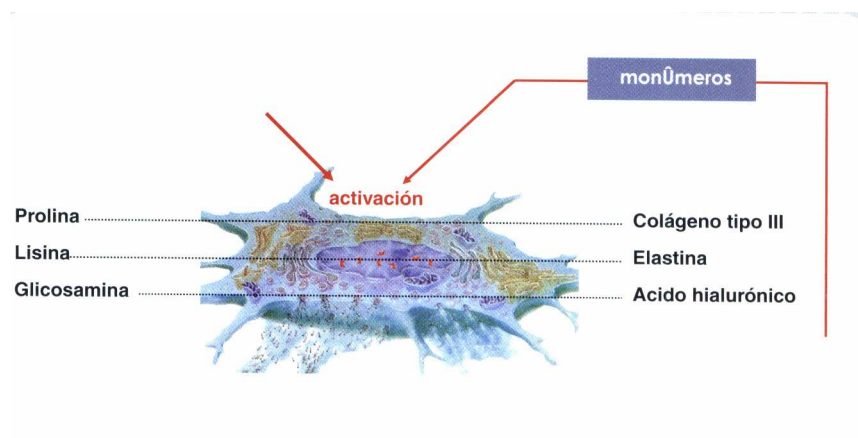
Los objetivos fundamentales de nuestra propuesta terapéutica en relación con el envejecimiento cutáneo y sus estigmas generales serán:

1. Activar al fibroblasto, es decir, bioestimulación
2. Procurar la disponibilidad de precursores biológicos para la formación de la dermis y, sobre todo, de la matriz intercelular
3. Calentar de manera fisiológica los tejidos a tratar
4. y, en cualquier caso, mantener el pH fisiológico tisular y un nivel adecuado de radicales libres

Bioestimulación con factores de crecimiento autógenos

La parte fundamental de nuestra propuesta terapéutica es la activación del fibroblasto mediante factores de crecimiento (*growth factor*, GF) autógenos.

No olvidamos que los monómeros de ácido hialurónico (ejemplo: los que forman parte de Skin B) y el daño controlado (ejemplo: la microdermoabrasión con cristales de corindón, de la que hablaremos más adelante) también producen esa activación.



Factores de crecimiento autógeno

De acuerdo con los trabajos y las observaciones de varios autores, sabemos que los GF son pequeños fragmentos proteicos biológicamente activos del grupo de las citoquinas, y que las citoquinas se unen a los receptores de membrana para activar (o inhibir, si corresponde) las funciones celulares. Esto determina la regeneración o el desarrollo celular específico del tejido donde se ubican. Algunos autores hablan de **"agentes señalizadores"**.

Existen GF propiamente dichos y factores de transformación (*transformational growth factor*, TGF):

- GF propiamente dichos

Estos son los xGF; la x es la indicación de la célula o tejido donde actúan. Por ejemplo: GF derivado de plaquetas (*platelet-derived growth factor*, PDGF), GF epidérmico (*epidermic growth factor*, EGF), GF vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor*, VEGF), GF insulínico (*insulin-like growth factor*, IGF), fibroblástico básico (*fibroblastic growth factor*, FGF) y GF hepato-cítico (*hepatocyte growth factor*, HGF).

- TGF

TGF alfa: Factores positivos que transforman el crecimiento celular, lo aumentan.

TGF beta: factores negativos que transforman el crecimiento celular, lo inhiben.

Son mediadores biológicos que regulan funciones esenciales en la regeneración/reparación tisular: quimiotaxis (capacidad de producir migración celular dirigida: atraer células); mitosis (división celular); angiogénesis; proliferación, diferenciación y modulación celular; síntesis de matriz EG.

La actividad terapéutica de estos factores es evidente; debemos y podemos aprovecharla.

Múltiples células y tejidos, como plaquetas, fibroblastos, osteoblastos, riñón, glándulas salivares, glándulas lagrimales, pueden producir y almacenar estos factores.

Intervienen en la comunicación intercelular, comunican a la célula lo siguiente:

- su ubicación en un momento dado
- las células circundantes
- lo que supuestamente deben realizar en ese momento

Como hemos mencionado, las plaquetas transportan algunos de los principales TGF en los llamados granulos alfa. Por este motivo, es relativamente fácil obtenerlas (sangre → plasma → plasma rico en plaquetas [PRP]). Además, éstas transportan otras proteínas útiles en la regeneración y reparación tisular, algunas procedentes de su célula precursora (megacariocito), y otras plasmáticas, capturadas por endocitosis en el torrente circulatorio.

Nos centramos aquí en estas proteínas. Quisimos evaluar la capacidad biológica de los GF plaquetarios en infiltración intradérmica, para su posterior aplicación terapéutica. Nadie dudaba de su utilidad en la reparación y regeneración cuando existe daño tisular. Pero ¿qué sucedería en ausencia de lesión y, en particular, si se infiltrara en forma intradérmica?

Estudio

Después de que la Comisión Hospitalaria de Investigación del Hospital Gómez Ulla aprobara el estudio y éste cumpliera con el RD 223/1988 del 14 de marzo sobre protección de los animales utilizados para experimentación y otros fines científicos, el doctor J. Antonio González-Nicolás investigó durante un año, en un modelo animal, con protocolos estrictamente definidos y controlados. Realizó las extracciones de sangre correspondientes y se obtuvieron los concentrados de plaquetas que se reinyectaron. También se realizaron los estudios histológicos procedentes.

Los resultados fueron determinantes:

1. La infiltración intradérmica de PRP en ausencia de lesión previa determinó un incremento de la proliferación fibroblástica.
2. La síntesis de colágeno de los tipos III y IV, no cicatricial, y los componentes de la sustancia fundamental aumentaron.
3. Los erectos anteriores pueden indicar una estimulación del proceso fisiológico de regeneración dérmica en ausencia de lesión previa. Es decir, *regeneración* (tejido nuevo, idéntico al original, y funcional) *en lugar de reparación* (desarrollo de una cicatriz únicamente).

Plasma rico en plaquetas y GF

Evaluamos las posibilidades reales de obtener PRP y, con éste, los factores de crecimiento (PRGF) que nos interesan.

Los principales requisitos de un sistema de obtención de PRP son:

1. Posibilidad de ser realizado con pequeños volúmenes de sangre, es decir, con extracciones equivalentes a las necesarias para una analítica compleja (20-30 ml.)
2. Aumento de las concentraciones basales de plaquetas (150.000-350.000 x ml.) al menos 3 ó 4 veces, y que este aumento sea sistemático y reproducible, dado que todos los estudios clínicos considerados intentan que sólo mediante esas concentraciones la actividad (inducción de proliferación celular en cultivos) aumente en forma significativa respecto a las concentraciones basales.
3. Posibilidad de asegurar la viabilidad plaquetaria.
4. Relación constante entre el recuento de plaquetas y los niveles de GF obtenidos con posterioridad.

Aquí, como en otras partes de este artículo, nos referimos al trabajo del Dr. Eduardo Anitua (Vitoria, España), uno de los pioneros en el desarrollo de sistemas para la obtención de PRP y en la utilización terapéutica de GF. Al igual que el doctor Anitua, estimamos que lo más simple, si se hace bien, casi siempre es lo más eficaz. Así hemos desarrollado un protocolo propio de extracción sanguínea cuidadosa y obtención de PRP, que consideramos idóneo y suficiente. Más adelante lo describimos.

Una vez obtenido el PRP, lo fundamental es lograr la liberación completa y eficaz de los GF y del resto de las proteínas plaquetarias. Para esto se necesita reproducir el proceso natural de la coagulación, que determina lo que se denomina desgranulación de las plaquetas y ocurre en forma espontánea, si existe lesión del endotelio vascular.

	Proliferación fibroblastos	Quimiotaxis	Síntesis matriz extracelular	Vascularización
PDGF GF derivado de plaquetas	++	+	+	*
TGF GF transformante	+/-	+	++	*
EGF GF epidérmico	++	+	*	-
IGF GF insulínico	+	++	++	-
VEGF GF vascular endotelial	-	-	-	++

Tabla. Actividad de los factores de crecimiento plaquetarios (tomado de los trabajos del Dr. Anitua)
 ++ aumenta mucho + aumenta - sin efecto ó efecto negativo * efecto indirecto

Obtención del PRP

Ahora consideramos la obtención conveniente del PRP, en las condiciones establecidas. Según nuestro criterio, todo el proceso se debe desarrollar:

1. Mediante un método sencillo
2. Con mínima instrumentación
3. En poco tiempo (es decir, ante el propio paciente)
4. En el propio centro médico
5. Con seguridad y eficacia

Realizamos una pequeña y cuidadosa extracción de sangre (de 20 ml.) con un anticoagulante ideal (citrato sódico) en la proporción de 9 a 1 (9ml. de sangre + 1ml. de citrato sódico). El citrato sódico es un quelante de los iones Ca (por eso impide la coagulación), pero no altera los receptores de membrana de la plaqueta. Esto determina la reversibilidad del proceso (al añadir Ca, en forma de cloruro). Para extraer sangre, recomendamos el sistema Venosafe, porque:

- a) basta 1 sola punción con palomita (Palomita Terumo)
- b) la extracción se produce en tubos colectores de 4,5 ml, que ya tienen citrato sódico en la proporción exacta respecto de la cantidad exacta de sangre a extraer,
- c) se pueden obtener múltiples tubos (basta 4 tubos, pero, por precaución, se recomienda obtener 6),
- d) la aguja no se mueve, de lo contrario, se podría salir de la vena y/o el paciente sentiría molestias,
- e) se puede "asistir" la extracción (con cuatro manos, incluidas las del médico y las de su auxiliar).

En general, 4 tubos de 5 ml. son suficientes para realizar el procedimiento de bioestimulación cutánea en cara. Si se requiere más material terapéutico, se pueden obtener 6, 8, 10 o más tubos (siempre una cifra par para equilibrar la centrifugación).

Después se realiza una centrifugación protocolizada, uno de los elementos fundamentales de todo el procedimiento, y se logra separar las diferentes fracciones de la sangre (en forma exacta, si el procedimiento se ha realizado en forma adecuada).

Los hematíes se concentran en el fondo del tubo; las plaquetas están por encima, en abundante plasma; y los leucocitos, en la zona intermedia. Insistimos en que, si el procedimiento se ha realizado en forma adecuada, la mayor concentración de plaquetas estará en la zona próxima a los hematíes. En nuestro estudio utilizamos este auténtico PRP.

Las variables de la centrifugación son, por un lado, la velocidad y el tiempo que establece el médico y, por otro, el factor G, propio de cada centrífuga. Este factor G (que sólo puede brindar el fabricante) es fundamental para homologar un sistema de trabajo ideal.

Sólo trabajamos con las centrífugas Centro-4 y Omnigrafter-I de PROTEAL; y *nuestros protocolos sólo están validados para ellas*. Durante 8 minutos centrifugamos una sola vez a 1500 revoluciones por minuto (rpm) y a temperatura ambiente (alrededor de 21-22° C).

Aunque por el momento optamos por el procedimiento recién descrito, que es el más simple, en el mercado se comercializan equipos y materiales más o menos sofisticados, pero en cualquier caso específicamente diseñados y algunos incluso homologados (*Food and Drug Administration y/o Comunidad Europea CE*) para obtener PRP y su utilización clínico/quirúrgica. Conocemos los siguientes:

- SmartPreP 2 de HARVEST
- GPS System de BIOMET
- PRGF SYSTEM de BTI
- PCCS II de IMPLANT INNOVATIONS INC.
- PRP de CURASAN
- SECQUIRE de PPAI MEDICAL
- VIVOSTAT de VIVOLUTION
- OMNIGRAFTER-I con DISPRAS y MESOPRAS de PROTEAL

Tras completar el proceso de centrifugación, se separan las fracciones de sangre y se logra la máxima concentración de plaquetas en la fracción plasmática inferior, la más cercana a la serie roja, al menos 3 ó 4 veces la concentración plasmática (en condiciones experimentales y con procesos más complejos, hasta 10 ó 12 veces). A esta fracción, que representa una tercera parte del total, se la considerará PRP.

Es importante siempre tener en cuenta que, incluso dentro de la fracción PRP, la concentración plaquetaria siempre desciende de forma espectacular a medida que nos alejamos de la serie roja. Las otras dos fracciones se consideran plasma con plaquetas (PP) y plasma pobre en plaquetas (PPP).

Siempre se debe despreciar el tubo que presente plasma no claro (tinción rojiza). Esto probablemente se deba a un defecto de manipulación o una hemólisis no deseada.

Dirigir correspondencia a:

Dr. J. Víctor García Jiménez
E-mail: europa@inkcat.es