

DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

INSTITUTO DE NEUROCIENCIAS FEDERICO OLÓRIZ



TESIS DOCTORAL

**VALORACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL USO DEL PLASMA RICO EN
PLAQUETAS/PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO EN EL
TRATAMIENTO DE LAS ÚLCERAS POR PRESIÓN**

Javier Ramos Torrecillas

Universidad de Granada, 2013

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Javier Ramos Torrecillas
D.L.: GR 389-2014
ISBN: 978-84-9028-786-6

La memoria de Tesis Doctoral que lleva por título: VALORACIÓN Y ESTANDARIZACIÓN DEL USO DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS/PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO EN EL TRATAMIENTO DE LAS ÚLCERAS POR PRESIÓN, ha sido presentada por el Licenciado JAVIER RAMOS TORRECILLAS para aspirar a grado de Doctor, bajo la dirección de Dña. CONCEPCIÓN RUIZ RODRÍGUEZ, Dña. OLGA GARCÍA MARTÍNEZ y Dña. ELVIRA DE LUNA BERTOS.

Fdo. Javier Ramos Torrecillas

El doctorando **JAVIER RAMOS TORRECILLAS** y los directores de la Tesis **CONCEPCIÓN RUIZ RODRÍGUEZ, OLGA GARCÍA MARTÍNEZ y ELVIRA DE LUNA BERTOS** garantizamos, al firmar esta Tesis Doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la Tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, 19 de Junio de 2013

Director/es de la Tesis

Doctorando

Fdo.: CONCEPCIÓN RUIZ RODRÍGUEZ

Fdo.: JAVIER RAMOS TORRECILLAS

Fdo.: OLGA GARCÍA MARTÍNEZ

Fdo.: ELVIRA DE LUNA BERTOS

Parte de los resultados recogidos en la presente Tesis Doctoral han dado lugar a las siguientes aportaciones científicas:

Artículos:

Ramos-Torrecillas, J., De Luna-Bertos, E., García-Martínez, O., Díaz-Rodríguez, L., & Ruiz, C. (2013). Use of Platelet-Rich Plasma to Treat Pressure Ulcers: A Case Study. *Journal of Wound, Ostomy, and Continence Nursing* 40(2): 198–202.

Ramos-Torrecillas, J., De Luna-Bertos, E., Díaz-Rodríguez, L., García-Martínez, O., Rodríguez-Pérez, L., & Ruiz, C. (2013). Hyaluronic Acid as Treatment Option for Pressure Ulcers. *Wounds* (In Press).

Comunicaciones Nacionales e Internacionales:

Título de la aportación: Caso clínico: aplicación del plasma rico en plaquetas en el cuidado de una úlcera por presión.

Nombre del congreso: IX Jornadas andaluzas salud investiga.

Tipo de evento: Comunicación en congreso.

Ámbito: Nacional. **Año:** 2010. **Lugar:** Cádiz.

Autores: Ramos-Torrecillas, Javier; De Luna-Bertos, M^a Elvira; Díaz-Rodríguez, C. Lourdes; García-Martínez, Olga; Ruiz, Concepción.

Título de la aportación: Cuidados alternativos de las úlceras por presión.

Nombre del congreso: II Jornadas multidisciplinares andaluzas de úlceras por presión y heridas crónicas.

Tipo de evento: Comunicación en Congreso.

Ámbito: Nacional. **Año:** 2009. **Lugar:** Sevilla.

Autores: Ramos-Torrecillas, Javier; De Luna-Bertos, M^a Elvira; Díaz-Rodríguez, C. Lourdes; García-Martínez, Olga; Rodríguez-Pérez, Laura; Ruiz, Concepción.

Título de la aportación: Alternativas en los cuidados de las úlceras por presión.

Nombre del congreso: II Jornadas Internacionales y IV Nacionales de Ciencias de la Salud. IV Encuentros Hispano-Cubanos en Ciencias de la Salud.

Tipo de evento: Comunicación en congreso.

Ámbito: Internacional. **Año:** 2010. **Lugar:** Facultad de medicina de la universidad de Granada.

Autores: Ramos-Torrecillas, Javier; De Luna-Bertos, M^a Elvira; Díaz-Rodríguez, C. Lourdes; García-Martínez, Olga; Rodríguez-Pérez, Laura; Ruiz, Concepción.

Título de la aportación: Utilización del concentrado proteico autólogo como tratamiento de una úlcera por presión.

Nombre del congreso: VI Reunión Internacional FORANDALUS de investigación en Enfermería y I Reunión del grupo de investigación Aurora Mas: El cuidado: Una cuestión de identidad.

Tipo de evento: Comunicación en congreso.

Ámbito: Internacional. **Año:** 2012. **Lugar:** Zaragoza.

Autores: Ramos-Torrecillas, Javier; De Luna-Bertos, M^a Elvira; García-Martínez, Olga; Díaz-Rodríguez, C. Lourdes; Ruiz, Concepción.

Título de la aportación: Comparative study effect of PRP and FBS on proliferation and differentiation of human fibroblasts in vitro.

Nombre del congreso: I International Symposium on cell and Gene-Based therapies.

Tipo de evento: Comunicación en congreso.

Ámbito: Internacional. **Año:** 2012. **Lugar:** Granada.

Autores: Ramos-Torrecillas, Javier; De Luna-Bertos, M^a Elvira; Manzano-Moreno, F.Javier; Díaz-Rodríguez, Lourdes; García-Martínez, Olga; Ruiz, Concepción.

Título de la aportación: Nuevos enfoques en cicatrización de heridas.

Nombre del congreso: V encuentro Hispano-Cubano en ciencias de la salud.

Tipo de evento: Comunicación a Jornadas.

Ámbito: Internacional. **Año:** 2013. **Lugar:** Cienfuegos, Cuba.

Autores: Ramos-Torrecillas, Javier; De Luna-Bertos, Elvira; Manzano-Moreno, F. Javier; Montes-González, M. José; García-Martínez, Olga; Ruiz, Concepción.

AGRADECIMIENTOS

Durante el transcurso de este trabajo, son muchos los apoyos que he recibido, gracias a los cuales no hubiese sido posible llevar a cabo el desarrollo de esta Tesis Doctoral; por lo que me gustaría dedicar unas líneas a esas personas.

Quiero comenzar agradeciendo a la doctora Concepción Ruiz Rodríguez, por todos los conocimientos que me ha ido transmitiendo a lo largo de este tiempo, por sus sabios consejos y sobre todo, por ser un ejemplo de esfuerzo y dedicación a los demás, gracias. A la doctora Olga García Martínez, por tener la calma y la paciencia en los momentos difíciles, por estar siempre cuando he necesitado su ayuda, sin tu apoyo y compromiso este trabajo no habría sido posible. A la doctora Elvira De Luna Bertos, por enseñarme la ardua labor de laboratorio, por todas las horas de trabajo que hemos compartido y hemos reído, sin tu experiencia habría sido más difícil. A la doctora Lourdes Díaz Rodríguez, por todo lo que me ha orientado y ayudado en el periodo de trabajo. A mi compañero Francisco Javier Manzano Moreno, por sus ganas de emprender y por colaborar cuando lo he necesitado.

Al profesor Francisco Manuel Ocaña Peinado, por su eficaz colaboración y por todas sus aportaciones.

A Manuel Peñas Maldonado, porque un día apostó por mí y me ofreció todo lo que estuvo en su mano, gracias Manuel.

También me gustaría agradecer la labor de Antonio Saavedra Velasco, por el soporte técnico en el laboratorio, por todos los buenos momentos que hemos compartido juntos, y que compartiremos.

No quiero olvidarme de todo el personal de enfermería de los centros que han colaborado para que esta Tesis sea una realidad; de todos los pacientes que se han ofrecido, y a sus familiares, por depositar su confianza en mí. Ellos son la pieza clave en esta investigación.

A mis padres Manuel y Ana, por habérmelo dado todo, por confiar en mí y ser el camino a seguir.

A mis hermanos David, Manuel y Lidia, y a sus parejas, por todos los ánimos que me ofrecéis.

A mi pareja Patricia, por enseñarme y compartir un mundo nuevo, por el esfuerzo de soportar todo el peso de este trabajo y por estar siempre que te necesito. Sin duda sin ti no estaría donde estoy. Gracias por ser mi fuente de inspiración.

I. ABSTRACT	1
II. INTRODUCCIÓN	9
1. ÚLCERAS POR PRESIÓN	11
1.1. Estructura de la piel	13
1.2. Etiopatogenia de las UPP	16
1.3. Clasificación de las UPP	18
1.4. Localizaciones más frecuentes de las UPP	20
1.5. Complicaciones	21
1.6. Prevención de las UPP	22
1.6.1. Valoración del riesgo de UPP	23
1.6.2. Cuidados de la piel	23
1.6.3. Manejo de la presión	25
1.6.4. Manejo de la nutrición	28
1.7. Tratamiento de las UPP	29
1.7.1. Valoración para el tratamiento	30
1.7.2. Cuidados generales al paciente	33
1.7.3. Cuidados específicos de la UPP	37
1.7.3.1. Desbridamiento	38
1.7.3.2. Limpieza de la lesión	41
1.7.3.3. Prevención y abordaje de la carga bacteriana	41
1.7.3.4. Elección del apósito adecuado	43
1.8. Seguimiento de la UPP	46
2. FACTORES DE CRECIMIENTO Y CITOQUINAS	47
2.1. Factores de crecimiento	48
2.2. Factores de crecimiento que intervienen en la cicatrización de heridas	50
PDGF (Platelet-Derived Growth Factor)	50
TGF- β (Transforming Growth Factor- β)	51
BMPs (Bone Morphogenetic Proteins)	52
FGF (Fibroblast Growth Factor)	53
EGF (Epidermal growth Factor)	54
VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)	54
ANGIOPOYETINA	55
IGF (Insulin-like Growth Factor)	55
SF (Scatter Factor)	56
NGF (Nerve Growth Factor)	57
CTGF (Connective Tissue Growth Factor)	58
2.3. Citoquinas	58
2.3.1. Citoquinas que intervienen en la cicatrización de heridas	59

3. PROCESO DE REPARACIÓN TISULAR	63
3.1. Fase de hemostasia e inflamación	64
3.2. Fase proliferativa	66
3.3. Fase de re-epitelización y remodelación	67
4. PLASMA RICO EN PLAQUETAS	69
4.1. Definición	70
4.2. Plaquetas	71
4.3. Plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma rico en factores de crecimiento (PRGF)	72
4.4. Utilidad clínica del PRP	73
4.4.1. Odontología y cirugía maxilofacial	74
4.4.2. Cirugía Plástica	74
4.4.3. Traumatología y Ortopedia	75
4.4.4. Cirugía Ocular	77
4.4.5. Gastroenterología	77
4.4.6. Úlceras Cutáneas	77
5. ÁCIDO HIALURÓNICO	78
5.1. Papel del AH en el proceso de cicatrización	80
5.2. Aplicaciones clínicas del AH	82
III. OBJETIVOS	85
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	89
1. ENSAYO CLÍNICO PARA DETERMINAR LA EFICACIA DEL PRGF EN EL CUIDADO DE LAS UPP	91
1.1. Población de estudio	91
1.2. Descripción de las variables	92
1.3. Recogida de variables	94
1.4. Proceso de obtención del PRP para el tratamiento de las UPP	95
1.5. Tratamiento de las UPP	97
1.6. Seguimiento de las UPP	98
2. ESTUDIO <i>IN VITRO</i> DEL EFECTO DEL PRP SOBRE LOS CULTIVOS PRIMARIOS DE FIBROBLASTOS HUMANOS	99
2.1. Obtención del tejido gingival	99
2.2. Proceso de obtención del PRP como suplemento del medio para los cultivos primarios de fibroblastos humanos	100
2.3. Aislamiento y cultivo primario de fibroblastos humanos	101
2.4. Evaluación del efecto del PRP sobre la capacidad proliferativa de los fibroblastos humanos en cultivo	103
2.5. Estudio del perfil antigénico de los fibroblastos humanos en cultivo	104

2.5.1. Perfil antigénico mediante microscopía confocal	105
2.5.2. Perfil antigénico mediante citometría de flujo	106
2.6. Estudio de la morfología de los fibroblastos humanos en cultivo	107
2.6.1. Microscopía electrónica de scanning	108
2.6.2. Microscopía electrónica de transmisión	108
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	109
3.1. Ensayo Clínico	109
3.2. Ensayos <i>in vitro</i>	110
V. RESULTADOS	111
1. ENSAYO CLÍNICO	113
1.1. Descripción de la población de estudio	113
1.2. Descripción de las variables relacionadas con las UPP	115
1.3. Efecto de los distintos tratamientos en el proceso de cicatrización de las UPP	118
1.4. Efecto de distintas variables clínicas del paciente en el porcentaje de cicatrización de las UPP	125
2. ESTUDIO <i>IN VITRO</i>	127
2.1. Aislamiento, cultivo y establecimiento de las líneas celulares	127
2.2. Efecto del PRP sobre la proliferación celular	127
2.3. Efecto del PRP sobre el perfil antigénico de los fibroblastos humanos en cultivo	128
2.4. Perfil antigénico mediante citometría de flujo	129
2.5. Perfil antigénico mediante microscopía confocal	129
2.6. Estudio de la morfología celular en cultivos primarios de fibroblastos humanos	131
2.6.1. Estudio mediante microscopía de scanning	131
2.6.2. Estudio mediante microscopía electrónica de transmisión	133
VI. DISCUSIÓN	135
VII. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS	153
VIII. BIBLIOGRAFÍA	159
IX. ANEXOS	185

I. ABSTRACT

Pressure ulcers (PUs) are defined as skin lesions of ischaemic aetiology that affect the integrity of the skin and underlying tissues, with substance loss, and that are produced by prolonged pressure or friction between an internal and external hard surface. These lesions have a major impact on the health and quality of life of affected patients and their families, with important economic repercussions for health systems, due the chronic evolution of this wound.

Wound healing involves the triggering of a series of mechanisms responsible for the different phases of tissue regeneration and repair, including the haemostasis and inflammation phase, proliferative phase, and tissue re-epithelisation and remodelling phase. This is regulated by a group of growth factors (GFs), cytokines and hormonal factors, among other biomolecules.

Platelets play an important role in the wound regeneration process by releasing a large number of mitogenic and inflammatory substances; hence, they represent a natural source of GFs. They contain three major storage compartments: alpha granules, dense granules and lysosomes. These secretory granules contain GFs, proteins for coagulation, cell adhesion molecules, activation molecules, cytokines, integrins and inflammatory molecules, among others, with most of these molecules being localized in alpha granules. When a wound is produced, platelets initiate the haemostatic process by creating a complex network to plug vessels. At this point, platelets change their structure from a soft circular to a spherical shape and develop pseudopodia. These promote their aggregation and adherence by redistributing receptors for their subsequent activation and degranulation, which ruptures their molecule-loaded granules and releases GFs into the medium to regulate the repair of damaged tissues.

In order to obtain platelet-rich plasma (PRP), peripheral blood was centrifuged, obtaining a fraction of plasma with a high concentration of platelets (5-fold higher than baseline) and hence of biomolecules with regenerative potential. The PRP was then degranulated by activation with calcium chloride, thereby obtaining plasma rich in growth factors (PRGF). PRP/PRGF is used for tissue regeneration in different clinical settings and offers several advantages, given that it is not toxic or immunoreactive and can be inexpensively and readily obtained from the blood of the patients themselves.

Hyaluronic acid (HA) is a biopolymer with a highly preserved molecular structure in mammal species. It is a natural polymer of disaccharides, which consist of alternating D-glucuronic acid and D-N-acetylglucosamine. HA is one of the components of the extracellular matrix and is present in skin, cartilage, bone and brain, among other tissues. It has proven valuable in different clinical areas such as dermatology or neurosurgery because HA and its degradation products can enhance wound healing.

The present thesis has two objectives: to establish the effects of PRGF and of PRGF associated with HA on PU healing and their relationship with the clinical characteristics of the patients in a clinical trial; and to determine the action mechanism of PRP in an *in vitro* study of its effects on the proliferative capacity, cell morphology and antigen profile of human fibroblasts in culture.

The study population for the clinical trial comprised 100 patients, who were randomly assigned to a control group or one of three treatment groups (A, B or C). The PU patients in group A were treated with one dose of PRGF, those in group B with two doses of PRGF, and those in group C with two doses of PRGF plus HA. When a patient had more than one PU, they were always treated according to the group assignation of the patient. The

doses of PRGF and HA varied according to the surface area of the wound, applying dose rates of 0.5 ml PRGF and 0.5 ml HA per 15 cm². Ulcers in all groups were covered with the same type of polyurethane dressing. The PU was examined every 3 days for 5 weeks to determine the following parameters: a) PU surface area in cm², b) type of tissue, and c) presence of exudate. At each follow-up session was cleaned with physiological saline and sterile gauze, was applied liquid hydrogel to maintain humidity, and was covered with the above-mentioned polyurethane foam dressing.

Data were gathered on the socio-demographic characteristics of the patients and on their type of diet, pharmacological treatment, Barthel Index-assessed degree of dependence, biochemical and haematological data (albumin, total proteins and platelets), localisation of the PU(s), grade of the PU(s) on the European Pressure Ulcer Advisory Panel (EPUAP) scale, perilesional skin status, experience of pain, amount of exudate, type of wound bed tissue and surface area of the PU(s) in cm².

In relation to the effect of the different treatments on the wound-healing of the ulcers, our data demonstrate a mean reduction of 48.38% in the lesion surface area in those receiving a single PRGF dose (group A), a reduction of 54.86% in those receiving two PRGF doses (group B), a reduction of 80.48% in those treated with two PRGF doses plus HA (group C), and a reduction of 10.38% in the control group.

Complete wound-healing was not observed in any of the PUs in the control group but was recorded in 8.82% of PUs in treatment group A, 32% of those in group B and 37.5% of those in group C. The statistical analysis revealed significant differences *versus* the control group in the groups receiving two PRGF doses ($P = 0.002$) and two PRGF doses plus HA ($P = 0.004$).

With regard to the relationship between the wound-healing and the other clinical parameters of the patient, the regeneration process was found to be inversely related to the consumption of statins and to the platelet count in the patient's blood.

Global evaluation of the clinical trial data indicates that the utilisation of PRGF or PRGF plus HA in the treatment and care of PUs is a useful approach that favours their healing. Furthermore, it is a simple technique that is easy to apply and has a low economic cost. However, it should be taken into account that certain clinical factors can modify the PU healing process.

The *in vitro* experiments used gingival fibroblasts isolated from biopsy samples taken from healthy patients. These were cultured in Dulbecco's Modified Eagle's Medium supplemented with 10% bovine foetal serum (BFS) or 10% autologous PRP as the sole GF source.

The time required to obtain a cell line widely varied as a function of the GF source used, even when the cells were isolated from the same gingival tissue sample. Cells cultured with 10% PRP needed 17-20 days to reach confluence, whereas cells from the same tissue sample that were cultured with 10% BFS needed 20-25 days.

Study of the proliferative capacity of the cells in short-term cultures (2 passages for subculture) and long-term cultures (10 passages for their subculture) demonstrated that the growth rate of cells was higher after short-term culture in the presence of 10% PRP than in the presence of 10% BFS ($P < 0.001$). In contrast, the proliferative capacity of cells was slightly lower after long-term culture in the presence of 10% PRP than in the presence of 10% BFS under the same conditions, although this difference was not statistically significant.

Flow cytometry study of the antigen profile of the human fibroblasts cultured with 10% PRP or 10% BFS as sole GF source demonstrated that virtually all cells expressed vimentin and fibronectin and around 5% expressed α -actin after short-term culture. After long-term culture, the cells cultured with 10% PRP also showed positive expression of fibronectin and vimentin but a much higher percentage (65%) expressed α -actin, whereas no differences in expression were detected between the short- and long-term culture of cells cultured with 10% BFS. These results were verified by confocal microscopy observations.

Scanning microscopy studies of the morphology of cells cultured with 10% PRP or 10% BFS detected no differences after short-term culture. After long-term culture, however, cells cultured with 10% PRP comprised two distinct populations, one spindle-shaped and the other more voluminous and non-fibroblastic, whereas the cells cultured with BFS as the only GF source formed a single population with typical fibroblastic morphology.

Ultrastructural study of the cells under the different culture conditions also revealed the presence of two cell types after long-term culture with 10% PRP: one population with large cell size, highly pronounced cytoskeleton, less endoplasmic reticulum, long thin mitochondria, fewer ribosomes, and the absence of polysomes; and another population of smaller, spindle-shaped cells with the presence of fibres, numerous endocytic vesicles, an abundant and dilated rough endoplasmic reticulum, numerous polysomes and a cell surface showing numerous prolongations. In contrast, only one cell type was observed in the cells after long-term culture with 10% BFS.

These morphological and antigen profile results indicate that the long-term culture of these cells in the presence of PRP produces two populations, one with the typical characteristics of fibroblasts and the other with the typical characteristics of myofibroblasts

Taken together, our findings suggest that the mechanism by which PRP favours PU regeneration, without ruling out other possible actions, involves activation of the proliferation of fibroblasts and their subsequent differentiation into myofibroblasts.

II. INTRODUCCIÓN

1. ÚLCERAS POR PRESIÓN

Las úlceras por presión (UPP), son lesiones de la piel cuyo origen isquémico afecta a la integridad cutánea y tejidos subyacentes, existiendo en ocasiones pérdida de sustancia, que es producida por la presión prolongada o fricción entre dos planos duros, uno perteneciente al paciente y otro externo a él (Defloor, Schoonhoven, Katrien, Weststrate, & Myny, 2006).

Estas lesiones, en la mayoría de los casos, tienen una evolución tórpida de más de 6 semanas, por lo que se las considera úlceras crónicas (Skórkowska-Telichowska, Czemplik, Kulma, & Szopa, 2011). Lo que supone, además de una disminución de la calidad de vida del paciente, un aumento del coste total del tratamiento de las UPP.

Un estudio realizado en Reino Unido en el año 2011 (Dealey, Posnett, & Walker, 2012), pone de manifiesto que el coste de una UPP de grado I (lesión de carácter inflamatorio sin pérdida de la piel) supone un gasto alrededor de 1214£ y 14108£ para las UPP de grado IV. Estos costes aumentan cuando la úlcera se agrava, por ejemplo se infecta, y el proceso de curación se prolonga más en el tiempo.

En España, desde no hace muchos años, se están recogiendo datos epidemiológicos que ponen al descubierto la dimensión del problema de las UPP. Los estudios más importantes realizados, en este sentido, en España han sido:

- El estudio epidemiológico, realizado en 1999, en la comunidad de La Rioja (Soldevilla Agreda & Torra i Bou, 1999), en el que se muestra que la prevalencia de UPP en pacientes mayores de 65 años, atendidos en atención primaria fue del 0,26%, de un

12,26% en pacientes atendidos en hospitales de agudos y de un 12,84% entre los pacientes atendidos en instituciones sociosanitarias.

- En el Primer Estudio Nacional de Prevalencia de UPP (Rueda López, Torra i Bou, Martínez Cuervo, Verdú Soriano, & Soldevilla Agreda, 2003), publicado en el año 2003, se indica una prevalencia de UPP del 8,34% de los pacientes que recibían atención domiciliaria; del 8,81% entre los pacientes ingresados en hospitales y del 7,6% de los pacientes atendidos en centros sociosanitarios.
- En el Segundo Estudio Nacional de prevalencia (Soldevilla Agreda, Torra i Bou, Verdú Soriano, et al., 2007), se recogen los datos referidos al periodo 2005-2006, donde la prevalencia de UPP en atención primaria fue del 9,11% de la población incluida en programa de atención domiciliaria; de un 8,91% en hospitales y de un 10,9% en centros sociosanitarios.
- El Tercer Estudio Nacional de prevalencia de UPP (Soldevilla Agreda, Torra i Bou, Verdú Soriano, & López Casanova, 2011) realizado en 2009, muestra que la prevalencia en centros de atención primaria de salud fue del 5,89% de la población incluida en programa de atención domiciliaria, en unidades hospitalarias fue del 10,05% y de 7,35% en centros sociosanitarios.

Se observa por tanto, un incremento significativo de la prevalencia de este tipo de lesiones en la población española a lo largo de los últimos años.

Se estima que el coste anual del tratamiento de las UPP en España es de aproximadamente 461 millones de euros, de los cuales el 15% lo representan los costes de apósitos y otros materiales de cura, el 19% lo representan las horas de trabajo de

enfermería y el 45% del total corresponde al coste de las estancias extras en el hospital (Soldevilla Agreda, Torra i Bou, Posnett, et al., 2007). Aunque se trata de un problema de salud que tiene actualmente un gran impacto económico, no existen suficientes estudios que puedan acercarnos a la dimensión global del impacto de estas lesiones.

1.1. Estructura de la piel.

La piel es un órgano que reviste y protege la superficie externa del organismo. Histológicamente, está compuesta por tres capas principales que son, de fuera adentro: la epidermis, dermis e hipodermis, a las que se le asocian los anexos cutáneos (Arenas & Ávalos-Díaz, 2004).

La **epidermis** es un epitelio plano, estratificado, queratinizado, formado por cuatro tipos celulares (queratinocitos, melanocitos, células de Merkel y células de Langerhans) y presenta cinco estratos:

- *Estrato Basal*, capa de células cilíndricas que reposan sobre la lámina basal y la dermis subyacente. Constituye el estrato germinativo donde se inicia la proliferación de los queratinocitos, los cuales van ascendiendo a niveles superiores de la piel a medida que producen queratina. Cada 5-10 hileras de queratinocitos se intercalan los melanocitos (células que en su interior almacenan melanina), las células de Merkel (células que forman parte del sistema celular endocrino difuso, funcionan como mecano-receptoras y tienen relación con las terminaciones nerviosas sensitivas) y células de Langerhans (células presentadoras de antígenos que provienen de la médula ósea y pertenecen al sistema de macrófagos-

mononucleares). Esta capa es la responsable de la renovación de la epidermis, hecho que se produce aproximadamente cada 60 días.

- *Estrato espinoso*, formado por varias capas de células poliédricas en vías de queratinización y unidas unas a otras por puentes intercelulares denominados desmosomas.
- *Estrato granuloso*, formado por células aplanadas que contienen gránulos de queratohialina.
- *Estrato lúcido*, formado por eleidina (lipoproteínas con actividad hidrófoba), sólo está presente en palmas de las manos y plantas de los pies.
- *Estrato córneo*, compuesto por células queratinizadas, planas, sin núcleo.

La **dermis**, que se encuentra bajo la epidermis, se clasifica en tres capas: la capa superficial o papilar, la capa media o reticular y la capa profunda. Está compuesta de tejido conectivo cuyas fibras proteínicas son el colágeno (tipo I fundamentalmente), proteínas reticulares y elásticas. La red vascular está basada en un plexo superficial y otro profundo unidos ambos por una red paralela y vasos linfáticos. Además, estas estructuras, coexisten con plexos nerviosos y anexos cutáneos. Las células que se encuentran dispuestas en la dermis son, los fibroblastos, los histiocitos, los mastocitos y plasmocitos fundamentalmente.

La **hipodermis** o **tejido celular subcutáneo**, es la capa situada por debajo de la dermis, y está formada fundamentalmente por lóbulos de adipocitos unidos entre sí por tejido conectivo, que aportan reservas energéticas y propiedades térmicas.

Los **anexos cutáneos** se originan a partir de pequeñas yemas de células epidérmicas de la capa basal que se introducen en la dermis (Ferrandiz, 2010). Se pueden clasificar en:

- *Unidad folicular pilo-sebáceo-apocrina*. Se compone básicamente de pelo, acompañado por una o más glándulas sebáceas, músculo erector o arrector del pelo y, en ocasiones, glándulas apocrinas.
- *Las glándulas sudoríparas ecrinas* se localizan de forma difusa por toda la piel y se distribuyen predominantemente en las plantas, las palmas, las axilas y la frente. La parte secretora se encuentra en la dermis y desemboca por un conducto ascendente en la epidermis, vertiendo el contenido al exterior. Son importantes en la regulación de la temperatura corporal y equilibrio hidroelectrolítico.
- *Las uñas* se forman por invaginación de la epidermis en la región dorsal de las últimas falanges de los pies y de las manos dando lugar a una estructura firme queratinizada.

La piel recibe su vascularización gracias a los vasos sanguíneos localizados en la grasa subcutánea de los que surgen dos extensos plexos vasculares. El plexo vascular profundo se aloja en la parte inferior de la dermis reticular (las arterias situadas en el tejido adiposo de la hipodermis dan origen a este plexo) y el plexo vascular superficial (que son vasos de menor calibre) se aloja justo debajo de la dermis papilar. Ambos plexos están comunicados entre sí por vasos dispuestos perpendicularmente. Toda esta red vascular incluye a los componentes arterial, venoso y linfático. Este entramado vascular tiene dos funciones, una de intercambio de gases, electrólitos, agua y otras moléculas y otra de termorregulación (García & Lozano, 2003).

1.2. Etiopatogenia de las UPP.

El mecanismo etiopatogénico por el que se desarrollan las UPP está asociado, entre otros factores, a tres tipos de fuerzas que son: presión, fricción y cizallamiento o bien una combinación de éstas (Dini, Bertone, & Romanelli, 2006).

La presión es una fuerza que actúa perpendicular a la piel como consecuencia de la gravedad, que provoca un aplastamiento tisular entre dos planos, uno perteneciente al paciente (como puede ser el plano esquelético, las prominencias óseas) y otro externo a él (como puede ser un sillón, una cama, sondas, etc.) (Defloor, 1999).

La presión capilar en los tejidos oscila entre 12 y 32 mmHg. Una presión superior a 32 mmHg, durante un periodo continuado, aplicada sobre los capilares, produce una oclusión del flujo sanguíneo en los tejidos blandos provocando hipoxia, daño endotelial a nivel de las arteriolas y de la microcirculación, y en ocasiones, necrosis vascular (Salcido, Lee, & Ahn, 2011).

La formación de una UPP depende tanto de la presión que se ejerce sobre una zona de la piel como del tiempo durante el que se ejerce esa presión. De forma que una presión de 70 mmHg durante 2 horas induce a una necrosis del tejido (Dini et al., 2006). La presión y el tiempo son inversamente proporcionales, de tal forma que presiones inferiores a la presión sistólica, requieren un tiempo de más de 12 horas para producir una lesión similar a aquella que podría producirse por la presión de 4 a 6 veces la presión sistólica durante una hora (Bouten, Oomens, Baaijens, & Bader, 2003).

La fricción es una fuerza tangencial que actúa paralelamente a la piel, produciendo roces, por movimientos o arrastres, y que provoca la pérdida del estrato córneo. En el

paciente, encamado o sentado, el roce con las sábanas o superficies rugosas produce fuerzas de fricción, sobre todo en las movilizaciones, al arrastrar al paciente, provocando que la piel pierda capas de barrera y tenga más riesgo de infección (Agrawal & Chauhan, 2012).

El cizallamiento se genera cuando se combinan los efectos de presión y fricción. Las fuerzas de cizallamiento son fuerzas paralelas que se producen cuando dos superficies adyacentes se deslizan una sobre otra, esto puede ocurrir cuando, por ejemplo, se está sentado en una cama en posición de Fowler, esto es, en posición semisentado con el cabecero de la cama elevado unos 45 grados y con las piernas ligeramente flexionadas. En esta situación, los tejidos externos permanecen fijos contra las sábanas de la cama mientras que los tejidos profundos (fascias profundas, esqueleto) se deslizan hacia los pies de la cama. Debido a este efecto, la presión que se necesita para disminuir la aportación sanguínea es menor, por lo que la isquemia del músculo se produce más rápidamente (Salcido et al., 2011).

Además de estas fuerzas, existen otros factores de riesgo que pueden contribuir a la aparición de úlceras y que se pueden agrupar en factores extrínsecos e intrínsecos.

Los factores intrínsecos derivan de los diferentes problemas de salud o alteraciones físicas del paciente y entre ellos se incluyen (Hamm, 2007):

- Deficiencias motoras (inmovilidad, paresia, parálisis).
- Deterioros sensitivos (pérdida de la sensación del dolor).
- Edad avanzada.
- Alteraciones nutricionales, tanto por defecto como por exceso.

- Incontinencia (fecal y urinaria).
- Deterioro cognitivo o alteración del estado de conciencia (coma, estupor, confusión).
- Adhesión a tratamientos que aumentan la vulnerabilidad de los tejidos a la formación de UPP (fármacos inmunosupresores, sondajes, drenajes).

Los factores de riesgo extrínsecos incluyen aquellos factores físicos, externos al paciente que pueden ejercer una presión dañina en la piel y el tejido subyacente, como pueden ser los equipos ortoprotésicos, la ropa del paciente, los cuerpos extraños, los aparatos médicos o el pañal.

En la combinación de estos factores se basaron, Bergstrom y Braden (Bergstrom, Braden, Laguzza, & Holman, 1987) para la elaboración de sus escalas de predicción de riesgo de padecer UPP. La escala de Braden tiene una sensibilidad del 83% y una especificidad del 64%; la escala de Norton tiene una sensibilidad del 73% y una especificidad del 61% (Bergstrom, Demuth, & Braden, 1987). Aunque actualmente la escala de Braden y la escala de Norton son los instrumentos más utilizados para identificar a los pacientes con riesgo de desarrollar UPP, existen otras escalas, algunas de ellas son modificaciones de éstas.

1.3. Clasificación de las UPP.

El propósito de usar un sistema de clasificación de UPP es estandarizar el método de sus registros y proporcionar una descripción común de la evolución de una úlcera que permita a los profesionales sanitarios mantener un mismo lenguaje a efectos de la práctica clínica, de revisión y de investigación en este campo (Nixon et al., 2005).

Desde el primer sistema de clasificación de UPP desarrollado por Shea en 1975, numerosos sistemas se han elaborado para describir los diferentes niveles de lesión en los tejidos; estos sistemas van desde un grado 0 a 5 de clasificación o bien de un grado de 1 a 7 (Dealey & Lindholm, 2006; Witkowski & Parish, 1982). El National Pressure Ulcer Advisory Panel (NPUAP) desarrolló en 1989 una clasificación que contenía 4 grados. Este sistema, fue adoptado por la European Pressure Ulcer Advisory Panel (EPUAP) en 1999, tras realizarse algunos cambios menores (Defloor & Schoonhoven, 2004). Y es actualmente, el sistema que el Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras por Presión y Heridas Crónicas (GNEAUPP) toma como referencia. Según este sistema las UPP pueden clasificarse en 4 grados o estadios diferentes (Beeckman et al., 2007):

- **Grado I:** Alteración observable en la piel íntegra, relacionada con la presión, que se manifiesta por un eritema cutáneo no blanqueable al presionar; en pieles oscuras, puede presentar tonos rojos, azules o morados y puede ser difícil de detectar. El área puede ser dolorosa, firme, suave, más caliente o más fría en comparación con los tejidos adyacentes. Puede indicar personas en riesgo.
- **Grado II:** Pérdida parcial del grosor de la piel que afecta a la epidermis, dermis o ambas. Se presenta como una úlcera abierta superficial poco profunda con un lecho de la herida rojo o rosado. También puede presentarse como una flictena o ampolla intacta llena de suero o suero sanguinolento, abierta o rota. Se presenta como una úlcera superficial brillante o seca sin esfacelos o hematomas (el hematoma indica lesión de los tejidos profundos). Esta categoría no debería ser usada para describir laceraciones, lesiones de esparadrapo, dermatitis asociada a incontinencia, maceración o excoiación.

- **Grado III:** Pérdida completa del tejido. La grasa subcutánea puede ser visible, pero los huesos, tendones o músculos no están expuestos. Los esfacelos pueden estar presentes, sin llegar a ocultar la profundidad de la pérdida de tejido. Puede incluir cavitaciones y tunelizaciones. La profundidad de la UPP en este grado varía según la localización anatómica. La nariz, la oreja, el occipital y el maléolo no tienen tejido adiposo y las úlceras de grado III pueden ser poco profundas. En contraste, las zonas de importante adiposidad pueden desarrollar UPP de grado III extremadamente profundas.
- **Grado IV:** Pérdida total del grosor de la piel con destrucción extensa, necrosis del tejido o lesión en músculo, hueso o estructuras de sostén (tendón, cápsula articular, etc.). En este grado como en el III, pueden presentarse lesiones con cavernas, tunelizaciones o trayectos sinuosos. Existe pérdida total del espesor del tejido con hueso expuesto (pudiendo ocasionar osteomielitis o osteítis), tendón o músculo con presencia de esfacelos. La profundidad de la úlcera por presión de grado IV varía según la localización anatómica. Como en el grado III, tanto la nariz, la oreja, el occipital, como el maléolo, no tienen tejido adiposo y las úlceras de grado IV pueden ser poco profundas.

1.4. Localizaciones más frecuentes de las UPP.

Dada la etiología de las UPP, éstas pueden aparecer en cualquier lugar del cuerpo en función de la zona de la piel que esté sometida a la presión, la fricción o la cizalla sobre una prominencia ósea. Por tanto, siguiendo este patrón, se pueden encontrar diferentes zonas

anatómicas, que resultando de la posición del paciente, pueden ser de riesgo de aparición de UPP:

- En la posición de decúbito supino, aumenta el riesgo de UPP en el coxis, glúteos, talones, codos, omóplatos y occipital.
- En la posición de decúbito lateral, son susceptibles los maléolos, trocánteres, costillas, hombros o acromion, orejas, crestas ilíacas o la cara interna de las rodillas.
- En decúbito prono, pueden aparecer UPP en los dedos de los pies, rodillas, genitales masculinos, mamas, mejillas, nariz o crestas ilíacas.
- En sedestación, en los omóplatos, el isquion, el coxis, el trocánter, los talones o en los metatarsianos, son zonas con mayor riesgo de padecer UPP.

Según un estudio realizado en diferentes países en 2005 (Vangilder, Macfarlane, & Meyer, 2008), la localización anatómica más frecuente de todas las UPP es el sacro (28,3%), seguido por el talón (23,6%) y los glúteos (17,2%).

1.5. Complicaciones.

Las morbilidades asociadas con las UPP representan un problema de salud considerable, particularmente cuando no se produce la total curación (Redelings, Lee, & Sorvillo, 2005). Aproximadamente el 50% de UPP de grado II y el 95% de UPP de grado III y IV, tienen una evolución de más de 8 semanas de duración, lo que las hace considerarlas crónicas, aumentando la probabilidad de que aparezcan complicaciones (Bergstrom et al., 2005; Graumlich et al., 2003).

Las complicaciones de las UPP derivan de su evolución, y se podrían agrupar en directas o indirectas.

Las complicaciones directas son las que se producen en el propio paciente y comprenderían el dolor en la zona de la UPP, infección local de la herida o sistémica (sepsis) si la evolución es desfavorable; necrosis de los tejidos del lecho de la herida y/o perilesionales, osteomielitis, anemia o depresión (Redelings et al., 2005).

Las complicaciones indirectas son las que derivan de la hospitalización ya que los pacientes con UPP frecuentemente requieren mucho tiempo de hospitalización o frecuentes reingresos hospitalarios. La presencia o desarrollo de una úlcera puede aumentar la duración de la estancia hospitalaria de un paciente en un promedio de 10 días y aumentar los costes económicos (Brem et al., 2010).

1.6. Prevención de las UPP.

La prevención de las UPP es importante, pero no siempre fácil de lograr. Las medidas más eficaces, son capaces de reducir el nivel y/o la duración de la presión y la fuerza de cizallamiento. Los cuidados de prevención aplicados tienen como finalidad conseguir que no aparezcan UPP, sin olvidar que estas medidas preventivas se deben de continuar para, una vez se desarrolle la lesión, evitar que progrese a estadios superiores y favorecer la curación de la misma. Las directrices generales de prevención de UPP van a ir encaminadas a valorar el riesgo de cada paciente y a llevar a cabo las acciones necesarias para evitar la aparición de las úlceras. Estas directrices constan de la valoración de riesgo de UPP, cuidados de la piel, manejo de la presión y manejo de la nutrición (EPUAP and NPUAP, 2009).

1.6.1. Valoración del riesgo de UPP.

Inicialmente todos los pacientes deberían ser considerados “en riesgo”, hasta ser valorados de forma adecuada. Es necesaria una valoración detenida de su estado antes de considerar que no presenta riesgo de aparición de UPP y por tanto excluirlo de la aplicación de medidas preventivas. Cuando se producen cambios en el estado clínico del paciente (intervención quirúrgica, modificación de alguno de los factores de riesgo conocidos, cambio del cuidador habitual) se requiere una nueva valoración del riesgo. Para llevar esto a cabo, se recomienda la utilización de una escala de valoración de riesgo de aparición de UPP (EVRUPP), que es una herramienta metodológica para valorar y determinar el riesgo de padecer UPP en un individuo (Pancorbo-Hidalgo, Garcia-Fernandez, Lopez-Medina, & Alvarez-Nieto, 2006).

Como anteriormente se comentó, la escala de Braden (Tabla 1) tiene una mayor sensibilidad (83%) y una mayor especificidad (64%) respecto a la escala de Norton y es por ello que se recomienda el uso de la escala de Braden como EVRUPP ya que es una de las escalas con mayor capacidad predictiva y un nivel de evidencia alta (Bergstrom et al., 1987).

1.6.2. Cuidados de la piel.

El objetivo consiste en mantener y mejorar la tolerancia tisular a la presión para prevenir una lesión. Para ello es necesario valorar el estado de la piel diariamente, identificar de manera precoz los signos de lesión causados por la presión y anotar los cambios que se observen (*The Management of Pressure Ulcers in Primary and Secondary Care*, 2005).

Tabla 1. Escala de Braden.

Escala de Braden				
Puntuación	1	2	3	4
Percepción sensorial	Completamente limitada	Muy limitada	Ligeramente limitada	Sin limitaciones
Exposición a la humedad	Constantemente húmeda	A menudo húmeda	Ocasionalmente húmeda	Raramente húmeda
Actividad	Encamado	En silla	Deambula ocasionalmente	Deambula frecuentemente
Movilidad	Completamente inmóvil	Muy limitada	Ligeramente limitada	Sin limitaciones
Nutrición	Muy pobre	Probablemente inadecuada	Adecuada	Excelente
Roce y peligros de lesiones	Problema	Problema potencial	No existe problema	

Alto riesgo, puntuación total **≤12**

Riesgo moderado, puntuación total **≤13-15**

Riesgo bajo, puntuación total **≤16**

La presión ejercida por la fuerza de la gravedad del cuerpo en una persona encamada o sentada no es uniforme sobre toda la piel, sino que se concentra, y es mayor, en aquellas zonas de apoyo donde hay prominencias óseas subyacentes. La inspección inicial como referencia debe incluir todas las prominencias óseas (sacro, talones, rodillas, caderas, tobillos, codos, escápula y occipucio), identificando precozmente los signos de daño por presión.

La identificación de las condiciones especiales de la piel, tales como: sequedad, grietas, eritema, maceración, fragilidad, calor e induración, así como el correcto estadiaje de las lesiones por presión, deben quedar registrados, detallando la localización, el tamaño de la UPP y el estado de la piel circundante. Las acciones preventivas deben dirigirse también a

mejorar las condiciones de la piel (Sorando, Benito Duque, De Juan Huelves, Arranz López, & García Martínez, 2005), la cual se debe mantener en todo momento limpia y seca. Es útil también aplicar cremas hidratantes, en cantidad suficiente. En este sentido, se recomienda el uso de ácidos grasos hiperoxigenados (AGHO) ya que hidratan la piel, favoreciendo el aumento de la circulación capilar, lo cual mejora las condiciones locales de la piel expuesta a isquemias prolongadas, siendo de gran utilidad en la prevención de las úlceras. Además algunos estudios encuentran efectividad en el tratamiento de UPP de Grado I (Torra i Bou et al., 2005).

Está contraindicado el uso sobre la piel de cualquier producto que contenga alcohol (de romero, tanino...) incluidas las colonias, así como efectuar masajes sobre las prominencias óseas, pues se pueden ocasionar daños adicionales y no previenen la aparición de lesiones (Ek, Gustavsson, & Lewis, 1985).

Es importante valorar y tratar los diferentes procesos que puedan originar un exceso de humedad en la piel tales como incontinencia, sudoración profusa, drenajes o exudado de heridas, ya que la humedad provoca maceración y esto la debilita. La incontinencia ha demostrado que aumenta considerablemente el riesgo de aparición de UPP (Ersser, Getliffe, Voegeli, & Regan, 2005). En las zonas de piel expuestas a humedad excesiva, se deben utilizar productos barrera que protejan contra exudados y adhesivos que, al ser transparentes, permiten seguir la evolución de la lesión (Cutting & White, 2002).

1.6.3. Manejo de la presión.

Para minimizar el efecto de la presión como causa de UPP, el GNEAUPP recomienda

considerar cuatro elementos: movilización, cambios posturales, utilización de superficies especiales de manejo de la presión y protección local ante la presión (GNEAUPP, 2003a).

- **Movilización.** Para mejorar la movilización del paciente hay que elaborar un plan de cuidados que fomente y mejore la movilidad y actividad de la persona. Un objetivo apropiado para la mayoría de las personas es el mantenimiento del nivel de actividad y de deambulaci3n, así como proporcionar un amplio rango de movimientos. Es importante fomentar la autonomía del paciente y motivarlo a moverse por sí mismo (VanEtten, Sexton, & Smith, 1990).
- **Cambios posturales.** Para aliviar y eliminar la compresi3n de los puntos de apoyo, es imprescindible realizar cambios posturales. Este procedimiento se tom3 en consideraci3n hace bastante tiempo y se sabe que es crucial para la prevenci3n de UPP. Se realiza manteniendo lo m3s correctamente posible la alineaci3n del cuerpo, y estudiando detenidamente la forma de reducir los efectos de la presi3n prolongada sobre las prominencias 3seas en cada caso concreto. Se recomienda realizar cambios posturales cada 2-3 horas a los pacientes encamados, o cuando sea posible ense1ar a la persona a reposicionarse por sí misma a intervalos frecuentes que permitan redistribuir el peso y la presi3n (Braden & Bryant, 1990; Vanderwee, Grypdonck, De Bacquer, & Defloor, 2007).

La frecuencia de los cambios posturales debe de estar determinada por los resultados de inspeccionar la piel y por las necesidades individuales, así como por los medios utilizados, m3s que por una programaci3n general y estandarizada (Dealey, 2009). La frecuencia durante la noche tambi3n vendr3 orientada por estos factores,

pero se aconseja que el intervalo no sea superior a 4 horas (umbral máximo) (Defloor, De Bacquer, & Grypdonck, 2005). No obstante, otros estudios no encuentran asociación entre la frecuencia de cambios posturales y una baja incidencia de UPP (Rich et al., 2011).

Para facilitar los cambios posturales, la movilización y hacer los cambios de ropa de cama con mayor facilidad es conveniente utilizar sábanas entremetidas o grúas, evitando así el arrastre y la fricción.

- **Superficies especiales para manejo de la presión.** Las superficies especiales de manejo de la presión (SEMP) son aquellas superficies que presentan propiedades de reducción o alivio de la presión sobre la que puede apoyarse una persona, ya sea en decúbito supino, prono o en sedestación. Algunas de estas superficies tienen propiedades para reducir el efecto de la fricción y del cizallamiento, así como del calor y de la humedad. Se pueden clasificar como (García Fernández et al., 2007):
 - *Estáticas:* Actúan aumentando el área de contacto con la persona. Cuanto mayor sea la superficie de contacto menor será la presión que tenga que soportar. Entre los materiales utilizados en la fabricación de SEMP estáticas se encuentran colchonetas o cojines estáticos de aire, colchonetas, colchones o cojines de fibras especiales (siliconadas), colchones de espuma o viscoelásticos.
 - *Dinámicas:* Permiten variar de manera continuada los niveles de presión de las zonas de contacto del paciente con la superficie de apoyo, como colchones, colchonetas o cojines alternantes de aire, camas y colchones de posicionamiento lateral, camas fluidificadas y camas bariátricas.

La asignación de la superficie debe hacerse en función del riesgo que presente la persona a desarrollar UPP, de tal manera que en personas de riesgo bajo, se recomienda utilizar superficies estáticas y en personas de riesgo medio o alto, se recomienda utilizar superficies dinámicas o de presión alternante (Nixon et al., 2006).

- **Protección local ante la presión.** En zonas de prominencia ósea se deben utilizar apósitos para prevenir la aparición de UPP, prestando mayor protección en los talones. Cuando se deje el talón libre de presión utilizando un almohadillado, se debe evitar la caída del pie (pie equino), para ello mantener el pie en ángulo recto con la pierna y aunque no se observan diferencias estadísticamente significativas entre el uso de apósitos sin poliuretano y el uso de apósitos de espuma de poliuretano para proteger estas prominencias óseas, es cierto que la utilización de materiales para descargar estas zonas de la presión, logra disminuir la incidencia de aparición de este tipo de lesiones (Ferrer Solà, Espauella Panicot, Altimires Roset, Ylla-Català Borè, & Moreno Susi, 2013).

1.6.4. Manejo de la nutrición.

Dado que la desnutrición es un factor de riesgo reversible para el desarrollo de las UPP, su detección temprana y su tratamiento resultan muy importantes. Los individuos en peligro de desarrollar UPP pueden también correr el riesgo de desnutrición y por eso debería examinarse su estado nutricional (EPUAP and NPUAP, 2009). Un correcto aporte de calorías, proteínas, líquidos, vitaminas y minerales no sólo favorece la cicatrización sino que también puede evitar la aparición de UPP. El aporte hídrico es imprescindible para la

prevención, ya que la piel hidratada tiene menos riesgo de romperse (Dorner, Posthauer, & Thomas, 2009). Podemos establecer pues, una relación directa entre la malnutrición y la aparición de UPP, ya que la pérdida de grasas y tejido muscular disminuye la protección que ejercen sobre las prominencias óseas. Una combinación de pérdida de masa magra junto con la inmovilidad, aumenta el riesgo de UPP hasta en un 74% (Horn et al., 2004).

La valoración del estado nutricional debe efectuarse en el momento del ingreso del paciente en una institución o al incorporarse en un programa de atención domiciliaria, e igualmente deberá revalorarse de manera periódica, identificando factores de consumo comprometidos, hábitos y estado emocional.

La úlcera es una situación de alto gasto energético y proteico, requiere una dieta hiperproteica e hipercalórica, además buena hidratación y aportes más elevados de determinados nutrientes como Zn, Cu, Fe, arginina y vitaminas A, C y complejo B.

1.7. Tratamiento de las UPP.

El enfoque en el tratamiento de las UPP debe ser multidisciplinar y va a depender de diferentes factores como el grado de la úlcera, el exudado, el tejido existente en el lecho de la herida, la presencia de signos de infección, el estado de la piel perilesional o la existencia de dolor. De igual forma se deberán tener en cuenta los factores y características individuales de cada paciente, que permitan establecer un plan de cuidados específico e individualizado que se adapte a las necesidades del mismo (Brem & Lyder, 2004). Como ya se comentó en el apartado de prevención, de forma general los cuidados encaminados al tratamiento de las UPP deben incluir todas las actividades de prevención, básicamente, para

evitar una dificultosa progresión de la herida y prevenir la aparición de nuevas lesiones (EPUAP and NPUAP, 2009).

Las directrices generales sobre el tratamiento de las UPP que el GNEAUPP propone se presentan ordenadas bajo los siguientes epígrafes: valoración inicial, cuidados generales, cuidados de la úlcera y seguimiento de la lesión (GNEAUPP, 2003b).

1.7.1. Valoración para el tratamiento.

No sólo se ha de hacer una valoración de la UPP sino que hay que tener en cuenta la valoración global del paciente. La evaluación integral del paciente con UPP precisa de una valoración en tres dimensiones: el estado del paciente, la lesión y su entorno de cuidados. Según el GNEAUPP (GNEAUPP, 2003b), las directrices generales sobre el tratamiento de las UPP son las siguientes.

- **Valoración inicial del paciente.** Realizar una historia y examen físico completos, prestando especial atención a aspectos como la presencia de factores de riesgo de UPP (inmovilidad, incontinencia, nutrición, nivel de conciencia, etc.), la existencia de enfermedades que puedan interferir en el proceso de curación, la edad del paciente (edad avanzada), hábitos tóxicos (tabaco, alcohol, etc.), estado de higiene, o si el paciente sigue tratamientos farmacológicos que puedan interferir en el proceso de cicatrización.
- **Valoración nutricional.** El objetivo de la valoración y manejo nutricional es asegurar que la dieta del individuo con UPP contenga los alimentos necesarios para

ayudar a su curación. Dicha valoración se deberá realizar en el momento del ingreso y cada vez que se produzca un cambio en su estado, cuando se observe que su úlcera no mejora o no empieza a cerrarse (EPUAP and NPUAP, 2009).

Al objeto de identificar estados de malnutrición se realizan medidas antropométricas, con la determinación clínica de la albúmina sérica, de la transferrina sérica y del conteo linfocitario total. Como norma, la EPUAP aconseja proporcionar 30-35 kilocalorías por cada kilo del peso corporal de los pacientes que padezcan una UPP. Si bien, se adapta cuando hay pérdida o aumento de peso.

- **Valoración psicosocial.** Siempre que es posible se examina la capacidad, habilidad y motivación del paciente para participar en su programa terapéutico con el objetivo de reunir la información necesaria para elaborar un plan de cuidados acorde con las preferencias, objetivos y capacidades del individuo (Gorecki et al., 2009).
- **Valoración del entorno de cuidados.** Se ha de identificar al cuidador principal y valorar las actitudes, habilidades, conocimientos y posibilidades del entorno cuidador (familia, cuidadores informales, etc.) (Tsai, Lin, Liu, & Wang, 2012).
- **Valoración de la lesión.** Para determinar la adecuación del plan de tratamiento, es esencial controlar las UPP a intervalos uniformes de tiempo. La valoración y documentación de la lesión han de efectuarse al menos, una vez por semana, excepto si hay signos de deterioro del paciente o de la úlcera, en cuyo caso, tanto la lesión como el manejo global del paciente deben ser reevaluados inmediatamente. De igual

forma, debe quedar registrada mediante unos parámetros unificados para facilitar la comunicación entre los diferentes profesionales implicados, lo que a la vez va a permitir verificar adecuadamente su evolución.

Es necesario una valoración integral y llevar a cabo un enfoque sistemático que incluya (EPUAP and NPUAP, 2009; van Lis, van Asbeck, & Post, 2010):

- *Localización y número de lesiones*: sabiendo cuáles son las localizaciones más frecuentes, detectarlas y registrarlas.
- *Estadaje*: seguir el sistema de clasificación de las UPP que se ha descrito anteriormente.
- *Dimensiones de la úlcera*: que se expresará en centímetros cuadrados y se medirá la longitud mayor y la anchura mayor. También se podrá medir el volumen de la herida.
- *Exudado de la herida*: estimar la cantidad, identificar el grado de olor y color.
- *Tejido existente en el lecho ulceral*: si existe tejido de epitelización, de granulación, esfacelado y/o necrótico.
- Existencia de tunelizaciones o trayectos fistulosos.
- *Estado de la piel perilesional*: diferenciar la celulitis del eritema circunferencial que rodea la mayoría de las heridas en vías de cicatrización; buscar dolor, calor, enrojecimiento y describir si está íntegra, lacerada o macerada.
- Presencia o ausencia de *dolor* relacionado con la lesión.
- Presencia de signos clínicos de *infección*, tales como exudado purulento, mal olor, bordes inflamados, fiebre, etc.
- *Tiempo de evolución de la lesión*.

En aquellas situaciones en las que se presenten UPP dolorosas, para manejar el dolor a nivel local se aconseja la aplicación de geles con opiáceos como analgésicos, que han demostrado eficacia, pudiendo utilizar 10 mg de morfina en 8 g de hidrogel (Pieper, Langemo, & Cuddigan, 2009).

1.7.2. Cuidados generales al paciente.

Una vez realizada la valoración, los cuidados generales a aplicar van a ser aquellos que, no solamente se centren en el cuidado de la herida sino que mejoren su evolución y puedan prevenir la aparición de nuevas UPP.

- **Prevención de nuevas lesiones por presión.** Se reconoce un mayor riesgo de desarrollar nuevas UPP en aquellos pacientes que ya presentan o presentaron UPP, por lo que será necesario continuar, aún con mayor énfasis, con todo el programa de prevención dentro del plan de tratamiento (GNEAUPP, 2003a).

Los cuidados de prevención van dirigidos a disminuir el grado de presión, fricción y cizallamiento en la UPP. Entre estos cuidados se incluyen la protección local ante la presión, el uso de superficies de manejo de la presión, los cambios posturales y la movilización (Reddy, Gill, & Rochon, 2006).

Para aliviar la presión el GNEAUPP, en sus directrices de tratamiento recomienda el uso de técnicas de posición y manejo de las superficies.

En relación a las técnicas de posición se distingue entre paciente sentado y paciente encamado.

En pacientes sentados se aconseja evitar que el paciente permanezca sentado sobre la UPP. De modo excepcional, y siempre que se pueda garantizar el alivio de la presión mediante el uso de dispositivos especiales de apoyo, se permite esta posición durante periodos limitados de tiempo, manteniendo así la buena funcionalidad del paciente.

La posición de los individuos sentados que no presenten una lesión en ese nivel, debe de variarse al menos cada hora, facilitando el cambio de apoyo de su peso cada quince minutos, mediante cambio postural o realización de pulsiones (refiriéndose a pulsión como ejercicio de contracción-relajación de un grupo muscular concreto). Si no fuera posible variar la posición cada hora, deberá ser enviado nuevamente a la cama.

La bibliografía (Michael, Porter, & Pountney, 2007) sugiere la necesidad de considerar la alineación corporal, la verticalidad en la posición de sentado, la redistribución del peso, el equilibrio, la estabilidad y el alivio de la presión, cuando se posicione a individuos sentados.

Cuando el paciente está encamado no debe apoyarse sobre la UPP. Si bien, cuando el número de lesiones, la situación del paciente o los objetivos de tratamiento hacen imposible evitar la colocación de un paciente sobre una UPP, la clínica aconseja disminuir el tiempo de exposición a la presión aumentando la frecuencia de los cambios y/o utilizar superficies de apoyo. Así, la EPUAP y la NPUAP (2009) recomiendan reposicionar al paciente en posición de decúbito supino inclinado 30°, cambiando la posición de derecha a decúbito supino y después a la posición izquierda, siempre que la condición médica del paciente lo permita.

Tanto sentado como en cama, nunca se deben utilizar dispositivos tipo flotador o anillo ni apoyar al paciente sobre ningún dispositivo médico que porte el individuo, como sonda o drenaje, entre otros (EPUAP and NPUAP, 2009).

La utilización de superficies de apoyo es importante tanto desde el punto de vista de la prevención, como bajo la óptica de medida coadyuvante en el tratamiento de lesiones instauradas (GNEAUPP, 2003b).

Las superficies de apoyo son un valioso aliado en el alivio de la presión, pero en ningún caso sustituyen a los cambios posturales. Estas superficies pueden actuar a dos niveles: disminuyendo los niveles de la misma, aunque no necesariamente por debajo de los valores que impiden el cierre capilar, son las denominadas superficies que reducen la presión, o bien produciendo una reducción del nivel de la presión en los tejidos blandos por debajo de la presión de oclusión capilar, además de eliminar la fricción y el cizallamiento, se trata de los sistemas de alivio de la presión.

El uso de una superficie que reduzca o alivie la presión se ha de realizar de acuerdo con las necesidades específicas de cada paciente, tal y como recomienda el GNEAUPP (2003b) y McInnes et al. (2011):

- Todo paciente que presente una o varias UPP debe considerarse como de alto riesgo de desarrollar nuevas lesiones y por tanto debe siempre ser posicionado sobre una superficie especial para el manejo de la presión dinámica.
- En el caso de no ser posible, usar una superficie estática si el individuo puede asumir varias posiciones sin apoyar su peso sobre la UPP.
- Emplear una superficie dinámica de apoyo si el individuo es incapaz de asumir

varias posiciones sin que su peso recaiga sobre las UPP.

- Cualquier paciente que necesite superficies de apoyo también necesitará un cojín especial cuando se sienta. Los cojines de aire, de espumas especiales o de gel han demostrado ser eficaces.

- **Soporte nutricional.** Que el paciente reciba una dieta regular adecuada es un imperativo para estimular la curación de la UPP. Para garantizar un aporte nutricional completo, el paciente debe seguir una dieta equilibrada, aportando la suficiente energía necesaria para el anabolismo de la UPP, pues las necesidades proteicas están elevadas, además de todos los nutrientes necesarios sin carencias ni excesos (Reddy et al., 2008). Por tanto, las necesidades nutricionales de una persona con UPP están aumentadas debido al propio proceso de cicatrización. Distintas guías (EPUAP and NPUAP, 2009; GNEAUPP, 2003b) recomiendan, de forma general, una ingesta con las siguientes características:
 - Calorías: 30-35 Kcal/Kg/peso/día.
 - Proteínas: 1,25-1,50 gr/Kg/día (pudiendo ser necesario el aumento hasta un máximo de 2 g/Kg/día).
 - Arginina.
 - Aporte hídrico: 30 cc/kg/día.
 - Minerales: Zinc, Hierro, Cobre.
 - Vitaminas: Vit C, Vit A, Complejo B.

Por otra parte, esto justifica que los protocolos de actuación establezcan la necesidad de hacer una valoración del estado nutricional al ingreso y una revisión de manera periódica, para identificar y corregir los diferentes déficits nutricionales. En caso de que la dieta no cubra estas necesidades se debe recurrir al aporte de dietas hiperproteicas y/o hipercalóricas (oral, enteral o parenteral), según las características de cada paciente, o a suplementos nutricionales formulados especialmente para pacientes con heridas crónicas (Stratton et al., 2005).

- **Soporte psicosocial.** La historia psicosocial identifica los factores que influyen en la experiencia de la enfermedad del paciente, sus preferencias personales y el funcionamiento de la atención prestada al paciente. La evaluación psicosocial integral según Gorecki et al. (2009) incluye: el estado mental, los síntomas psicológicos (como la depresión), las preferencias del paciente, las metas de atención, apoyo social, datos culturales y de etnia, tipo de calidad de vida, recursos económicos y nivel de educación sanitaria.

1.7.3. Cuidados específicos de la UPP.

Los cuidados, a nivel general, para el tratamiento tienen la finalidad de reconstruir y remodelar el tejido afectado.

A nivel local, cada uno de los tratamientos aplicados va en función del proceso evolutivo de la herida, por lo que se establece un tratamiento específico dependiendo del grado y de las características de la lesión. Este tratamiento, irá cambiando según la

respuesta de la herida. De tal modo que el GNEAUPP, (2003b) establece un protocolo de actuación en función del grado de la úlcera.

En el caso de úlceras de grado I, se aconseja aliviar la presión en la zona afectada, la utilización de AGHO (para mejorar la resistencia de la piel y minimizar el efecto de la anoxia tisular) y el uso de medidas locales en el alivio de la presión.

En las úlceras de grado II, III y IV, el tratamiento propuesto consistirá en desbridamiento del tejido necrótico, limpieza de la herida, prevención y abordaje de la infección bacteriana y elección de un producto que mantenga continuamente el lecho de la úlcera húmedo y a temperatura corporal.

1.7.3.1. Desbridamiento.

El desbridamiento se realiza con frecuencia en las heridas y consiste en eliminar el tejido y/o los residuos no viables que se encuentran en el lecho de la herida y que son medio de cultivo para las bacterias, impidiendo el proceso normal de cicatrización. El objetivo es preparar ese lecho de la herida para recibir productos curativos terapéuticos y maximizar el proceso de curación. El tejido no viable puede prolongar el proceso de curación mediante el aumento de la inflamación, los niveles de bacterias y toxinas, y la inhibición de reepitelización. El tejido no viable por lo general se presenta como húmedo, amarillo, verde o gris y con el tiempo se convierte en negro seco o marrón (König, Vanscheidt, Augustin, & Kapp, 2005). Los métodos de desbridamiento más comúnmente usados son: quirúrgicos (cortantes), químicos (enzimáticos), autolíticos y mecánicos. Estos métodos no son incompatibles entre sí por lo que son comúnmente combinados para

obtener mejores resultados (Madhok, Vowden, & Vowden, 2013).

El desbridamiento quirúrgico está considerado como la forma más rápida de eliminar áreas de escaras secas adheridas a planos más profundos o de tejido necrótico húmedo. Puede ser parcial, eliminando sólo el tejido no viable (selectivo) o completo (no selectivo), eliminando tanto tejido viable como no viable, en este caso la intervención se suele realizar en quirófano.

El desbridamiento quirúrgico es un procedimiento cruento que se realiza bien en quirófano con el soporte de anestesia local o general, o bien a pie de cama, retirando de forma selectiva el tejido desvitalizado, en diferentes sesiones y hasta el nivel de tejido viable. Se realiza con instrumental estéril y extremando las medidas de asepsia. La eliminación de tejido necrótico o infectado es rápida, por lo que está indicado en escaras gruesas, escaras muy adherentes, en tejido desvitalizado de lesiones extensas o profundas, o cuando hay signos de celulitis o sepsis, siendo este último caso considerado de necesidad urgente de desbridamiento (Attinger et al., 2006).

El desbridamiento químico se realiza, fundamentalmente, mediante el uso de productos que contienen enzimas proteolíticas, diseñadas para ayudar al desbridamiento que se produce de forma fisiológica en el proceso de cicatrización. Es un método de desbridamiento más lento, por lo que no se recomienda para tejidos desvitalizados infectados que requieren ser eliminados de forma rápida (König et al., 2005).

Hay diversos productos enzimáticos exógenos, como los que poseen actividad proteolítica o fibrinolítica, los cuales actúan de forma sinérgica con las enzimas endógenas, degradando la fibrina, el colágeno desnaturalizado y la elastina de los tejidos necróticos. La

colagenasa es un ejemplo de este tipo de sustancias y existen evidencias científicas que indican que ésta, favorece el desbridamiento y el crecimiento de tejido de granulación, incluso cuando se asocia con el ácido hialurónico (Onesti et al., 2013). Estos autores recomiendan proteger la piel periulceral mediante una película barrera y aumentar el nivel de humedad en la herida para potenciar su acción. Así como, no utilizarlas asociadas con otros preparados químicos como alcohol, yodo, jabones o sales de plata ya que reduce su eficacia.

El desbridamiento autolítico es un proceso selectivo mediante el cual se degrada el tejido no viable a través de la liberación, por parte del organismo, de enzimas proteolíticas endógenas y por la acción de los fagocitos. Este proceso se favorece mediante el uso de productos propios de la denominada cura húmeda. Así, cualquier apósito capaz de producir condiciones de cura húmeda, de manera general y los hidrogeles en estructura amorfa de manera específica, son productos con capacidad de producir desbridamiento autolítico (GNEAUPP, 2003b).

El mecanismo de acción del desbridamiento autolítico se basa en la conjunción de tres factores: hidratación del lecho de la úlcera, fibrinólisis y acción de las enzimas endógenas sobre los tejidos desvitalizados. Esta fórmula de desbridamiento es considerada más selectiva y atraumática, ya que produce poco dolor, no requiere de habilidades clínicas específicas y es generalmente bien aceptada por el paciente; sin embargo, presenta una acción más lenta en el tiempo (Gray et al., 2011).

El desbridamiento mecánico es un proceso de desbridamiento que elimina el tejido y los residuos a través de medios mecánicos como ultrasonidos, irrigación de alta presión, hidroterapia (hidromasaje) o los apósitos secos (Madhok et al., 2013). Esta técnica de

desbridamiento hoy día está en desuso por ser traumática para el lecho de la herida.

1.7.3.2. Limpieza de la lesión.

La bibliografía aconseja que la limpieza de las lesiones se debe realizar al inicio y en cada cura con suero salino fisiológico, agua destilada o agua del grifo. Igualmente, se debe de usar la mínima fuerza mecánica para la limpieza de la úlcera así como para su secado posterior. La presión de lavado ha de ser efectiva para facilitar el arrastre del detritus, bacterias y restos de curas anteriores pero, sin capacidad para producir traumatismos en el tejido sano. La utilización prolongada de antisépticos locales (povidona iodada, clorhexidina, agua oxigenada, ácido acético, solución de hipoclorito, etc.) para el lavado de las lesiones está demostrado que puede retrasar la cicatrización y crear resistencias, al ser productos químicos citotóxicos para el nuevo tejido. Además, su uso continuado puede provocar problemas sistémicos por su absorción en el organismo. Solamente se recomienda su uso en los casos en los que exista evidencia de alta carga bacteriana. (Fernández, Griffiths, & Ussia, 2004; GNEAUPP, 2003b).

1.7.3.3. Prevención y abordaje de la carga bacteriana.

Se sabe que en general todas las UPP están contaminadas por bacterias, sin que las lesiones estén infectadas. Por definición, una herida contaminada es una herida con presencia de bacterias en su superficie; una herida colonizada aparece cuando en su superficie existen gérmenes contaminantes que se están multiplicando sin producir

infección. La colonización crítica se considera cuando la multiplicación de bacterias provoca hechos clínicos como inflamación o dolor y la herida infectada es aquella en la que los microorganismos se reproducen en ella invadiendo los tejidos vivos que rodean la lesión (generalmente se admite la presencia de 100.000 unidades formadoras de colonias por gramo de tejido), y se asocia a signos y síntomas sistémicos como la fiebre (Bowler, Duerden, & Armstrong, 2001; Edwards & Harding, 2004). En la mayor parte de los casos una limpieza y desbridamiento eficaz imposibilita que la colonización bacteriana progrese a infección clínica (Blanco & Torralba, 2009).

Entre los síntomas de infección local de la UPP según Santy (2008) se encuentran: el aumento del tamaño de la úlcera, la inflamación en el tejido periulceral (eritema, edema, tumor, calor), el aumento del dolor, el mal olor y el aumento del exudado, de carácter viscoso-purulento.

La infección local debe ser controlada ya que puede derivar a situaciones mucho más graves y complejas como osteomielitis de difícil diagnóstico, o bien una infección generalizada (bacteriemia), la cual en algunas ocasiones puede ocasionar la muerte en un 50% de los casos (Livesley & Chow, 2002).

Una vez se han detectado signos de infección local, el GNEAUPP establece que se deberá realizar limpieza y desbridamiento para eliminar todo el tejido desvitalizado. Si transcurrido un plazo entre 2 y 4 semanas la úlcera no evoluciona favorablemente, o continua con signos de infección local, habiendo descartado la presencia de osteomielitis, celulitis o septicemia, deberá implantarse un régimen de tratamiento en el que se pueden utilizar apósitos efectivos en la reducción de la carga bacteriana y tratamiento local de la infección; o bien aplicar durante un periodo máximo de dos semanas, un antibiótico local

con efectividad contra los microorganismos que más frecuentemente infectan las UPP (por ejemplo sulfadiazina argéntica, ácido fusídico, etc.) (GNEAUPP, 2003b).

Si la lesión no responde al tratamiento local, está aconsejado realizar cultivos bacterianos, preferentemente mediante aspiración percutánea con aguja o biopsia tisular, evitando, a ser posible, la recogida de exudado mediante frotis que puede detectar solo contaminantes de superficie y no el verdadero microorganismo responsable de la infección, lo que permite establecer el tratamiento antibiótico específico, reevaluar al paciente y a la lesión (EPUAP and NPUAP 2009; O'Meara, Al-Kurdi, Ologun, & Ovington, 2010).

1.7.3.4. Elección del apósito adecuado.

La evolución de una cura en ambiente húmedo implica una mayor ventaja coste-eficacia, ya que reduce el número de curas y por lo tanto la manipulación, y además es beneficiosa para la cicatrización (Finnie, 2002).

La cura en ambiente húmedo, fue descrita por primera vez por Winter en 1962 de forma experimental, demostrando que las lesiones cutáneas cubiertas por una lámina impermeable polimérica, presentaban una curación dos veces más rápidas que las que eran expuestas al aire. Este efecto es debido a que previene la deshidratación tisular y la muerte celular; se promueve la angiogénesis, se estimula la eliminación de fibrina y de tejido desvitalizado y permite la interacción celular y la liberación de factores de crecimiento para la cicatrización (Winter, 1962).

Un aspecto importante en la elección de un apósito es la capacidad de mantener la humedad del lecho de la herida; por lo que, un apósito ideal debe tener las siguientes

características: ser biocompatible, proteger la herida de agresiones externas físicas, químicas y bacterianas, mantener el lecho de la úlcera continuamente húmedo y la piel circundante seca, eliminar y controlar exudados y tejido necrótico mediante su absorción, dejar la mínima cantidad de residuos en la lesión, ser adaptable a localizaciones difíciles, respetar la piel perilesional y ser de fácil aplicación y retirada (GNEAUPP, 2003b).

La frecuencia de cambio de apósito dependerá de sus propias características y sobre todo de las características de la herida, ya que por ejemplo, cuando se utiliza un apósito de hidrocoloide, la absorción de exudado por éste es mayor y por tanto se necesitan más cambios; si por el contrario la herida es menos exudativa, los cambios serán menos frecuentes (Heyneman, Beele, Vanderwee, & Defloor, 2008).

Actualmente hay diferentes tipos de materiales para apósitos (Horn, 2012; Jones, Grey, & Harding, 2006; Murphy & Evans, 2012) agrupados en:

- *Alginatos*: se presentan en placa o en cinta y absorben hasta 20 veces su peso en exudado, siendo útiles en heridas muy exudativas.
- *Poliuretanos*: comercializados tanto en film, como en espumas poliméricas en placa, para cavidades o con silicona. Actúan como barrera semipermeable y repelen agentes contaminantes, la carga de exudado que soportan no es muy alta siendo adecuados para heridas con ligero o moderado exudado.
- *Hidrocoloides*: están fabricados con una matriz de celulosa y otros agentes formadores de gel como gelatina o pepsina. Podemos encontrarlos en placa, en gránulos, en pasta, en fibra y en malla o tul con diversos grosores. Favorecen el desbridamiento autolítico

y la granulación. Están indicados para heridas con exudado ligero a moderado. Son impermeables a gases y producen un gel de mal olor.

- *Hidrogeles*: son polímeros de almidón con alto contenido en agua. Se utilizan para rellenar cavidades e hidratar. Se encuentran comercializados en placa, en estructura amorfa, en malla o tul. Al hidratar el tejido disminuyen el dolor en la herida y favorecen el desbridamiento autolítico y la cicatrización.
- *Siliconas*: están diseñadas para ser hidrofóbicas y mantener la humedad. Suelen estar acompañadas de una espuma polimérica.
- *Carbón activado*: se encargan de absorber el mal olor, pudiéndose combinar con alginatos.
- *Plata*: los apósitos que contienen iones de plata presentan capacidad antibacteriana y actúan de forma lenta en el lecho de la herida mediante su liberación o mediante el contacto de las bacterias tras ser absorbidas por el apósito.
- *Apósitos no adherentes impregnados*: pensados para evitar que el apósito secundario no se adhiera directamente al lecho de la herida. Algunos de ellos contienen medicamentos.
- *Apósitos de colágeno*: este apósito aporta colágeno externo, uno de los elementos que mejora la cicatrización.
- *Combinados*: están formados por la combinación de diferentes productos, superponiéndolos en distintas capas.

1.8. Seguimiento de la UPP.

Los estudios clínicos aconsejan un seguimiento de la lesión en todas las UPP, recogiendo todos los datos y características tanto del paciente como de la lesión (localización, dolor, tamaño, exudado, etc.) (van Lis et al., 2010).

Los cambios de apósito o la realización de curas dependerán del estado general del paciente y de las características de la herida, así, en las UPP con tejido de granulación, el exudado será el que condicione la frecuencia de cambios. Se puede recomendar de forma general que, cuando el exudado de la lesión esté en torno a 1-2 cm del borde del apósito es el momento adecuado para su cambio. Si los cambios hay que hacerlos con frecuencia inferior a los 2-3 días, se recomienda modificar el producto de tratamiento por otro de mayor absorbencia y si no lo controla y se asocia a otros signos como retraso en la cicatrización, dolor, decoloración, etc., habrá que valorar la posibilidad de que se encuentre en situación de colonización crítica y tratar la herida como si estuviera infectada (GNEAUPP, 2003b). Si la lesión tiene una elevada carga bacteriana o signos claros de infección, la limpieza y desbridamiento debe hacerse a diario. Si se asocia a productos para el manejo de la carga bacteriana, como apósitos de plata, la revisión de la lesión debería hacerse como máximo cada 48-72 h. En el caso de aumentar el escalón terapéutico y optar por antibióticos tópicos, el cambio deberá realizarse en función de la vida media del mismo. Así, como ejemplo, la Sulfadiazina argéntica tiene una vida de 12 h por lo que los cambios habrá que realizarlos con esa periodicidad (García Fernández et al., 2007).

En el año 1996 el NPUAP (Thomas et al., 1997) desarrolló y validó un instrumento llamado Pressure Ulcer Scale for Healing (PUSH) que permite documentar la cicatrización de una UPP. Esta escala PUSH tiene 3 parámetros de medida que son:

- Área de la herida, relacionando alto mayor (en dirección céfalo-caudal) *versus* el ancho mayor (en línea horizontal de derecha a izquierda), en centímetros cuadrados. Una vez obtenida el área de la herida, se compara con los valores de la escala que varían de 0 a $>24\text{cm}^2$ y puntuaciones que varían de 0 a 10, de acuerdo con el área obtenida.
- Cantidad de exudado, que se clasifica como: ninguno, ligero, moderado y abundante, que corresponden a puntuaciones de 0 (ninguno) a 3 (abundante).
- Tipo de tejido prevalente en la herida, siendo tejido necrótico, esfacelar, de granulación, epitelial o cicatrizado, con puntuaciones de 0 (cicatrizado) a 4 (necrótico).

Las puntuaciones obtenidas en cada parámetro dan una puntuación total, cuya variación posible va de 0 a 17. El instrumento PUSH determina las condiciones y la evaluación de la herida. Así, puntuaciones mayores indican malas condiciones de la úlcera y puntuaciones menores indican mejoría en el proceso de cicatrización de la lesión.

2. FACTORES DE CRECIMIENTO Y CITOQUINAS

El proceso de cicatrización de heridas es un proceso complejo que se desarrolla a través de la superposición de diversas etapas, que comienza con la hemostasia e inflamación y termina con la remodelación. Todo este progreso es mediado por una serie de factores que actúan interrelacionados entre sí, entre los que destacan los factores de crecimiento (FC) y las citoquinas, además de otros factores vasculares, hormonales y genéticos.

2.1. Factores de crecimiento.

Los FC son polipéptidos biológicamente activos cuya función es la regulación de la diferenciación, proliferación, migración y metabolismo en las células diana, regulando la síntesis de moléculas de adhesión específicas, que controlan la interacción entre células y entre éstas y el sustrato. Cada FC puede tener una o varias funciones fundamentales sobre una célula concreta y sus acciones específicas dependerán de las circunstancias concretas del entorno celular (Barrientos, Stojadinovic, Golinko, Brem, & Tomic-Canic, 2008).

Estos FC secretados por la célula, interaccionan con otras células a través de su receptor correspondiente o con la matriz extracelular. Los receptores son proteínas de membrana que transmiten una señal específica al interior celular. La unión de los FC a sus receptores desencadena una cascada de reacciones intracelulares que amplifican la señal produciendo así la activación nuclear para la síntesis de proteínas. La unión de un FC a su receptor se conoce como interacción ligando-receptor. Estas interacciones son muy específicas y pueden ocurrir de manera simple, en la que el FC específico (denominado ligando) se une a un único receptor celular, o pueden ocurrir de manera más compleja en la que uno o varios ligandos se unen a uno o varios receptores (Yoon & Boden, 2002). Una vez establecida la interacción ligando-receptor, el receptor se activa al producirse un cambio en su conformación. Los receptores poseen dominios extracelulares que se unen al ligando y dominios intracelulares que se unen al sistema de transducción de señales y lo activan. En este sistema de transducción de señales interviene, en parte, el denominado factor de transcripción, una proteína intracelular que se activa como parte de las vías de señalización iniciadas por el dominio intracelular de un receptor. El factor de transcripción activado viaja al núcleo, se une al ADN nuclear e induce la expresión de un gen o un grupo de genes

nuevos. La expresión de estos genes nuevos por parte de una célula es la que, en última instancia, modifica las características de dicha célula. El tipo de activación y el factor de transcripción específico varían con la célula diana, la combinación de receptor-FC y la competencia biológica de la célula (Bonete Lluch, 2006).

Los FC pueden ser secretados por diferentes tipos de células que participan en el proceso de cicatrización como plaquetas, células mediadoras de inflamación, fibroblastos, células endoteliales, vasculares o epiteliales y dependiendo de cómo son secretados, esos FC tienen diferentes acciones (Singh & Harris, 2005):

- **Estimulación Autocrina**, se produce cuando el FC se une a la misma célula que lo ha secretado o a otras células con un fenotipo idéntico al de dicha célula, suponiendo una auto-estimulación metabólica.
- **Estimulación Paracrina**, se produce cuando el FC actúa sobre células adyacentes. Este efecto ocurre en las células colindantes para producir proliferación e incremento de la síntesis de la matriz extracelular proteica.
- **Estimulación Endocrina**, el FC interacciona o estimula a una célula que tiene un fenotipo distinto al de la célula que lo secretó y que está ubicada en una zona anatómica lejana.
- **Estimulación Yuxtacrina**, el FC se une al receptor de la membrana celular de una célula y ésta interacciona con otra adyacente.

2.2. Factores de crecimiento que intervienen en la cicatrización de heridas.

Entre los FC que participan en el proceso de cicatrización se encuentran: el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento análogo a la insulina (IGF) y entre éstos, el IGF-I y IGF-II, los factores de crecimiento transformantes (TGFs) y en concreto el TGF- β , el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y especialmente el FGF-ácido y el FGF-básico, el factor estimulador de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), entre otros. También juegan un papel importante en los procesos de reparación, concretamente en las fases de inflamación, las citoquinas, producidas por las células blancas sanguíneas, entre las que se citan las Interleuquinas (IL): IL-1, IL-3, IL-6, IL-8, entre otras (Werner & Grose, 2003).

- **PDGF (Platelet-Derived Growth Factor).** El PDGF está compuesto por 2 cadenas de polipéptidos que se unen para formar diferentes dímeros, comprendiendo así una familia de FC de homo o heterodímeros, que incluyen el PDGF-AA, PDGF-AB, PDGF-BB, PDGF-CC, y PDGF-DD. Para que las distintas isoformas de PDGF ejerzan su función deben interactuar con sus receptores correspondientes. Existen dos tipos de receptores, α y β . La porción intracelular de estos receptores posee un dominio tirosina-quinasa, a través del cual el PDGF ejerce su función (Heldin, Eriksson, & Ostman, 2002).

El PDGF activa la mitogénesis y la quimiotaxis de células al lecho de la herida cutánea tales como macrófagos, fibroblastos, células de músculo liso y neutrófilos (Tregrove, Bielefeldt-Ohmann, & Stacey, 2000), provocando una producción de matriz

extracelular y síntesis de colágeno tipo I. Diferentes estudios clínicos han demostrado un efecto beneficioso de PDGF en el tratamiento de la cicatrización de heridas, siendo el PDGF el primer FC que se ha probado para el tratamiento de las úlceras en humanos (Mandracchia, Sanders, & Frerichs, 2001; Nagai & Embil, 2002).

El PDGF se encuentra en elevadas concentraciones en las plaquetas, en los macrófagos, en las células endoteliales vasculares, fibroblastos y queratinocitos (Bennett, Griffiths, Schor, Leese, & Schor, 2003). Esta proteína se almacena en los gránulos alfa de las plaquetas y se libera cuando las plaquetas se agregan y se inicia la cascada de la coagulación en la herida. Sobre los fibroblastos, en primer lugar provoca su proliferación y después induce sobre ellos un cambio en el fenotipo hacia miofibroblastos (Rhee & Grinnell, 2006). Además, favorece la angiogénesis y el desbridamiento de la herida al inducir la llegada de macrófagos, en los cuales activa la producción y secreción de FC como el TGF- β (Uutela et al., 2004).

El efecto ejercido por el PDGF y su expresión sugiere una acción paracrina, ya que los ligandos son frecuentemente expresados en la epidermis, mientras que los receptores se encuentran en la dermis y en el tejido de granulación (Werner & Grose, 2003).

- **TGF- β (Transforming Growth Factor- β).** Los TGFs son unas moléculas que incluyen una subfamilia de proteínas que comprende desde el TGF- β 1 hasta el TGF- β 3, las proteínas morfogenéticas óseas (BMPs) y las activinas. Las formas TGF- β 1, TGF- β 2, y TGF- β 3 se encuentran en los mamíferos y es la forma TGF- β 1 la que predomina en el proceso de cicatrización de heridas cutáneas. Son producidas por macrófagos, fibroblastos, queratinocitos y plaquetas (Eppley, Woodell, & Higgins, 2004).

Las isoformas TGF- β son secretadas como precursores latentes en forma de complejo TGF-proteína y necesitan bien de activación enzimática, cambios de pH (ácido) o bien aumento de la temperatura, para que se produzca la escisión de la proteína y poder así ejercer su función al interactuar con uno de sus tres receptores específicos: TGFR-I, -II y -III. No obstante el tipo III parece que no es un receptor verdadero porque no implica respuesta intracelular; el -I y el -II realizan los mecanismos de señalización celular a través de proteínas serina-treonina-quinasa del citoplasma (W. Liu et al., 2005).

En el proceso de cicatrización, el TGF- β 1 es importante en la mediación de la inflamación, de la angiogénesis, la regeneración de tejido conectivo y la reepitelización. Se ha mostrado que tienen una mayor expresión coincidiendo con el comienzo de la lesión. Entre sus funciones destacar que el TGF- β 1 facilita el reclutamiento de células inflamatorias adicionales y aumenta el desbridamiento del tejido mediado por macrófagos (Barrientos et al., 2008).

El TGF- β aunque se localiza en diferentes tejidos, es en las plaquetas donde se encuentra en más abundancia, al igual que en las células mesenquimales pluripotenciales, en los osteoblastos, en los condrocitos y en el callo de fractura.

- **BMPs (Bone Morphogenetic Proteins).** Además de las activinas y de los TGF- β , las BMPs juegan un papel importante en la cicatrización de heridas, concretamente la BMP-2, la BMP-4 o la BMP-7, se expresan en lesiones de piel en ratones adultos (Wankell et al., 2001). Los lugares de expresión en la piel aún no han sido bien definidos pero sí se conoce, por estudios realizados en animales, que la presencia exógena de

BMP-2 induce una respuesta reparadora en la dermis y epidermis (Stelnicki et al., 1998). La BMP-6 sí está mejor documentada y se sabe que su expresión es elevada en el borde de la herida para la reparación de la epidermis, así como en los fibroblastos en el tejido de granulación. Después del cierre completo de la herida, la BMP-6 se encuentra acumulada en las capas suprabasales de la nueva capa de la epidermis (Kaiser et al., 1998). Esta localización, unido a los resultados obtenidos en estudios *in vitro*, sugiere un papel de la BMP-6 en la inhibición de la proliferación de los queratinocitos y la inducción de su diferenciación (D'Souza, Pajak, Balazsi, & Dagnino, 2001; McDonnell, Law, Serra, & Moses, 2001).

- **FGF (Fibroblast Growth Factor).** EL FGF comprende una familia de polipéptidos estructurales de FC que incluyen 23 miembros. De éstos, los tres miembros más importantes implicados en la cicatrización de heridas cutáneas son FGF-2, FGF-7 y FGF-10. Los FGFs son producidos por los queratinocitos, fibroblastos, células endoteliales, células de músculo liso y condrocitos. Se han descrito dos tipos de FGFs, el ácido (aFGF) y el básico (bFGF) con semejanzas estructurales. Los FGF transducen sus señales a través de cuatro proteínas transmembrana de alta afinidad tirosina-quinasa ubicadas en las células diana, dando lugar a cuatro tipos de receptores: FGF receptores 1-4 (FGFR1-4) (Ceccarelli et al., 2007; Powers, McLeskey, & Wellstein, 2000).

Su principal función es potenciar la mitogénesis en las primeras fases de la curación, poniendo en marcha los mecanismos de regeneración tisular, como son la estimulación para la proliferación de la mayoría de las células implicadas en la reparación: células capilares endoteliales, células vasculares endoteliales, fibroblastos,

queratinocitos y ciertas células especializadas, como condrocitos y mioblastos (Lieberman, Daluiski, & Einhorn, 2002).

- **EGF (Epidermal Growth Factor).** Son una de las familias de FC que actúan en la cicatrización de heridas que mejor caracterizadas están. La familia de EGF está compuesta por una serie de proteínas cuyas estructuras son muy similares y cuyas funciones son también parecidas pero no idénticas. En esta familia podemos encontrar diferentes proteínas entre las que se destacan el HB-EGF, el TGF- α , la epirregulina, la anfirregulina, la betacelulina o la neuregulina.

En epidermis humana sana, el EGF puede ser localizado a lo largo de toda la epidermis, aunque su presencia membranosa es más prominente en la capa basal. La estimulación del EGF conduce a la activación de un número de vías convergentes para la promoción de la migración celular y la proliferación. En estudios *in vitro*, se describe que el EGF desempeña un papel importante en la reepitelización mediante el aumento de la proliferación de queratinocitos y la migración celular en heridas agudas (Barrientos et al., 2008).

Aunque el EGF no aumenta la síntesis de proteínas de matriz extracelular como el colágeno, los trabajos recientes apuntan a que lo hace por un mecanismo indirecto, atrayendo fibroblastos por quimiotaxis, los cuales sintetizan colágeno, produciéndose un aumento del colágeno total (Cheung, Katti, Rosier, & Laurencin, 2003).

- **VEGF (Vascular Endotelial Growth Factor).** El VEGF incluye una familia de FC como VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E y factor de crecimiento de placenta (PLGF). Ejercen sus funciones biológicas mediante la unión a tres receptores

transmembrana denominados VEGFR-1, VEGFR-2 y VEGFR, que carecen de actividad tirosina-quinasa. Sobre la función biológica de VEGF se sabe que es un potente agente mitogénico para células endoteliales, por lo que favorece la angiogénesis en la cicatrización de la herida (Gale & Yancopoulos, 1999; Tsou et al., 2002).

- **ANGIOPOYETINA.** Además de los VEGFs, la angiopoyetina comprende una segunda familia de FC cuya función es la regeneración del endotelio vascular. Se conocen cuatro isoformas de esta molécula que se unen a cuatro receptores que poseen un dominio transmembrana con actividad tirosina-quinasa, que exclusivamente se encuentran en las células endoteliales. Las isoformas Angiopoyetina-1 y -4, son activadoras de los receptores, mientras que las isoformas -2 y -3 se sospecha que bloquean los receptores (Werner & Grose, 2003).

A diferencia de VEGFs, la angiopoyetina no regula la proliferación de las células endoteliales; sin embargo, la angiopoyetina-1 es responsable de la estabilización de los vasos sanguíneos, mientras que la angiopoyetina-2 causa desestabilización y remodelación (Gale & Yancopoulos, 1999).

- **IGF (Insulin-like Growth Factor).** EL IGF comprende a una familia de polipéptidos con una estructura similar a la hormona insulina. Son potentes estimuladores de mitogénesis de muchos tipos de células y ejercen su función a través de mecanismos autocrinos, paracrinos o endocrinos. Sus acciones están mediadas a través de la conexión con los receptores IGF tipo I, a una proteína tirosina-quinasa cuya estructura es similar a la de los receptores de insulina. Existen dos tipos de IGFs: IGF-I e IGF-II. La

isoforma IGF-I es más potente que la IGF-II, aunque esta última sea más abundante (Cheung et al., 2003).

Los IGFs son secretados fundamentalmente por el hígado en respuesta a la hormona del crecimiento (GH), por las células de la epidermis, por los osteoblastos y por otras células de tejidos no esqueléticos. Se conoce que su secreción se ve incrementada por los FC locales y hormonas (Gh, estrógenos, progesterona) mientras que los glucocorticoides tienen un efecto inhibitorio. La vida media de una IGF es muy corta. *In vivo* las IGFs están ligadas a proteínas complejas (IGFBPs), describiéndose hasta seis IGFBPs diferentes (tipo I-tipo VI). Desde el tipo II al Tipo VI están producidas por los osteoblastos (Bitar, 2000).

El IGF-I y el IGF-II estimulan la proliferación celular osteoblástica y la síntesis de colágeno tipo I. Las IGFs son muy abundantes en el hueso y regulan la formación ósea de una forma autocrina y paracrina. Varios estudios han puesto de manifiesto un efecto beneficioso del IGF-I en la cicatrización de las heridas, en particular en combinación con otros FC (Jeschke et al., 1999; Lynch, Colvin, & Antoniades, 1989).

- **SF (Scatter Factor).** La familia de los factores de dispersión está compuesta por dos miembros: el factor de crecimiento derivado del hepatocito (HGF/SF) y la proteína estimulante de los macrófagos (MPS). Ambos son secretados como precursores inactivos (Comoglio & Boccaccio, 2001).

El HGF es producido por las células mesenquimales y sus funciones las realiza a través de una conexión de alta afinidad con el receptor transmembrana tirosina-quinasa, presente en diversos tipos de células, denominado Mesenchymal-Epithelial

Transition Factor (MET). Esta molécula estimula la migración, la proliferación y la producción de queratinocitos (Dunsmore et al., 1996; Matsumoto, Hashimoto, Yoshikawa, & Nakamura, 1991), así como la angiogénesis (Bussolino et al., 1992), por tanto juega un papel importante en la cicatrización de heridas. Este efecto sobre la angiogénesis en la herida parece ser mediado a través de VEGF-A, según se ha podido comprobar en ratones (Toyoda et al., 2001).

La MPS es una proteína que regula la proliferación y diferenciación de diversos tipos de células. Al ser una proteína inactiva que requiere ser activada y unido al hecho de que sus receptores están presentes en diferentes células como los macrófagos y queratinocitos, es por lo que se ha sugerido su participación en la reparación de heridas (Werner & Grose, 2003).

- **NGF (Nerve Growth Factor).** El factor de crecimiento nervioso (NGF) es un polipéptido que además de su función protectora de las fibras nerviosas del sistema nervioso central y periférico, desempeña un papel clave en la iniciación y mantenimiento de la inflamación en diversos órganos; estimula la proliferación celular e inhibe la apoptosis de los queratinocitos *in vitro* (Pincelli, 2000), aumenta la expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales (Raychaudhuri, Raychaudhuri, Weltman, & Farber, 2001), tiene un potente efecto sobre la migración de fibroblastos a la zona de la herida y aumenta la expresión de actina en el músculo liso, así como la contracción de estas células. Esto ha sugerido que quizás el NGF puede actuar regulando diversos procesos durante la cicatrización de heridas cutáneas (Micera et al., 2001).

- **CTGF (Connective Tissue Growth Factor).** El factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) es un miembro más de una familia de proteínas que, junto con el cysteine-rich 61 (cyr61), actúan en el proceso de reparación de heridas.

El CTGF es sintetizado por muchos tejidos y órganos y su función es la estimulación y proliferación de fibroblastos y el aumento de la quimiotaxis (Bradham, Igarashi, Potter, & Grotendorst, 1991). Además es un importante inductor de matriz extracelular, aumentando el colágeno tipo I y la fibronectina, y actúa como mediador del TGF- β 1 en el proceso de cicatrización (Kothapalli, Frazier, Welply, Segarini, & Grotendorst, 1997).

En estudios *in vitro* se ha demostrado la capacidad de cyr61 para la regulación de la inflamación, la angiogénesis y la interacción de las células con la matriz (C. C. Chen, Mo, & Lau, 2001).

2.3. Citoquinas.

Las citoquinas son polipéptidos secretados por linfocitos, macrófagos, células endoteliales, hepatocitos, células glias y otros tipos celulares que poseen actividad hormonal y por lo general, actúan de una forma paracrina regulando diferentes respuestas inmunitarias, regulando actividades celulares y participando como mediadoras de diversos procesos.

2.3.1. Citoquinas que intervienen en la cicatrización de heridas.

Las citoquinas son moléculas activas que participan en el proceso de cicatrización de heridas, ya que estimulan la migración de múltiples tipos de células a la zona de la herida, particularmente las células implicadas en la respuesta inflamatoria. Además, la presencia de receptores de citoquinas en determinadas células de la zona de la herida sugiere que también contribuyen a la regulación de la reepitelización, la remodelación de tejidos, y la angiogénesis. Entre ellas podemos destacar las interleuquinas (IL), las linfoquinas y varias moléculas relacionadas con la señalización, tales como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) y los interferones (Raja, Sivamani, Garcia, & Isseroff, 2007).

Existe un grupo de citoquinas denominadas quimiocinas (citoquinas quimiotácticas) que estimulan la quimiotaxis y extravasación de leucocitos en las heridas. Este grupo está compuesto por una gran familia de 50 moléculas que se subdividen en 4 subfamilias, dependiendo de si las dos primeras cisteínas de su estructura molecular están o no separadas por otro aminoácido, de esta forma se dividen en las quimiocinas CXC (cis-X-cis), las quimiocinas CC (cis-cis), las quimiocinas CX3C o linfotactinas, y las C-quimiocinas o fractalquinas (Barrientos et al., 2008).

En general las CXC son potentes quimioatrayentes para neutrófilos mientras que las CC atraen más eficientemente a los monocitos. Dado que las respuestas inflamatorias se inician con la migración de estas células hacia el foco inflamatorio, dirigidas por la acción de las quimiocinas, estas moléculas son altamente inducibles en una amplia variedad de células por estímulos proinflamatorios como el LPS bacteriano, la IL-1, el TNF- α o el IFN- γ . Algunas CC son también potentes atrayentes de eosinófilos, basófilos, macrófagos, mastocitos y células T memoria, iniciando así una respuesta inflamatoria como consecuencia de una

respuesta inmune específica en la zona de la herida (DiPietro, Polverini, Rahbe, & Kovacs, 1995; Wetzler, Kämpfer, Stallmeyer, Pfeilschifter, & Frank, 2000). Además, se ha detectado la presencia de receptores de quimiocinas en las células del tejido reepitelizado, lo que sugiere que también participan en la remodelación del tejido epitelial y en la angiogénesis. Todo ello hace pensar que las quimiocinas participan en el proceso de cicatrización de heridas cutáneas de una manera activa (Gillitzer & Goebeler, 2001).

En relación con la IL-8, esta citoquina se expresa en las heridas cutáneas, provocando una respuesta inflamatoria por un efecto quimiotáctico. No obstante, su papel a nivel de la cicatrización de la herida no está claro. Mientras unos estudios muestran que esta citoquina inhibe la proliferación de los queratinocitos y la contracción del colágeno, lo que sugiere que niveles elevados de IL-8 retrasan la cicatrización de la herida (Iocono et al., 2000), otros estudios ponen de manifiesto que la IL-8 promueve la proliferación de los queratinocitos *in vitro* (Rennekampff et al., 2000).

Las citoquinas proinflamatorias, incluyendo la IL-1- α , la IL-1- β , las IL-6 y TNF- α , desempeñan procesos como la estimulación de la proliferación de queratinocitos y fibroblastos, quimiotaxis de fibroblastos, regulación de la respuesta inmune y la síntesis y estructuración de matriz extracelular. Los polimorfonucleares, los macrófagos y los leucocitos expresan estas moléculas, además de otros tipos celulares en la herida cutánea, y se conoce que los glucocorticoides inhiben la expresión de estas citoquinas proinflamatorias (Feiken, Rømer, Eriksen, & Lund, 1995).

La IL-10 regula y limita el proceso de inflamación, por ello es una citoquina antiinflamatoria que también participa en el proceso de cicatrización. Además regula el

crecimiento y/o diferenciación de las células inmunológicas implicadas, queratinocitos y células endoteliales en la herida (Moore, de Waal Malefyt, Coffman, & O'Garra, 2001).

El factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF) es una citoquina pleiotrópica que, además de su efecto sobre las células hematopoyéticas, muestra una acción mitogénica para los queratinocitos (Kawada et al., 1997) y es capaz de estimular la migración y proliferación de las células endoteliales, desempeñando un papel importante en la cicatrización de heridas (Groves & Schmidt-Lucke, 2000).

En la tabla 2 se exponen las citoquinas más relevantes y su mecanismo de acción en las úlceras.

Tabla 2. Tipos de citoquinas y su mecanismo de acción en el proceso de cicatrización de las úlceras (Marinel-lo Roura, 2005).

TIPOS DE CITOQUINAS	ACCIÓN
IL-1	Precursor de IL-2 e IL-2R en los linfocitos T
IL-2	Proliferación de linfocitos T y B
IL-3	Proliferación de prelinfocitos
IL-4	Proliferación de linfocitos
IL-5	Activación de linfocitos B. Incremento de eosinófilos
IL-6	Activación de reactantes en fase aguda
IL-7	Proliferación de linfocitos T inmaduros
IL-8	Quimiotactismo para polinucleares
IL-9	Incremento de linfocitos T
IL-10	Incremento de mastocitos y timocitos
IL-11	Incremento de prelinfocitos
IL-12	Células NK
IL-13	Activación/inhibición de TNF- α
IL-14	Proliferación de linfocitos B
IL-15	Proliferación de linfocitos T
IL-16	Bloqueo de CD4R
IL-17	Proinflamatoria. Incremento de óxido nítrico
GM-CSF	Activación de granulocitos y macrófagos
TNF- α	Activación de leucocitos
TNF- β	Incremento de la linfotoxicidad
TGF- α	Proliferación de queratinocitos
TGF- β	Incremento de la quimiotaxis
IFN- γ	Activación de macrófagos

3. PROCESO DE REPARACIÓN TISULAR

La lesión de un tejido activa una serie de acontecimientos que se inician desde el mismo momento de la lesión y que forman parte del proceso de cicatrización. Este proceso puede dividirse de forma amplia en regeneración y reparación (Kumar, Abbas, Fausto, & Aster, 2009): La regeneración permite la recuperación completa del tejido dañado o lesionado, mientras que la reparación puede recuperar algunas estructuras originales, ocasionando algunas alteraciones estructurales.

La regeneración se refiere a la proliferación de células y tejidos para reemplazar estructuras perdidas; cuando se trata de tejidos complejos a veces este proceso no puede producirse y es entonces cuando se produce la reparación.

En la reparación, la proliferación de las células viene regulada por mecanismos de señalización celular entre los FC y los receptores, que tienen capacidad incluso para modificar el ciclo celular.

Si la lesión del tejido es grave o crónica, y resultan dañadas las células parenquimatosas y el soporte estructural del tejido, como es el caso de las heridas crónicas profundas, no será posible la curación mediante regeneración, sino que será posible mediante la reparación por el depósito de colágeno y otros componentes de la matriz extracelular, causando la formación de una cicatriz. En contraste, con la regeneración que implica la restitución de los componentes del tejido, la reparación es una respuesta fibroproliferativa que “parchea” el tejido en lugar de recuperarlo. En la mayor parte de los procesos de cicatrización se produce una combinación de reparación y regeneración (Kumar et al., 2009).

Durante el proceso biológico de cicatrización de heridas se pueden distinguir dos tipos de procesos de reparación: por segunda intención; es decir, cuando la pérdida de células o tejido es extensa y la reparación precisa de un intervalo temporal más amplio, este proceso de reparación es más complejo, que el proceso de reparación por primera intención, donde se realiza una aproximación de los bordes de la herida mediante sutura quirúrgica y la pérdida de la piel sólo causa una interrupción focal de la continuidad de la membrana basal epitelial y la muerte de un número relativamente escaso de células epiteliales y de tejido conjuntivo .

El proceso de cicatrización de heridas cutáneas se divide en 3 fases diferenciadas que son: fase de hemostasia e inflamación, fase proliferativa y fase de maduración y remodelación (Broughton, Janis, & Attinger, 2006).

3.1. Fase de hemostasia e inflamación.

Toda esta fase tiene lugar desde el momento de la lesión hasta el día 4-6. Cuando se produce un daño en los tejidos, los vasos sanguíneos resultan afectados, y es en estos donde se inicia el proceso de cicatrización mediante una serie de mecanismos que se ponen en marcha para producir un coágulo hemostático. Este primer proceso, el de hemostasia y coagulación, es un proceso que tiene lugar gracias a la cascada de los factores de la coagulación, tanto por la vía extrínseca (activada por los extractos de tejido expuestos en la zona lesionada y que activa al Factor XII), como por la vía intrínseca (la cual activa el Factor VII por la presencia de colágeno expuesto y los cambios en la membrana basal del endotelio lesionado). Ambas vías activan el Factor X_a que será el responsable de activar la vía común

que termina con la conversión del fibrinógeno en fibrina. Al mismo tiempo que ocurre la cascada de la coagulación, los vasos lesionados mantienen un estado de vasoconstricción que dura en torno a 5-10 minutos, y se lleva a cabo la agregación y degranulación plaquetaria, consiguiendo así reducir la pérdida de sangre y llenar el hueco del tejido lesionado con un coágulo de sangre formado por citoquinas y FC, entre otros (Martin, 1997; Reinke & Sorg, 2012).

Una vez transcurrido este tiempo en el que se ha mantenido la vasoconstricción, se produce una vasodilatación que aporta mayor flujo sanguíneo y con ello una mejora de oxígeno que regula el pH y a su vez aporta nuevas plaquetas a la zona del coágulo hemostático. Estas plaquetas, al degranularse, aportan nuevos factores quimiotácticos, como el GM-CSF, que atrae a los leucocitos, y también aportan citoquinas como la IL-1, la IL-6 o el TNF- α que estimularán el proceso inflamatorio, el inicio de los sucesivos procesos de síntesis de colágeno, la activación de la transformación de los fibroblastos a miofibroblastos o la de la angiogénesis. Esta vasodilatación puede ser reconocida por una hiperemia local y edema perilesional. (Robson, Steed, & Franz, 2001; Werner & Grose, 2003).

La fase inflamatoria, que se activa durante la fase de hemostasia y coagulación, se caracteriza por la migración de neutrófilos a la herida. La función de los neutrófilos es crucial en los primeros días después de la lesión debido a su capacidad de fagocitosis, a la secreción de proteasas antimicrobianas y a la degradación del tejido necrótico. Por otra parte, actúan como quimioatrayentes para otras células que están implicadas en esta fase ya que los neutrófilos liberan mediadores tales como el TNF- α , la IL-1 β o la IL-6, que amplifican la respuesta inflamatoria y estimulan el VEGF y la IL-8 (Eming, Krieg, & Davidson, 2007). Los macrófagos son una de las células más activas en la fase inflamatoria y tienen funciones

como la de promoción y resolución de la inflamación o la de eliminación de células apoptóticas. Junto a las funciones inmunológicas como células presentadoras de antígenos durante la reparación de heridas, los macrófagos desempeñan un papel importante en el éxito de la reparación de la herida ya que sintetizan numerosos FC tales como el TGF- β , el TGF- α , el PDGF o el VEGF, que promueven la proliferación celular y la síntesis de moléculas de la matriz extracelular que serán cruciales para las sucesivas fases del proceso de reparación (Koh & DiPietro, 2011).

3.2. Fase proliferativa.

Esta fase se desarrolla transcurridos 3 días después de que comience la fase de hemostasia y coagulación y perdura hasta el día 10. En esta fase los fibroblastos juegan un papel importante ya que serán las principales células que, bajo el control y la regulación de FC como el IFN- γ y el TGF- β , construyan una nueva matriz de tejido conectivo compuesto de colágeno, fibronectina y otros elementos de soporte que provoquen el cierre de la herida (Bauer, Bauer, & Velazquez, 2005).

La migración de los fibroblastos se realiza desde el tejido sano circundante hasta la matriz de fibrina que se construyó en la fase de hemostasia, además, aparece un aumento de la proliferación de los fibroblastos debido a la estimulación por parte de los FC contenidos en dicha matriz, como el TGF- β 1, el PDGF, el FGF, el EGF o el VEGF, que activan la mitosis celular produciendo el tejido de granulación. La migración de los fibroblastos se hace posible ya que determinadas enzimas y proteasas séricas como la plasmina o la colagenasa, sumadas a otras que secreta el propio fibroblasto, facilitan el desplazamiento

celular. Esta degradación proteolítica es regulada por el factor TGF- β , el cual induce la secreción de inhibidores de las proteinasas (Reinke & Sorg, 2012).

Una vez los fibroblastos alcanzan la matriz de fibrina y proliferan, comienzan a fabricar una nueva matriz cuya base será el colágeno, además de la fibronectina y el ácido hialurónico, y que estará regulada por el IFN- γ (Clark, Folkvord, Hart, Murray, & McPherson, 1989).

Otro de los procesos que ocurren de forma paralela a la proliferación de los fibroblastos es el proceso de angiogénesis. La activación de la mitosis de las células endoteliales, de los vasos lesionados, se realiza mediante FC como el VEGF, el PDGF o el FGF. Esta activación del proceso provoca en las células endoteliales, la síntesis de proteasas locales que son capaces de disolver la lámina basal de endotelio para poder migrar y proliferar. De esta forma se construyen pequeños canales que se interconectan entre sí formando una red vascular por la que circulará el torrente sanguíneo aportando nuevos FC; resultando un tejido denso que se compone de un alto número de fibroblastos, granulocitos, macrófagos y pequeñas redes vasculares inmersas en una red de colágeno (Sorg, Krueger, & Vollmar, 2007).

La reorganización de los componentes de la matriz, así como la maduración de los fibroblastos hacia miofibroblastos son esenciales para finalizar la etapa de proliferación (Hinz, 2007).

3.3. Fase de re-epitelización y remodelación.

Esta fase comienza el día 8 y puede llegar a un año, dependiendo del grado de la

lesión. La epitelización se logra gracias al crecimiento de los queratinocitos locales del borde de la herida. Este proceso es activado por las vías de señalización de diferentes células epiteliales y no epiteliales del borde de la herida, las cuales liberan citoquinas y FC como el EGF, el KGF, el IGF-1 o el NGF (Lau, Paus, Tiede, Day, & Bayat, 2009). Para que los queratinocitos puedan migrar y cubrir por completo la herida es necesario un cambio en su fenotipo que consiste fundamentalmente en una retracción de sus tonofilamentos y el desarrollo de filamentos de actina, cuya activación se logra mediante la IL-1, resultando una célula con mayor capacidad proliferativa y migratoria (Jacinto, Martinez-Arias, & Martin, 2001).

La proliferación ocurre en forma superpuesta a la migración, es decir, mientras las células epiteliales migran a través de la herida, las células proximales proliferan por el estímulo de FC solubles como el EGF, el TGF- α , el PDGF o el FGF. Para que el queratinocito finalice su proliferación y migración es necesario que intervengan FC, como el IFN- γ , el cual lo estimula para secretar citoqueratina que hará al queratinocito más contráctil, o el TGF- β que lo estimula a secretar queratina que lo convertirán en una célula basal (Reinke & Sorg, 2012).

El proceso de remodelación es el último paso de la cicatrización. Este proceso comienza con la apoptosis de los miofibroblastos para frenar la formación del tejido de granulación y con la reestructuración de los componentes de la matriz extracelular. El colágeno tipo III sintetizado en la fase proliferativa es reemplazado por el colágeno tipo I que es más fuerte, el cual se orienta de forma paralela en pequeños paquetes (Urken, 2003). Posteriormente los miofibroblastos comienzan un proceso de contracción que disminuye el tamaño de la herida, a la vez que el proceso de angiogénesis disminuye y se

ralentiza el aporte de flujo sanguíneo a la herida, disminuyendo por tanto el aporte de proteínas de señalización, con lo que se da por concluido el proceso de cicatrización (Tziotzios, Profyris, & Sterling, 2012).

4. PLASMA RICO EN PLAQUETAS

Como hemos visto, los FC son moléculas activas que participan en los procesos de reparación tisular (Anitua et al., 2006). Las propiedades de los FC han sido motivo suficiente para que la comunidad científica se motive a investigar el potencial curativo de estos factores. Todo este interés surge de los estudios de Knighton y cols., quienes descubrieron en 1982, precisamente este potencial (Knighton, Hunt, Thakral, & Goodson, 1982); le siguen los estudios de Singh y cols. en 1982 (Shih, Rees, Miller, Wright, & Iacopino, 1996), de Antonaides y Williams en 1983 (Antoniades & Williams, 1983), Bowen-Pope y cols. en 1984 (Bowen-Pope, van Koppen, & Schatteman, 1991) y los de Ross y cols. en 1986 (Ross, Raines, & Bowen-Pope, 1986); estos estudios han aportado muchos datos sobre los FC y la curación en el tejido óseo. Un estudio clave realizado por Marx y cols. (Marx et al., 1998), demostró que la combinación de concentrados plaquetarios con una mezcla que contenía cloruro de calcio al 10% y trombina bovina como agente gelificante, favorecía la reconstrucción mandibular. A partir de estos estudios, otros muchos autores han intentado profundizar en este campo y se han descrito diferentes métodos de obtención de concentrados de plasma para la curación de un proceso lesivo.

Hoy conocemos que el proceso de curación de heridas es un proceso complejo en el que intervienen diferentes FC, algunos de ellos liberados por las plaquetas, las cuales

cumplen un papel muy importante en este proceso curativo, liberando un potente arsenal de sustancias mitogénicas e inflamatorias (Diegelmann & Evans, 2004).

4.1. Definición.

El plasma rico en plaquetas (PRP) se puede definir como concentrado de plasma sanguíneo que se prepara a partir de sangre del mismo paciente (plasma autólogo) al cual se le va a aplicar. Este plasma contiene una concentración de plaquetas muy superior a los valores basales, aproximadamente 1.000.000 plaquetas/ μ l, entendiendo como valor medio de plaquetas plasmáticas unas 200.000 plaquetas/ μ l (Marx, 2001). Esta concentración (1.000.000 plaquetas/ μ l) es la idónea para asegurar un aporte óptimo de FC a la zona lesionada en la que se desea que se produzca la reparación de tejido óseo y tejidos blandos, ya que por debajo de este rango, el efecto no es el óptimo y por encima de este rango, puede haber un efecto inhibitorio (Marx, 2001; Weibrich, Hansen, Kleis, Buch, & Hitzler, 2004).

El elevado número de plaquetas que se concentran en el PRP, aumenta el contenido de FC en este medio, mediante la degranulación. A diferencia de los FC recombinantes, los que contiene el PRP autólogo son nativos dentro de un coágulo que actúa de medio y que además se compone de vitronectina, fibronectina y fibrina; siendo estas últimas, unas moléculas de adhesión celular que se encuentran en la matriz extracelular. Otra ventaja es que al ser un concentrado totalmente autólogo se evitan los posibles efectos tóxicos y las enfermedades transmisibles como son la hepatitis y el VIH (Marx, 2001).

4.2. Plaquetas.

Las plaquetas, son fragmentos anucleares (porciones citoplasmáticas) que derivan de los megacariocitos de la médula ósea. Su formación se produce tras una serie de etapas, en las que las prolongaciones de los megacariocitos se dividen dando lugar a las plaquetas. La forma de las plaquetas en su estado normal es discoide y su tamaño ronda entre 1 y 3 μm de diámetro. Su concentración normal en sangre periférica humana oscila entre 150.000 y 400.000 plaquetas/ μl ó de 1,5 a 4 x 10⁶ plaquetas/ml.

Cuando se produce una lesión en la piel, las plaquetas inician el proceso hemostático taponando los vasos dañados. Este proceso se inicia cuando se une la membrana plaquetaria al factor de Von Willebrand a través de la glicoproteína Ib (GP-Ib-IX) y la integrina GP-IIb-IIIa, a través de la cual, la plaqueta se une al colágeno expuesto de la pared vascular y al subendotelio dañado iniciando así la adhesión plaquetaria. Desde este momento la plaqueta cambia su forma, para pasar a ser esférica, con unos filamentos denominados pseudópodos que la ayudarán a agregarse y adherirse entre sí mediante una redistribución de los receptores (Anitua, 2001a). Esta agregación plaquetaria se produce por la unión entre las glicoproteínas de membrana plaquetaria, por puentes de fibrinógeno, y será la responsable de la formación de un trombo.

Las plaquetas contienen tres grandes compartimentos de almacenamiento que son los gránulos alfa, los gránulos densos y los lisosomas (Rendu & Brohard-Bohn, 2001). Estos gránulos secretores contienen FC, proteínas para la coagulación, moléculas de adhesión celular, moléculas de activación, citoquinas, y moléculas inflamatorias, entre otras (Rozman & Bolta, 2007). La mayoría de estas moléculas son contenidas en los gránulos alfa.

Tras los episodios de agregación se produce una degranulación con la liberación del contenido de los gránulos alfa (Weibrich, Kleis, Hafner, & Hitzler, 2002). Esta activación plaquetaria o degranulación puede realizarse por varios mecanismos, los más potentes son la adhesión de las plaquetas al colágeno y al subendotelio, o también la presencia de trombina. Esta degranulación se hace posible por la activación de las fosfolipasas de la membrana celular que promueven la liberación de iones Ca^{++} , los cuales por sí solos producen agregación y secreción. En la degranulación plaquetaria se libera tromboxano A₂, adenosindifosfatos (ADP) y serotonina que estimulan el reclutamiento y activación de las plaquetas circundantes. Después de activarse las plaquetas se liberan nuevos factores agregantes, que, junto con la fase plasmática de la coagulación, van a originar la formación de trombina y posteriormente la sustitución del fibrinógeno soluble por la red de fibrina.

La utilidad del concentrado de plaquetas se debe justamente a la posibilidad de utilizar una gran cantidad de FC que se secretan *in situ* en el lugar de la lesión (Marx et al., 1998).

4.3. Plasma rico en plaquetas (PRP) y plasma rico en factores de crecimiento (PRGF).

El PRP y el PRGF son dos conceptos distintos, si bien es común que se usen indistintamente. El PRP, contiene la fracción rica en plaquetas del plasma en donde las plaquetas no están activadas ni agregadas, por lo que el contenido de los gránulos alfa no se ha liberado. Tras la activación se producirá la degranulación y pasaremos a tener una concentración elevada de FC, es entonces cuando tenemos plasma rico en FC (PRGF). Por

tanto partimos de plasma rico en plaquetas (PRP) que por activación plaquetaria con cloruro cálcico convertiremos en plasma rico en FC (PRGF) (Marx, 2001).

Para la preparación del PRP se necesita la extracción de sangre periférica del paciente utilizando como anticoagulante el citrato sódico. Posteriormente se centrifuga para separar la fracción rica en plaquetas; tras este procedimiento obtendremos tres fracciones separadas por su densidad, tal y como describe Anitua, (2001b):

- La primera fracción, la superior, es la que contiene plasma pobre en plaquetas (PPP).
- La porción intermedia contiene un número de plaquetas similar al basal (plasma plaquetario) (PP).
- Y la última, la inferior, situada justo encima de la serie blanca, es la fracción que contiene el PRP.

4.4. Utilidad clínica del PRP.

Actualmente el PRP está teniendo diversas aplicaciones clínicas y de formas muy diferentes. Cabe destacar que los resultados encontrados en la literatura son muy distintos dependiendo de cómo se aplica y qué protocolo se sigue. Lo cierto es que son muchos los estudios que analizan la utilidad de los FC de las plaquetas para mejorar los procesos de cicatrización de tejidos. Por lo que hoy día se ha extendido su utilización en muy diferentes campos clínicos con resultados satisfactorios.

4.4.1. Odontología y cirugía maxilofacial.

Es en el área de la cirugía maxilofacial y odontología donde se han realizado más estudios y se han obtenido más resultados positivos. Fue Whitman et al (Whitman, Berry, & Green, 1997) quienes utilizaron por primera vez el PRP en cirugía oral y maxilofacial como coadyuvante a la colocación de implantes de titanio. Posteriormente, se comprobó la utilidad del PRP autólogo durante la reconstrucción de defectos mandibulares, ya que los FC contenidos en las plaquetas, como el PDGF y TGF- β , al ser absorbidos por los injertos óseos, aceleran la formación de hueso (Marx et al., 1998). Posteriormente, han sido numerosos los estudios realizados en modelos animales y en humanos, que han puesto de manifiesto la utilidad de los FC como del plasma autólogo en la regeneración de tejidos de la cavidad oral (Lynch et al., 1989; Rutherford, Niekrash, Kennedy, & Charette, 1992; Rutherford, Ryan, Kennedy, Tucker, & Charette, 1993; A. R. Sánchez, Sheridan, & Kupp, 2003), evidenciando su utilidad como terapia fácil y segura (Camargo et al., 2002; Carlson & Roach, 2002; Garg, 2000; Kim, Chung, Kim, Park, & Lim, 2002).

4.4.2. Cirugía Plástica.

Es en el campo de la cirugía plástica en donde los resultados se han mostrado más convincentes demostrando la capacidad del PRP para la curación de diferentes tipos de heridas. Bhanot y Alex (2002) describen que el PRP autólogo es especialmente útil para la cirugía plástica y reparadora de los tejidos blandos ya que es en estos tejidos donde los FC acentúan sus efectos potenciadores de la cicatrización. En este sentido, se ha utilizado en cirugía reparadora de piel y pérdida de tejido blando causadas por traumatismos o

patologías crónicas. Otro de los efectos beneficiosos observados al ser aplicado en dichas situaciones es que reduce el riesgo de infección y acelera la cicatrización. Otro aspecto no menos importantes es que su uso disminuye los costes sanitarios al reducir la estancia hospitalaria del paciente (Valbonesi, Giannini, Migliori, Dalla Costa, & Galli, 2002).

Otra de las aplicaciones estudiadas del PRP ha sido en cirugía estética al mostrarse eficaz para detener el sangrado capilar en la cirugía de colgajos (Man, Plosker, & Winland-Brown, 2001).

4.4.3. Traumatología y Ortopedia.

Es en el campo de la traumatología y cirugía ortopédica donde existen más controversias en el uso de PRP. Aunque son muy numerosos los estudios en este campo, nosotros no tenemos constancia de ninguna publicación con suficiente consenso para aportar conclusiones definitivas. Actualmente no hay suficientes pruebas sobre la actividad biológica y la concentración de plaquetas necesaria para determinar una respuesta biológica acelerada por la aplicación de PRP en hueso.

Mientras que ciertos estudios en humanos, muestran que el efecto del PRP asociado a injertos óseos, parece no aumentar la formación ósea (Roldán et al., 2004; Schlegel, Kloss, Schultze-Mosgau, Neukam, & Wiltfang, 2003; Wiltfang et al., 2004), los cuales están en consonancia con los obtenidos en modelos caninos en los que tampoco se observó un aumento notable del crecimiento óseo debido a la aplicación del PRP (Choi et al., 2005). Otros estudios *in vitro* revelan que los FC derivados de las plaquetas estimulan la proliferación de células formadoras de hueso trabecular humano (Gruber, Varga, Fischer, &

Watzek, 2002). Un aspecto importante a señalar es que la acción del PRP *in vitro* sobre fibroblastos y osteoblastos depende de una concentración específica para mostrarse eficaz. En este sentido, Graziani et al. (2005) en estudios *in vitro*, describen que el PRP tiene efecto sobre la capacidad proliferativa de los osteoblastos y fibroblastos, la cual varía según el rango de concentración utilizado.

Estudios recientes sobre los efectos de los distintos componentes moleculares del PRP, en su conjunto e individualmente, sobre la proliferación celular y la migración de macrófagos humanos en cultivos celulares, sugieren una inhibición de la migración con los efectos negativos que conlleva este hecho en la cicatrización, en contraposición con los efectos pro-estimuladores en células como los osteoblastos, fibroblastos y otras células (Woodall, Tucci, Mishra, & Benghuzzi, 2007).

El PRP también se ha mostrado útil en la reparación de tendones y ligamentos humanos, como consecuencia de su acción, la cual produce un incremento significativo de la proliferación de las células tendinosas humanas y estimulación de la producción de factores angiogénicos como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento derivado del hepatocito (HGF) (Anitua et al., 2005, 2007). Entre los datos publicados señalaremos, cómo la inyección de PRP autólogo en cirugía de rodilla, puede facilitar la reconstrucción del ligamento cruzado anterior y ayudar en el reanclaje de un fragmento condral mayor de 2 cm mediante técnica artroscópica, obteniendo una curación completa y acelerada, con un buen resultado funcional (A. R. Sánchez, Sheridan, Eckert, & Weaver, 2005; A. R. Sánchez et al., 2003). También se ha observado que su inyección en el tendón extensor común después de que éste se suture, favorece la reconstrucción de las fibras y alivia el dolor (Mishra & Pavelko, 2006; M. Sánchez et al., 2007).

4.4.4. Cirugía Ocular.

Un nuevo uso potencial del PRP es su aplicación en el campo de la cirugía ocular. Estudios realizados sobre la aplicación de plasma en la cirugía de la retina han aportado resultados positivos, observándose un aumento de la proliferación celular en heridas provocadas en la retina (Cullinane, O'Callaghan, McDermott, Keohane, & Cleary, 2002; Paques et al., 1999). Otros enfoques de interés han sido la aplicación de esta metodología en la regeneración del nervio periférico en modelo de rata. El gel plaquetario se ha aplicado después de realizar la sutura de los nervios, colocándose justo encima de la sutura, con resultados muy favorables (Farrag, Lehar, Verhaegen, Carson, & Byrne, 2007).

4.4.5. Gastroenterología.

El PRP también ha sido estudiado en el campo de la gastroenterología, en este sentido se han realizado estudios en el tratamiento de úlceras gástricas en ratas, a las que se les ha administrado una dosis oral de PRP humano obteniendo datos esperanzadores en la curación de la úlcera (Wallace, Dickey, McKnight, & Dudar, 2006).

4.4.6. Úlceras Cutáneas.

Ya desde 1990, se propuso la utilización de PRP autólogo, para la curación de úlceras cutáneas y así favorecer la formación de tejido de granulación. Este producto se comenzó a utilizar en las úlceras crónicas de miembros inferiores. El PRP utilizado era conocido como factor plaquetario derivado de la cicatrización de las heridas. El mecanismo por el que se

explica su efecto es mediante la estimulación de la vascularización y formación del tejido conectivo (Atri, Misra, Bisht, & Misra, 1990; Knighton et al., 1988; Krupski et al., 1991).

Actualmente los estudios realizados no son concluyentes y hay una cierta controversia sobre la utilidad del PRP en el tratamiento de las úlceras crónicas; mientras unos autores muestran que la aplicación tópica de lisados de plaquetas en las úlceras no influyen en la curación (Stacey, Mata, Trengove, & Mather, 2000), otros estudios justifican justo lo contrario (Anitua et al., 2008), tras la aplicación de PRP en diferentes tipos de úlceras cutáneas, entre las que se incluye las UPP, el porcentaje de superficie cicatrizado es significativamente más alto que en el grupo que reciben un tratamiento estándar. Así mismo, otros autores (Tarroni et al., 2002) muestran la utilidad de un gel de plaquetas, compuesto de una mezcla de concentrado plaquetario y de crioprecipitado activado en presencia de cloruro cálcico, el cual al ser aplicado sobre una úlcera crónica de pie diabético supuso su recuperación evitando su amputación.

En el caso de las UPP, un tipo de úlceras crónicas, son limitados los estudios que muestran la utilidad del PRP como alternativa en los cuidados y tratamiento de las mismas.

5. ÁCIDO HIALURÓNICO

El ácido hialurónico (AH), descrito por primera vez en 1934, es un glicosaminoglicano sulfatado no lineal, estructuralmente formado por una cadena larga que está compuesta por una unidad repetitiva de un disacárido que contiene D-glucurónico y D-N-acetilglucosamina. El número de unidades que se repiten dentro de la molécula de AH es el

que determina su peso molecular, que puede ir desde 100 kDa a 2000 kDa, y consta de más de 25000 unidades disacáridicas (Jiang, Liang, & Noble, 2007).

Las estructuras de AH cortas con un peso molecular alrededor de 200 kDa, provocan una respuesta en los macrófagos que se traduce en la expresión de mediadores de la inflamación (Hodge-Dufour et al., 1997), sin embargo, las estructuras más largas, con mayor peso molecular, juegan un papel importante en las propiedades mecánicas y en la organización de la matriz extracelular (W. Y. Chen & Abatangelo, 1999).

El AH es uno de los componentes de la matriz extracelular y está presente en distintos tejidos como piel, cartílago, hueso, líquido sinovial, entre otros, lo que sugiere un papel importante a nivel del tejido conectivo, a parte de conferir propiedades fisicoquímicas y visco elásticas al medio extracelular (Fraser, Laurent, & Laurent, 1997).

Su acción sobre las células se realiza por la interacción con su receptor específico, el CD44, el cual está presente en la membrana de los diferentes tipos celulares que componen el tejido conjuntivo. La interacción y unión del AH a su receptor celular provoca su internalización y posterior modulación de las funciones celulares (Croce et al., 2001). El papel del AH a nivel celular es atribuido fundamentalmente a los fragmentos de bajo peso molecular producido por escisión de los polímeros de alto peso molecular sintetizados por las células; y aunque tiene funciones pleiotrópicas, los datos son contradictorios y varían según el tipo celular. La principal vía de degradación se realiza por la acción de la enzima hialuronidasa, presente en el tejido conjuntivo (Fraser et al., 1997). La degradación del AH en su forma natural depende del tejido en particular en el que se encuentre, aunque generalmente ocurre en un corto espacio de tiempo que ronda los 3-5 días (Thibeault, Klemuk, Chen, & Quinchia Johnson, 2011).

La molécula es fácilmente soluble en agua, produciendo un gel que se comporta como un lubricante, y es capaz de absorber agua, lo que le hace tener propiedades higroscópicas y homeostáticas (Beasley, Weiss, & Weiss, 2009).

Desde el punto de vista clínico, el AH ha sido utilizado en neurocirugía y dermatología, dado que esta molécula y sus productos de degradación pueden modular la cicatrización de las heridas (Price, Berry, & Navsaria, 2007). Esto ha llevado a diversas investigaciones para demostrar la utilidad clínica del AH en lesiones cutáneas, defectos de cartílago, cultivo y regeneración de células de la glía o aumento de la motilidad espermática; si bien, en los últimos años su uso se ha incrementado de forma importante en cirugía plástica con fines estéticos (Carruthers & Carruthers, 2003).

5.1. Papel del AH en el proceso de cicatrización.

El papel del AH en el proceso de cicatrización es debido a su acción a distintos niveles, a nivel de la matriz extracelular o a nivel epitelial.

- **Regeneración de matriz extracelular.** La síntesis y deposición de colágeno por parte de los fibroblastos en el lugar de la lesión, es un condicionante importante para el soporte de la matriz extracelular y por tanto, en el proceso de cicatrización. Algunos estudios muestran que las moléculas largas de AH estimulan la proliferación de fibroblastos gingivales, hecho que se ha comprobado también a nivel *in vitro* (Mesa et al., 2002).

La aplicación de AH mejora la remodelación de la matriz extracelular, ya que reordena sus estructuras y favorece la deposición de colágeno. La aplicación de AH aumenta las hialuronidasas, las cuales degradan el AH a la vez que se favorece el proceso de cicatrización. Esto se debe, por una parte, a la síntesis de colágeno y AH por parte de los fibroblastos y por otra, a que los fragmentos compuestos entre 4 y 25 disacáridos, producto de la degradación del AH por el enzima, son angiogénicos (Price et al., 2007).

- **Regeneración epitelial.** La epitelización de una herida tiene lugar mediante la creación de tejido granular, el cual actúa de soporte para la migración de las células epiteliales. Son los queratinocitos presentes en el tejido de los bordes de la herida, los encargados de migrar y proliferar para formar ese tejido de granulación que sirve de base para la epitelización (Bartkova, Grøn, Dabelsteen, & Bartek, 2003).

En general el AH actúa a distintos niveles de la cicatrización de heridas favoreciendo este proceso; como así lo demuestran diferentes estudios realizados tanto *In vivo* como *In vitro* (Price et al., 2007).

Ya en 1991, Nishida et al. mostraron que el tratamiento *In vitro* de queratinocitos en cultivo aumentaba la proliferación celular, de igual modo el AH incrementaba la capacidad de crecimiento de las células corneales en cultivo, mostrando un efecto sinérgico con el EGF y la fibronectina. Además, sabemos que el AH se une a la molécula de fibronectina y estimula la migración epitelial en el lecho de la herida a través de su receptor, el CD44 (Lesley, Hyman, English, Catterall, & Turner, 1997; Oksala et al., 1995).

Otro de los mecanismos por los que el AH participa en la cicatrización, es mediante su interacción con el fibrinógeno, acelerando el proceso de formación del coágulo de fibrina inducida por la trombina. Aunque el nivel de AH es bajo en sangre, este mecanismo explica el significado funcional y estructural de este polisacárido durante la cicatrización (Weigel, Frost, McGary, & LeBoeuf, 1988).

5.2. Aplicaciones clínicas del AH.

El primer uso clínico del AH se produjo en 1968 cuando se aplicó como tratamiento en una quemadura (Fatini, Gallenga, & Veltroni, 1968). Desde ese tiempo a esta parte el AH se ha utilizado como tratamiento para la regeneración de tejidos, en ingeniería tisular, patologías epidérmicas, cirugía oftálmica o cirugía plástica (Carruthers & Carruthers, 2003; D'Alessandro, Russell, Morley, Davies, & Lane, s. f.; Pasonen-Seppänen et al., 2003; Pavesio et al., 2003).

La concentración de AH en la piel es de 500 $\mu\text{g/g}$ y 1400-3600 $\mu\text{g/g}$ en el líquido sinovial (Kuo, 2005). Ese AH en la piel está firmemente unido al colágeno y a los filamentos de queratina, por lo que su empleo en la piel dañada por diferentes causas ha tenido una respuesta positiva como cicatrizante e hidratante (Bertheim & Hellström, 1994).

En el campo de la cirugía oftálmica se ha utilizado en el trasplante y cirugía de córnea, operaciones de cataratas, trabeculotomías, cirugía de la retina, entre otros, mostrando en todas ellas buenos resultados (Gomes, Amankwah, Powell-Richards, & Dua, 2004; Lym, Suh, & Park, 2004; Prinz, Fennes, Buehl, & Findl, 2012).

En el campo de la traumatología, el AH ha mostrado buenos resultados en la artrosis y osteoartritis de rodilla, cadera y periartritis de hombro, actuando como lubricante en la articulación y como antiinflamatorio (Chang, Hsiao, Chen, Wang, & Chien, 2012; Fakhari & Berkland, 2013; Hascall et al., 2004; Jay, 2004)

El AH se ha utilizado en úlceras de pie diabético mejorando la cicatrización, ya que no produce ningún tipo de reacción adversa (Sobotka, Smahelova, Pastorova, & Kusalova, 2007). En el campo de las UPP, existen muy pocos estudios hasta la fecha. Estos estudios muestran que el AH se utiliza conjuntamente con otros materiales como por ejemplo, apósitos enriquecidos con FC y en forma de nanopartículas (Zavan et al., 2009), o con sulfadiazina argéntica en tratamientos para UPP infectadas (Paghetti, Bellingeri, Pomponio, Sansoni, & Paladino, 2009).

Aunque se sabe que es una molécula fácil de manejar, no inmunoreactiva y efectiva para el tratamiento en heridas, se necesitan más evidencias científicas, sobre todo, en el campo de las úlceras crónicas.

III. OBJETIVOS

Los objetivos propuestos son:

- Determinar la posible utilidad clínica del PRGF en el tratamiento de las UPP.
- Estandarizar la técnica de aplicación del PRGF con objeto de facilitar su aplicabilidad: procedimiento de preparación de la zona lesionada, pautas de tratamiento, seguimiento y dosis.
- Valorar la posible utilidad clínica de la asociación de PRGF y AH.
- Determinar *in vitro* el efecto del PRP sobre la capacidad de crecimiento de los fibroblastos a corto y largo plazo, así como, su efecto sobre el ciclo celular; utilizando cultivos primarios de fibroblastos humanos como modelo de tejido blando en reparación.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. ENSAYO CLÍNICO PARA DETERMINAR LA EFICACIA DEL PRGF EN EL CUIDADO DE LAS UPP

Nuestro estudio ha consistido en un ensayo clínico randomizado, a simple ciego. Antes de ser llevado a cabo dicho estudio, el proyecto fue presentado al comité ético del área de Granada, en la Fundación Pública Andaluza para la Investigación Biosanitaria de Andalucía Oriental (FIBAO). Una vez aprobado, fue presentado y defendido ante los responsables de los centros asistenciales, en los que potencialmente podía ser desarrollado el estudio, explicándose en detalle en qué consistía, al objeto de obtener el visto bueno para poder ser llevado a cabo.

1.1 Población de estudio.

La población de estudio estuvo compuesta por pacientes que presentaban UPP, y que estaban ingresados en las siguientes residencias de mayores o centros de larga estancia hospitalaria en Granada y provincia: Hospital San Rafael (Granada), Residencia Perpetuo Socorro (Santa Fé), Residencia Entreáramos (Atarfe), Residencia Fonseca (Peligros) y Centro Psicopedagógico Reina Sofía (Armilla), durante el periodo comprendido entre los años 2010-2012.

Los criterios de inclusión fijados para formar parte del estudio fueron los siguientes: que la UPP no presentara signos de infección, que las úlceras fueran de Grado II ó III, que hubiera presencia de tejido de granulación y que el diámetro mayor de la úlcera fuera igual o inferior a 10 cm.

De igual modo se establecieron unos criterios de exclusión: enfermos de cáncer, enfermos con VIH o Hepatitis, enfermos sometidos a tratamiento con inmunosupresores, pacientes con infección sistémica y/o manifestaciones clínicas compatibles con una infección local activa, pacientes con vasculitis activas, pacientes con lupus eritematoso sistémico y pacientes con crioglobulinemia.

La población de estudio que reunía los criterios de inclusión fue distribuída aleatoriamente entre cada uno de los 4 grupos de estudio: úlceras tratadas mediante cura en ambiente húmedo exclusivamente (grupo control), úlceras tratadas mediante cura en ambiente húmedo con una única dosis de PRGF (grupo A), úlceras tratadas mediante cura en ambiente húmedo con dos dosis de PRGF (grupo B) y úlceras tratadas mediante cura en ambiente húmedo con dos dosis de PRPGF más AH (grupo C). Hemos de señalar que aquel paciente que presentó más de una UPP susceptible de ser tratada, fue incluido en un único grupo de estudio, por lo que las distintas UPP de dicho paciente siguieron el protocolo de tratamiento correspondiente al grupo al que fue asignado.

1.2 Descripción de las variables.

Para llevar a cabo nuestro estudio hemos recogido tres tipos de variables de cada paciente: variables sociodemográficas, variables de carácter clínico y variables en relación con la UPP objeto de estudio.

1.2.1 Variables sociodemográficas.

Las variables sociodemográficas recogidas fueron: la edad, el sexo, el estado civil y el tiempo de estancia en el hospital o residencia (meses).

1.2.2 Variables clínicas del paciente.

Se han considerado cuatro tipos de variables clínicas en relación con el paciente, como el tratamiento farmacológico seguido por el paciente durante el estudio, el tipo de dieta que toma el paciente durante el seguimiento, los valores bioquímicos y hematológicos y el grado de dependencia.

Los parámetros bioquímicos y hematológicos fueron obtenidos tras el análisis de sangre venosa periférica extraída el mismo día de comienzo del estudio, y fueron los siguientes: Albúmina (g/dL), Proteínas Totales (g/dL) y Plaquetas ($\text{n}^\circ/\text{mm}^3$).

El grado de dependencia del paciente se determinó según el Índice de Barthel, que consiste en una escala que mide el nivel de capacidad individual para realizar las actividades de la vida diaria (comer, bañarse, higiene personal y caminar). Tras cumplimentar un test por cada paciente (Anexo 1) se estableció que cien puntos obtienen las personas que pueden efectuar todas las actividades sin ningún tipo de ayuda (independientes); valores ≥ 60 , grado de dependencia leve, entre 40-55 puntos, grado de dependencia moderado, 20-35 puntos, grado de dependencia grave, y menos de 20 puntos dependencia total.

1.2.3 Variables relacionadas con la UPP.

Las variables relacionadas con la UPP recogidas en el estudio fueron: la localización anatómica de la misma, la presencia de dolor al retirar el apósito o en el acto de realizar la cura, la antigüedad de la úlcera expresada en meses, las dimensiones de la úlcera expresada en cm² (diámetro mayor por diámetro menor, medidos con un pie de rey), la cantidad de exudado (evaluado como ninguno, ligero, moderado o abundante), el tipo de tejido en el lecho de la herida (evaluado como cicatrizado, epitelial, de granulación, con esfacelo o necrótico) y el grado de la úlcera, utilizando para ello la escala validada por la EPUAP. Igualmente se recogió el estado de la piel perilesional, valorándola como en buen estado o afectada.

Hemos de señalar que se ha considerado como variable dependiente el porcentaje de reducción del tamaño de la herida medido en cm² a lo largo del tratamiento.

1.3 Recogida de variables.

Para la selección de la población de estudio, en un primer momento se contactó con el responsable de enfermería de cada centro, el cual indicó en cada caso qué pacientes eran susceptibles de participar en el estudio, ya que éstos tenían que padecer una UPP. Posteriormente, después de eliminar aquellos pacientes que cumplían los criterios de exclusión, se valoraron las úlceras y se seleccionaron aquellas que cumplían los criterios de inclusión que fueron definidos anteriormente.

Previa explicación verbal a cada paciente y/o familiares de los objetivos del estudio, y tras la firma del consentimiento informado (Anexo 2) por parte del paciente o del representante legal del mismo, se procedió a la valoración de la herida, registrándose todas las variables de la UPP; así como, las variables sociodemográficas y clínicas de cada paciente, se recogieron mediante la cumplimentación de una hoja de recogida de datos, diseñada para el estudio (Anexo 3).

1.4 Proceso de obtención del PRP para el tratamiento de las UPP.

El proceso de obtención de PRP se realizó momentos antes de comenzar la cura de la UPP. Para la preparación del PRP se siguió el protocolo de Anitua (Anitua, 2001b). Mediante una jeringa y una aguja de punción venosa, ambas estériles, se realizó al paciente una extracción de aproximadamente 20 ml de sangre venosa periférica, que se depositó en 4 tubos de plástico (BD Vacutainer® Citrate Tubes, New Jersey; Estados Unidos) de 4.5 ml de volumen, que contenían una concentración de 0.129M (3.8%) de citrato sódico como anticoagulante. Estos tubos con la sangre del paciente, se centrifugaron (Beckman, modelo gs-15r, California; Estados Unidos) a una velocidad de 1800 r.p.m. durante 10 minutos, a una temperatura de 7°C, para evitar hemolisis. Durante el proceso de centrifugación, los elementos formes van precipitando de manera ordenada de tal forma que obtenemos diferentes niveles de densidad que, de abajo a arriba, son: sedimento de la serie roja, sedimento de la serie blanca y por último el plasma sanguíneo, esta fase es la que contiene las plaquetas. Una vez finalizado el tiempo de centrifugación, llevamos los tubos a una campana de flujo laminar para extraer las diferentes fracciones que contiene el plasma en condiciones de esterilidad. Como resultado de la centrifugación se obtienen alrededor de

1.5 ml de plasma que, mediante pipeteado, separamos en sus 3 diferentes fracciones. Los primeros 500 μ l (0.5 cc) o fracción superior (fracción 1) contienen plasma pobre en plaquetas. Los siguientes 500 μ l (0.5 cc) corresponden a la fracción central (fracción 2) y contienen un número de plaquetas similar al número de plaquetas circulantes en sangre periférica. Por último, los 500 μ l (0.5 cc) contiguos a la serie blanca (fracción 3), contienen la fracción rica en plaquetas (PRP). Cada una de estas fracciones fue depositada en su correspondiente criotubo estéril.

La fracción rica en plaquetas (fracción 3) que se obtuvo de cada uno de los 4 tubos de sangre de cada paciente, fue la que se utilizó para el tratamiento de las UPP. Una vez obtenido el PRP, la preparación de PRGF se obtuvo *in situ* en el momento de realización de la cura de la UPP. En aquellos pacientes que presentaban más de una UPP se extrajo la sangre necesaria para su posterior tratamiento.

Para obtener el PRGF (PRP activado), se tomó la fracción 3 (PRP) y se adicionó cloruro cálcico al 10% (Braun Medical, Barcelona; España), en una relación de 50 μ l (0.05 cc) de cloruro cálcico por cada ml de PRP. Una vez adicionado, se equilibró la temperatura a la corporal (37°) calentándolo manualmente. En un periodo de tiempo comprendido entre 5 y 10 minutos (este tiempo varía en función del número de plaquetas, de tal forma que a mayor número de plaquetas menor tiempo), se formó un coágulo (PRGF) que se colocó en el lecho de la herida.

1.5 Tratamiento de las UPP.

A cada úlcera de los pacientes asignados de forma aleatoria a uno de los cuatro grupos de estudio se le realizó la cura correspondiente.

Para el **grupo control**, se realizó la cura en ambiente húmedo que consistió en la limpieza con aproximadamente 15 ml de suero fisiológico (Braun Medical, Barcelona; España) y secado con gasa estéril del lecho de la herida y de la piel perilesional. Posteriormente se aplicó aproximadamente 0.5 ml de hidrogel (Intrasite Gel, Smith & Nephew, Barcelona, España) en el lecho de la herida y se cubrió con un apósito de poliuretano absorbente (Mepilex, Border Lite, Mölnlycke Health Care, Madrid, España). Esta misma cura se realizó cada 3 días durante un periodo de 5 semanas.

El **grupo tratado**, a su vez, se dividió en 3 subgrupos (**grupo A**, **grupo B** y **grupo C**) que correspondieron a los diferentes tratamientos. El **grupo A** se correspondió con el grupo de UPP tratadas con una sola dosis de PRGF, el **grupo B** se correspondió con el grupo de UPP tratadas con 2 dosis de PRGF y el **grupo C** se correspondió con el grupo de UPP tratadas con 2 dosis de PRGF más AH.

El tratamiento de cura en ambiente húmedo de las UPP incluidas en el **grupo A** consistió en, el día 0 la limpieza con aproximadamente 15 ml de suero fisiológico (Braun Medical, Barcelona; España) y secado con gasa estéril del lecho de la herida y de la piel perilesional. Posteriormente se aplicó 0.5 ml de PRGF por cada 15 cm² de superficie de la herida. A continuación fueron cubiertas con un apósito de poliuretano absorbente (Mepilex, Border Lite, Mölnlycke Health Care, Madrid, España).

Las úlceras del **grupo B**, tras ser limpiadas, tanto el lecho de la herida como la piel perilesional, con suero fisiológico y secado con gasa, recibieron el día 0 y el día 15 una dosis de 0.5 ml de PRGF por cada 15 cm² de superficie de la herida y la colocación del apósito de poliuretano.

Las UPP que se incluyeron en el **grupo C** recibieron el tratamiento que consistió en la limpieza tanto del lecho de la herida como de la piel perilesional y en los días 0 y 15 se aplicó una dosis de 0.5 ml de PRGF más 0.5 ml de AH (Hyalgan, Bioibérica, Barcelona, España) por cada 15 cm² de superficie de la herida, colocando posteriormente un apósito de poliuretano.

En los tres grupos de tratamiento (A, B y C) y cada 3 días durante un periodo de 5 semanas se realizó la cura, que consistió únicamente en la limpieza del lecho de la herida y de la piel perilesional con suero fisiológico y la aplicación de aproximadamente 0.5 ml de hidrogel. Posteriormente la herida se cubrió con un apósito de poliuretano.

1.6 Seguimiento de las UPP.

En los cuatro grupos de estudio, control y tratados (A, B y C), se realizó el seguimiento de las lesiones cada 3 días hasta completar las 5 semanas del estudio, coincidiendo con los días de cura de la UPP que consistió en retirar el apósito y realizar la limpieza de la UPP con suero fisiológico. Posteriormente se recogieron los datos relativos a las características de la lesión mediante la escala validada PUSH, la cual fue comentada en la introducción en el apartado 1.8 (Seguimiento de la UPP), y que permite recoger los datos de la evolución de la UPP, tales como la cantidad de exudado, el tipo de tejido de la herida y el

área de la lesión en cm^2 . Así mismo, empleamos una regla de papel que se utilizó para identificar la úlcera y el paciente en las fotografías tomadas, las cuales se llevaron a cabo durante el periodo de seguimiento mediante una cámara fotográfica digital (Canon Digital Ixus 95IS, Canon, Madrid, España). Una vez recogidos los datos y tomadas las fotografías, se llevó a cabo el tratamiento correspondiente en cada caso.

Aunque en el proceso de seguimiento de la UPP se recogieron distintos datos en relación con la evolución de la lesión, la variable dependiente objeto de nuestro estudio fue el área de la úlcera, la cual se expresó en cm^2 , si bien, los resultados que muestran la evolución de la misma se expresaron como el porcentaje de reducción del tamaño o área de la herida con respecto a la misma en el día 0 (día de comienzo del estudio).

2. ESTUDIO *IN VITRO* DEL EFECTO DEL PRP SOBRE LOS CULTIVOS

PRIMARIOS DE FIBROBLASTOS HUMANOS

2.1. Obtención del tejido gingival.

Los fibroblastos se obtuvieron de biopsias de tejido gingival humano. En total se extrajeron 5 biopsias de 5 voluntarios sanos, durante el curso de cirugía mandibular, en la Facultad de Odontología de la Universidad de Granada. Estos pacientes eran estudiantes de la Facultad de Odontología de Granada, de entre 20 y 25 años que fueron programados para exodoncia de cordales en la clínica de la Facultad. El estudio fue aprobado por el Comité Ético de la Facultad de Odontología de la Universidad de Granada y todos los participantes firmaron el consentimiento informado, antes de la cirugía. En el momento de la obtención

de las muestras, ninguno de los pacientes seleccionados presentaba enfermedad sistémica grave, proceso neoplásico o enfermedad infectocontagiosa. En ningún caso se extirpó más tejido del necesario para el tratamiento de la patología quirúrgica que presentaba el paciente.

Una vez que las muestras fueron extraídas, se introdujeron inmediatamente en medio de transporte estéril constituido por medio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) (Gibco, Cell Culture Products, Carlsbad, California), el cual fue suplementado con L-Glutamina al 1% (Sigma Chem. Comp., St. Louis, Mo, Estados Unidos), HEPES al 2% (Sigma Chem. Comp., St. Louis, Mo, USA), 2,5 µg/ml de Anfotericina B (Sigma Chem. Comp., St. Louis, Mo, USA), 100 UI/ml de Penicilina (laboratorios ERN S.A., Barcelona, España) y 50 µg/ml de Gentamicina (Braun Medical. Barcelona, España).

2.2. Proceso de obtención del PRP como suplemento del medio para los cultivos primarios de fibroblastos humanos.

Para la obtención de PRP como suplemento del medio para el cultivo de fibroblastos, se utilizó el mismo protocolo que se describe en el apartado 1.4 de esta sección (Proceso de obtención del PRP para el tratamiento de las UPP), con la salvedad del anticoagulante utilizado en los tubos de recogida de la sangre, que en este caso los 4 tubos de plástico (BD Vacutainer® Lithium Heparin Tubes, New Jersey; Estados Unidos) de 4 ml de volumen utilizados contenían 17 UI de Heparina de Litio. El objetivo de utilizar la Heparina de Litio como anticoagulante fue para evitar la creación una red de fibrina que se podría formar al tomar contacto con el calcio a la temperatura de 37°C, y que dificultaría nuestro estudio.

Una vez obtenido el PRP, fue utilizado como fuente de FC para suplementar el medio de cultivo.

2.3. Aislamiento y cultivo primario de fibroblastos humanos.

Las muestras de biopsia fueron procesadas de forma individualizada, manteniendo condiciones de esterilidad y según el protocolo que se describe a continuación. Bajo campana de flujo laminar, el tejido gingival extraído de cada paciente fue lavado 3 veces con fosfato buffer salino estéril (PBS, pH 7.4) para eliminar los restos de sangre, fibrina, grasa o materiales extraños que pudieran encontrarse adheridos a las muestras. Posteriormente, cada muestra se cortó en trocitos más pequeños mediante escisión mecánica con la ayuda de un bisturí. Para llevar a cabo la digestión de la matriz extracelular del corion de la mucosa oral y conseguir la separación de los fibroblastos estromales incluidos en dicha matriz, las muestras fueron incubadas a 37°C en una solución estéril de colagenasa tipo I (1 mg/mL) (Sigma Chemical Co., St. Louis, Misuri, Estados Unidos) en medio de cultivo DMEM durante un periodo de tiempo comprendido entre 10 y 12 h. Después de transcurrido el tiempo de digestión, los componentes del tejido conectivo suspendidos en el medio fueron separados de las células en suspensión, las cuales se recogieron por centrifugación (Beckman, modelo gs-15r, California; Estados Unidos) a 1000 r.p.m. durante 10 minutos, quedando retenidas en el sedimento. El sedimento celular obtenido fue resuspendido en 2 ml de medio sin suero bovino fetal (SBF), tomándose 1 ml de esta suspensión celular para ser cultivado en 2 frascos de cultivo de 25 cm² (Falcon Labware, Oxford, Reino Unido) respectivamente. Como medio de cultivo, a cada frasco se le adicionó medio DMEM que contenía L-Glutamina al 1% (Sigma Chemical Co., St. Louis, Misuri, Estados Unidos), HEPES al 2% (Sigma Chemical Co., St.

Louis, Misuri, Estados Unidos), 2.5 µg/ml de Anfotericina B (Sigma Chemical Co., St. Louis, Misuri, Estados Unidos), 100 UI/ml de Penicilina (laboratorios ERN S.A., Barcelona, España) y 50 µg/ml de Gentamicina (Braun Medical. Barcelona, España). Dicho medio previamente había sido suplementado, bien con una concentración final del 10% de SBF (Gibco, Paisley, Reino Unido), el cual se adicionó a uno de los frascos de cultivo, o bien con 10% de PRP, el cual se adicionó al otro frasco de cultivo. Ambos cultivos, en presencia de SBF o en presencia de PRP como fuentes de FC, en cada caso, fueron incubados en estufa a 37°C en atmósfera del 95% de humedad con un 5% de CO₂. El medio de cultivo, correspondiente en cada caso, fue sustituido cada 3 días hasta alcanzar la confluencia, momento en el cual se consideró establecida la línea celular.

Una vez alcanzada la confluencia, las células de los distintos cultivos de fibroblastos se separaron de los frascos de cultivo para su subcultivo. Para ello se retiró el medio y las células adheridas se lavaron con PBS estéril; posteriormente, se incubaron con 5 ml de una solución de tripsina al 0.05% (Sigma, St Louis, Misuri, Estados Unidos) y ácido etilendiamino-tetraacético (EDTA) al 0.02% (Sigma, St Louis, Misuri, Estados Unidos) a 37°C durante 10 minutos. Una vez que las células se despegaron de la superficie de los frascos de cultivo, se procedió a inactivar la tripsina, para lo cual adicionamos 7 ml de medio DMEM suplementado con suero al 10%. Posteriormente, la suspensión celular obtenida se centrifugó a 1200 r.p.m. durante 10 minutos. Las células así obtenidas, se resuspendieron en 2 ml de medio DMEM, añadiendo 1 ml a los frascos cuyo medio de cultivo estaba compuesto por DMEM con un 10% de SBF o 10% de PRP. El medio DMEM suplementado con SBF al 10% o PRP al 10% será el medio que se utilice en todos los estudios posteriores.

2.4. Evaluación del efecto del PRP sobre la capacidad proliferativa de los fibroblastos humanos en cultivo.

La capacidad proliferativa de las distintas líneas de fibroblastos establecidas se determinó mediante la técnica del MTT (Thiazolyl blue Tetra-zolium Bromide 97.5% TLC, Sigma Chem. Comp., St. Louis, Misuri, Estados Unidos). El método del MTT es una técnica espectrofotométrica que mide respiración celular y se basa en la reducción metabólica del Bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol a Formazan (producto de color púrpura) por parte de las células. La concentración de Formazan es directamente proporcional al número de células viables en el cultivo estudiado.

Los estudios de proliferación se realizaron tanto en cultivos a corto plazo como en cultivos a largo plazo. Siendo denominado cultivos a corto plazo aquellos que han recibido solo dos pases para su subcultivo desde el momento en que se estableció la línea celular, y los cultivos a largo plazo, aquellos que habían recibido 10 pases después de ser establecida la línea celular.

La tasa de crecimiento de las células mantenidas en medio suplementado con PRP o SBF a corto y largo plazo, se determinó según la siguiente metodología: las células fueron ajustadas a una concentración final de 2×10^4 células/ml y se suspendieron en placas de cultivo de 96 pocillos (Falcom, Becton Dickinson Labware, Nueva Jersey, Estados Unidos) con medio DMEM que contenía como suplemento PRP al 10% o SBF al 10%, conteniendo en total 200 μ l por pocillo. Dichas placas fueron incubadas a 37°C en estufa de CO₂ durante 24 h.

Una vez pasadas las 24 horas, se retiró el medio de cultivo de todos los pocillos y posteriormente las células se lavaron con medio DMEM. A continuación se añadieron 100 μ l por pocillo de medio DMEM sin rojo fenol que contenía 5 mg/ml de MTT, incubándose durante 4 horas a 37°C en estufa de CO₂ al 5%. Transcurrido ese tiempo, se retiró el sobrenadante y se añadieron 100 μ l por pocillo de Dimetilsulfóxido (DMSO) (Merck Chemicals, Nottingham, Reino Unido) para disolver los cristales de Formazan. Se dejó actuar durante 30 minutos y finalmente se midió por espectrofotometría, a una longitud de onda de 570 nm (SUNRISE TM-Basic, TECAN, Männedorf, Suiza).

Los resultados fueron expresados como el valor medio de la absorbancia \pm la desviación estándar.

2.5. Estudio del perfil antigénico de los fibroblastos humanos en cultivo.

El perfil antigénico de los fibroblastos humanos mantenidos en cultivo a corto y largo plazo en presencia de PRP o de SBF, como única fuente de FC, se determinó mediante el uso de una batería de anticuerpos monoclonales (Abmo), los cuales se especifican en la tabla 3, y las técnicas de microscopía confocal y citometría de flujo.

Tabla 3. Anticuerpos monoclonales utilizados en el estudio del efecto del PRP sobre el perfil antigénico de los cultivos primarios de fibroblastos humanos. FITC: Fluorescein-isothiocyanate. PE: Phycoerythrin.

Abmo	Especificidad	Fluorocromo	Proveedor
Control PE		PE	Caltag (Burlingame, California, EEUU)
Control FITC		FITC	Caltag (Burlingame, California, EEUU)
Anti-Vimentina-Humana PE	Anti-Vimentina Humana	PE	(R&D SYSTEMS®, Mineápolis, Minnesota, EEUU)
Anti-Fibronectina-Humana FITC	Anti-Fibronectina Humana	FITC	(R&D SYSTEMS®, Mineápolis, Minnesota, EEUU)
Anti- α -Actina-Humana PE	Anti- α -Actina Humana	PE	(R&D SYSTEMS®, Mineápolis, Minnesota, EEUU)

2.5.1. Perfil antigénico mediante microscopía confocal.

Las células procedentes de las diferentes condiciones de cultivos fueron separadas del frasco de cultivo con una solución de tripsina al 0.05% y EDTA al 0.02% a 37°C durante 10 minutos y posteriormente se neutralizó con medio de cultivo suplementado con SBF o PRP al 10%. Las células fueron recogidas y lavadas con PBS mediante centrifugación a 1200 r.p.m. durante 10 minutos. El sedimento obtenido se suspendió en el correspondiente medio de cultivo suplementado con SBF al 10% o con PRP al 10%, ajustándose a una densidad celular final de 2×10^4 células/ml para posteriormente ser cultivadas en pocillos estériles específicos para microscopía (Nunc, Sigma Chemical Co., St. Louis, Misuri, Estados Unidos), los cuales fueron incubados a 37°C en estufa de CO₂ durante 24 h. Transcurrido

este tiempo, las células fueron fijadas con una solución fría de metanol-acetona (v/v) durante un periodo de 10 minutos a temperatura ambiente. Una vez finalizado el tiempo de fijación, las células fueron lavadas 3 veces con PBS, bloqueándose las uniones inespecíficas con SBF al 10% en PBS durante 30 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente, las células fueron marcadas con dos Abmos: anti-fibronectina humana marcada con isocianato de fluoresceína (FICT: fluorescencia verde) y anti- α -actina humana marcada con ficoeritrina (PI: fluorescencia roja) a una concentración de 1:500 durante 2 horas a 37°C en oscuridad. Transcurridas las 2 horas, las células fueron lavadas 2 veces con PBS y sus núcleos fueron teñidos con DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole, Sigma Chemical Co., St. Louis, Misuri, Estados Unidos) a una concentración de 10 μ g/ml, para lo cual se dejó incubar durante 15 minutos. Pasado este tiempo se volvió a lavar con PBS y se visualizaron las células con un microscopio de láser confocal (Leica, DM IRB, Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania).

2.5.2. Perfil antigénico mediante citometría de flujo.

Para estudiar la expresión antigénica de los diferentes cultivos de fibroblastos mediante citometría de flujo, las células procedentes de las diferentes condiciones de cultivos fueron separadas del frasco de cultivo y recogidas por centrifugación, como se ha descrito anteriormente. El sedimento obtenido se suspendió en medio DMEM sin rojo fenol ajustándose la suspensión a una concentración final de 5×10^5 células/ml. Para el estudio de la expresión antigénica las células previamente fueron fijadas y permeabilizadas, para posteriormente ser marcadas con los correspondientes anticuerpos monoclonales (Abmo). El proceso de fijación y permeabilización se llevó a cabo mediante el kit Caltag (Burlingame, California, EEUU). Para ello se tomaron 400 μ l de la suspensión celular, a la cual se

adicionaron 100 μ l de reactivo "A" del kit para la fijación de las células, incubándolas durante 15 minutos a temperatura ambiente. Una vez pasado este tiempo se lavaron las células con PBS y se centrifugaron a 1600 r.p.m. durante 5 minutos. Se retiró el sobrenadante y al sedimento se añadieron 400 μ l de PBS. Una vez fijadas las células se procedió a la permeabilización celular mediante la adición de 100 μ l de reactivo "B" de dicho kit, incubándose durante 15 minutos a temperatura ambiente; posteriormente, se lavó con PBS y se centrifugó a 1600 r.p.m. durante 5 minutos. Se adicionaron 400 μ l de PBS al sedimento obtenido tras la centrifugación. 100 μ l de esta suspensión celular se incubaron con 10 μ l de cada Abmo (Tabla 3) durante 30 minutos en oscuridad. Transcurrido este periodo de tiempo las células fueron lavadas por centrifugación (1200 r.p.m.) durante 10 minutos con 1 ml de PBS; tras retirar el sobrenadante, el sedimento se suspendió en 800 μ l de PBS para su lectura en un citómetro de flujo (FASC Canton II, SE Becton Dickinson, Palo Alto, California, Estados Unidos), con láser de argón a una longitud de onda de 488 nm para determinar el porcentaje de células fluorescentes. En todos los ensayos se incluyó un control de isotipo marcado con isocianato de fluoresceína o ficoeritrina, con objeto de descartar falsos positivos por unión inespecífica. El porcentaje de células que expresa positivamente el anticuerpo, se calculó entre 2.000 y 3.000 células. Dicho ensayo se realizó al menos cinco veces para cada antígeno en todos los cultivos.

2.6. Estudio de la morfología de los fibroblastos humanos en cultivo.

Para el estudio de la morfología de los fibroblastos cultivados a corto y largo plazo en presencia de PRP o SBF, como única fuente de FC, se utilizó microscopía electrónica de scanning y microscopía electrónica de transmisión.

2.6.1. Microscopía electrónica de scanning.

Para el estudio de la morfología con microscopía electrónica de scanning los diferentes cultivos de fibroblastos fueron cultivados en placas de 6 pocillos (Falcom, Becton Dickinson Labware, Nueva Jersey, Estados Unidos) en su correspondiente medio de cultivo. Tras 24 h de incubación a 37°C en estufa de CO₂ al 5%, las células fueron fijadas con glutaraldehído al 2% en tampón Cacodilato de Sodio 0.1 M a pH 7.4 durante 1,5 h a 4°C. Posteriormente las células fueron lavadas con el mismo tampón 3 veces durante 10 minutos y fijadas con Tetróxido de Osmio al 1% en tampón Cacodilato 0.1 M, durante 1 h en oscuridad a 4°C. Una vez pasado este tiempo las células fueron deshidratadas en gradientes de acetona, realizándose la técnica de secación por punto crítico. Las células se metalizaron en oro en atmósfera de Argón. Finalmente, las preparaciones se visualizaron y fotografiaron usando el microscopio electrónico de barrido DSM 950 Zeiss (Carl Zeiss Microscopy, S.L., Barcelona, España).

2.6.2. Microscopía electrónica de transmisión.

Para el estudio de la morfología por microscopía electrónica de transmisión, las células bajo las diferentes opciones de cultivo fueron incubadas en su correspondiente medio de cultivo en placas de 6 pocillos (Falcom, Becton Dickinson Labware, Nueva Jersey, Estados Unidos) durante 24 h a 37°C en estufa de CO₂ al 5%. Pasadas las 24 h, las células fueron fijadas con una solución que contiene: 1% glutaraldehído y 15% formaldehído en tampón Cacodilato de Sodio 0.1M (pH 7.4) a una temperatura de 4°C durante 1h con Tetróxido de Osmio al 1% se realizó una segunda fijación con el mismo tampón y llevando

como aditivo Ferrocianuro Potásico. A continuación, las células se deshidrataron en gradientes de etanol para ser finalmente incluidas en la resina epóxica Epon 812 (Shell Chemical, Texas, Estados Unidos). Una vez tratadas así las diferentes muestras, se cortaron en un ultramicrotomo Ultracut E Reichert-Jung (Shannon Modla, Newark, Estados Unidos). Como agentes de contacto se han utilizado Citrato de Plomo y Acetato de Uracilo. Las muestras fueron llevadas para su visualización a un microscopio electrónico de transmisión EM10C Zeiss (Carl Zeiss Microscopy, S.L., Barcelona, España).

3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el tratamiento estadístico de los datos hemos utilizado la versión 20.0 del paquete estadístico Statistical Program for Social Science (SPSS).

3.1. Ensayo Clínico.

- Análisis descriptivo.

Para describir el perfil de la población se emplearon técnicas de estadística descriptiva univariante, usando para las variables cualitativas tablas de frecuencia y para las variables cuantitativas resúmenes numéricos (máximo, mínimo y media, como medida de tendencia central, y la desviación estándar, como medida de dispersión).

- Análisis bivalente:

Para evaluar la asociación entre variables, los datos han sido expresados como el valor de la media y la desviación estándar. Hemos utilizado el análisis de la varianza de dos vías (ANOVA) para evaluar el efecto de los diferentes tratamientos sobre la cicatrización de

las UPP. Las diferencias entre tratamientos se determinaron según el test de Games-Howell, siendo consideradas significativas aquellas que presentaron un valor de $P \leq 0.05$.

Para analizar la correlación entre la evolución de la cicatrización en relación con los parámetros clínicos del paciente se realizó según el test de Mann-Whitney para variables paramétricas (tratamiento farmacológico) y mediante el Coeficiente de Rho de Spearman para variables no paramétricas (parámetros bioquímicos y hematológicos).

3.2. Ensayos *in vitro*.

Para el análisis estadístico de los ensayos de proliferación y expresión antigénica se realizaron comparaciones entre las medias aplicando el test de la t de Student, considerando un intervalo de confianza del 95%.

V. RESULTADOS

1. ENSAYO CLÍNICO

1.1. Descripción de la población de estudio.

Para la realización de este estudio se contactó con un total de 115 pacientes que reunían los criterios de inclusión. Quince de ellos se negaron a participar, fundamentalmente debido a la negativa de los propios familiares por el miedo a molestias o posibles complicaciones derivadas del estudio. De manera que se incluyeron finalmente un total de 100 pacientes, de los cuales, 40 fueron hombres y 60 mujeres.

La edad media de la población estudiada fue de 82.54 ± 4.71 años. La gran mayoría de ellos (90%) eran totalmente dependientes, según el índice de Barthel.

La analítica realizada a los pacientes estudiados presentaba valores medios de albúmina de 3.48 ± 0.7 (g/dL), de proteínas totales de 6.15 ± 0.78 (g/dL) y de plaquetas de 325 ± 109.84 (n°/mm^3).

Entre los fármacos consumidos habitualmente por los pacientes del estudio, las Estatinas y los AINES fueron los más comunes, ya que un 82% de los pacientes consultados tomaban Estatinas y un 50% del total analizado consumían algún tipo de AINE a diario. Sólo 7 de los 100 pacientes estudiados tomaban Heparina y el 6% del total, Hormona Tiroidea.

Con respecto a la dieta, más de la mitad (el 56%) llevaban una dieta normal, y el 44% restante requerían dietas especiales, entre las que se incluían dietas diabéticas, hipocalóricas o hiperproteicas, según necesidades concretas de cada paciente.

Todos los datos relacionados con la descripción de variables tanto cualitativas como cuantitativas de la población de estudio pueden consultarse en las Tablas 4 y 5.

Tabla 4.- Variables cualitativas de los pacientes incluidos en el ensayo clínico.

DATOS	PACIENTE	
	Número (n)	Porcentaje (%)
Hombres/Mujeres	40/60	40/60
Dieta		
Normal	56	56
Especial (Diabética, Hipocalórica, hiperproteica, ...)	44	44
Tratamiento Farmacológico		
AINES	50	50
Estatinas	82	82
Heparinas	7	7
Hormona Tiroidea	6	6
Test de Barthel		
Grado de dependencia leve	10	8.0
Grado de dependencia moderado	0	0
Grado de dependencia grave	24	19.4
Grado de dependencia total	90	72.6

Tabla 5.- Variables cuantitativas de los pacientes incluidos en el ensayo clínico.

DATOS	PACIENTE			
	Máximo	Mínimo	Media	SD
Edad (años)	64	90	82.54	4.71
Duración de la evolución de la UPP (meses)	9	2	4.46	1.40
Tiempo de estancia en el centro (meses)	84	1	13.02	18.13
Test Barthel	95	0	12.74	19.32
Albúmina (g/dL)	5.20	2.10	3.48	0.70
Proteínas Totales (g/dL)	7.80	4.60	6.15	0.78
Plaquetas (n^o/mm³)	720	160	325	109.84

1.2. Descripción de las variables relacionadas con las UPP.

Los 100 pacientes incluidos en el ensayo clínico fueron asignados de forma aleatorizada a uno de los 4 grupos de estudio, analizándose un total de 124 UPP, ya que hubo casos en los que los pacientes presentaban más de una úlcera susceptible de ser estudiada. En tal situación, al ser asignado el paciente a un grupo concreto, las distintas úlceras mostradas por dicho paciente recibieron el mismo protocolo correspondiente a su grupo de estudio.

Cabe señalar que, en el momento del comienzo del estudio las UPP presentaban un tiempo de evolución medio de 4.46 ± 1.40 meses, por lo tanto en todos los casos se trataba de lesiones cuya evolución era tórpida, que no habían respondido al tratamiento y cuidado correspondiente. Esta variable así como las restantes variables relacionadas con las UPP de la población estudiada pueden consultarse en la Tabla 6.

Tabla 6.- Variables cualitativas de las UPP incluidas en el ensayo clínico.

DATOS	UPP	
	Número (n)	Porcentaje (%)
Localización		
Trocánter	22	17.8
Coxis	35	28.2
Talón	48	38.7
Maléolo	6	4.8
Glúteo	13	10.4
Dolor en el cambio de apósito		
Sí	4	3,2
No	120	96.8
Estadaje (clasificación EPUAP)		
Grado II	22	17.7
Grado III	102	82.3
Estado de la piel perilesional		
Buena	95	76.6
Afectada	24	23.4

Con respecto a la localización anatómica de las úlceras, 48 de ellas se encontraban en el talón, 35 en el coxis, 22 en el trocánter, 13 en el glúteo y 6 en el maléolo. En la Figura 1 se recoge un ejemplo de cada una de las localizaciones que presentó la población de estudio.



Fig. 1.- Fotografía que muestra la localización de la UPP: A) coxis; B) talón derecho; C) glúteo; D) maléolo derecho; E) trocánter.

El estado de la piel perilesional de las UPP estudiadas era bueno en el 76.6% de las úlceras. En la Figura 2 se muestra un ejemplo de úlcera con piel perilesional con buen aspecto y con piel perilesional afectada. Además, hemos de señalar que sólo un 3.3% de los casos estudiados manifestó sentir dolor al cambio del apósito.

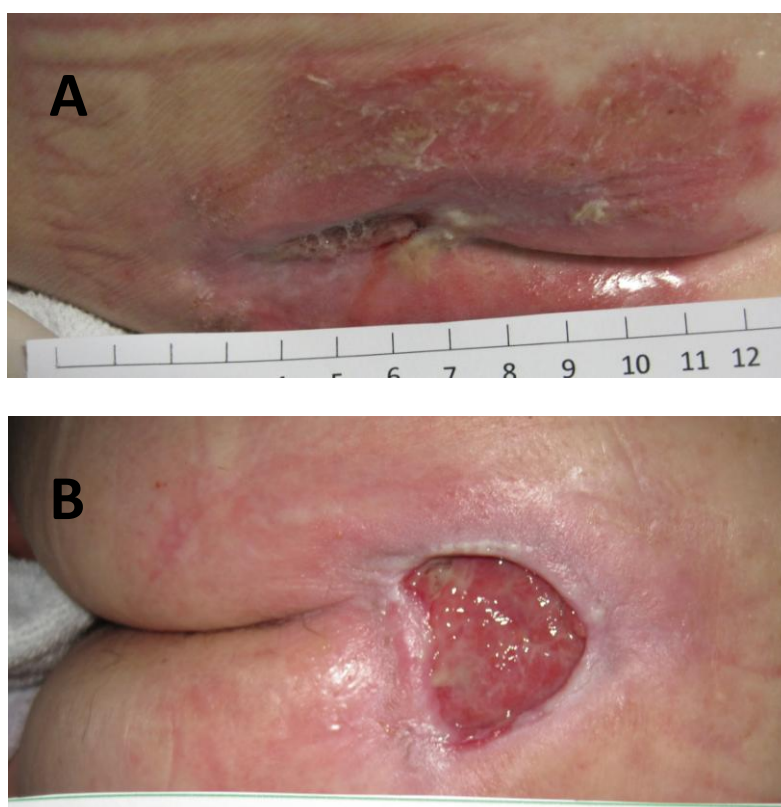


Fig. 2.- Fotografía que muestra el aspecto de la piel perilesional: A) afectada; B) buen aspecto.

En cuanto al tipo de UPP incluidas en este ensayo, el 82.3% del total fueron clasificadas como úlceras de Grado III y el 17.7% como úlceras de Grado II, según la clasificación de la EPUAP. Dos úlceras han sido seleccionadas a modo de ejemplo, una de cada tipo, como puede ser observado en la Figura 3.

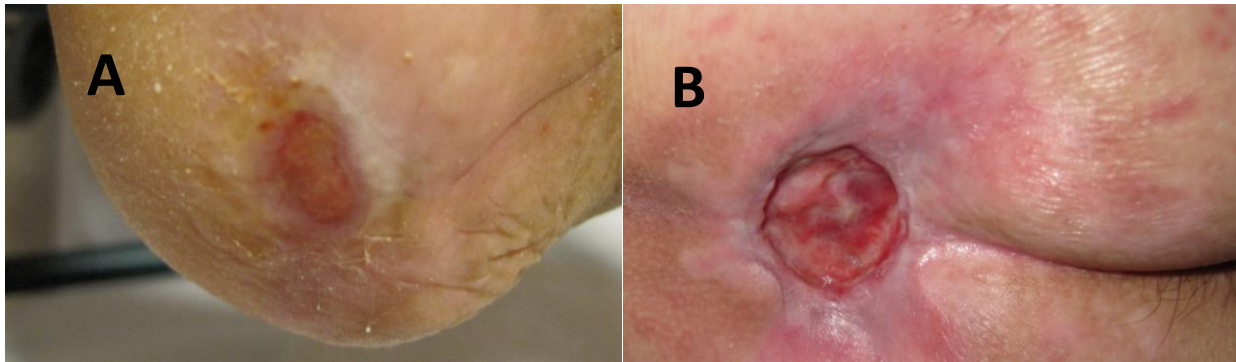


Fig. 3.- Fotografía que muestra el tipo de UPP según la clasificación de la EPUAP: A) Grado II; B) Grado III.

1.3. Efecto de los distintos tratamientos en el proceso de cicatrización de las UPP.

Para determinar el efecto de los distintos tratamientos estudiados sobre la cicatrización de las UPP nos hemos centrado fundamentalmente en dos parámetros: el grado de cicatrización, el cual se determinó a partir del área que mostró la lesión al comienzo del estudio y el área que presentó la lesión al final del estudio, y en el número de casos en los que la úlcera cicatrizó totalmente. Nuestro estudio muestra que los tres tratamientos seguidos fueron significativamente efectivos con respecto a ambos parámetros (Tabla 7 y 8).

En relación con el efecto de los distintos tratamientos sobre el grado de cicatrización de las UPP objeto de nuestro estudio, observamos que aquellas que recibieron una dosis de PRGF (grupo A) mostraron una disminución significativa ($P \leq 0.001$) del área media de la lesión del orden del 48.38 ± 25.89 %, las que recibieron dos aplicaciones de PRGF (grupo B) experimentaron un porcentaje medio de cierre del 54.86 ± 44.77 % y aquellas que fueron tratadas con dos dosis de PRGF más AH (grupo C), alcanzaron valores medios del $80.48 \pm$

27.06 %. Mientras que las UPP que recibieron cura en ambiente húmedo exclusivamente (grupo control) experimentaron un porcentaje medio de cicatrización del 10.38 ± 13.32 % (Fig. 4).

Tabla 7.- Porcentaje de cicatrización de las UPP en los 4 grupos de estudio. Grupo control (cura húmeda), Grupo A (una dosis de PRGF); Grupo B (dos dosis de PRGF); Grupo C (dos dosis de PRGF más AH).

Grupos de Estudio	UPP (n)	Media	SD	Significación Estadística (P)
Grupo Control	25	10.38	13.32	-
Grupo A	34	48.38	25.89	0.000
Grupo B	25	54.86	44.77	0.000
Grupo C	40	80.48	27.06	0.000

*Significativo para valores de $P \leq 0.05$

Tabla 8.- Porcentaje de úlceras que muestran cicatrización total como consecuencia del tratamiento.

Grupo de Estudio	Cicatrización Completa de la UPP		
	Número pacientes	Porcentaje	Significación Estadística (P)
Control (n = 25)	0	0	-
Grupo A (n = 34)	3	8.82	0.127
Grupo B (n = 25)	8	32	0.002*
Grupo C (n = 40)	15	37.5	0.000*

*Significativo para valores de $P \leq 0.05$

Evolución de las UPP

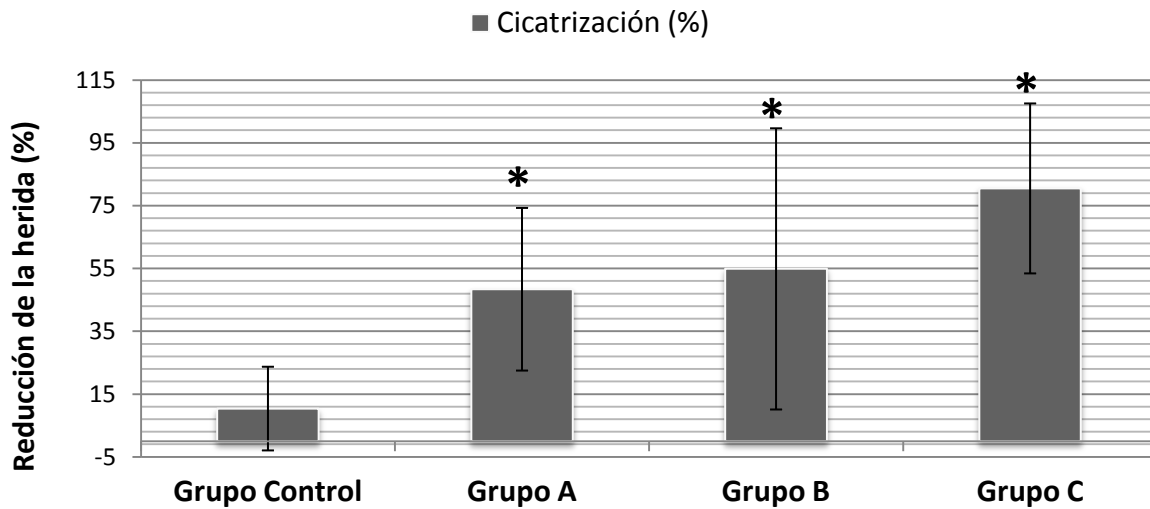


Fig. 4.- Grado de cicatrización de la de la UPP expresado como el porcentaje de reducción del área de la lesión. * $P \leq 0.001$.

Tomando como referencia el porcentaje de cicatrización de las úlceras tratadas con cura en ambiente húmedo observamos que, el cierre de la herida fue un 30% mayor en las úlceras que recibieron una sola aplicación de PRGF, un 44.48% mayor en aquellas tratadas con dos dosis de PRGF, incrementándose hasta en un 70.1% el cierre de las UPP tratadas con dos dosis de PRGF en combinación con AH. Estos datos ponen de manifiesto que la aplicación de dos dosis de PRGF más AH constituye la alternativa de tratamiento más efectiva en el proceso de cicatrización de las UPP.

El análisis bivariante entre el porcentaje de cicatrización de las UPP en relación al grupo de estudio muestra que existe una asociación significativa entre el tratamiento recibido y el grado de cicatrización de las heridas, observando una mayor cicatrización en aquellas úlceras tratadas con una dosis de PRGF, dos dosis de PRGF o dos dosis de PRGF más AH, que en las tratadas con cura en ambiente húmedo exclusivamente ($P \leq 0.001$) (Tabla 7).

Otra de las variables que consideramos de interés para el análisis de nuestro estudio, como ya hemos referido anteriormente, fue el porcentaje de úlceras que mostraron una cicatrización total como consecuencia del tratamiento recibido. En la Tabla 8 podemos observar que en el grupo control, el cual recibe un tratamiento estándar de cura en ambiente húmedo, no llegó a cerrarse ninguna de las úlceras estudiadas. En el grupo de tratamiento A, cerraron por completo 3 úlceras de un total de 34 lo que supone un 8.82%. En el grupo de tratamiento B, fueron 8 úlceras de un total de 25 (32%) y finalmente en el grupo de tratamiento C, fueron 15 úlceras de 40 las que cicatrizaron completamente, lo que representa el 37.5% de la población de estudio asignada a ese grupo de tratamiento. El análisis estadístico de estos datos, con respecto al grupo control, muestra que hay diferencias significativas en relación al cierre total de las UPP, sólo cuando se tratan con dos aplicaciones de PRGF ó con dos aplicaciones de PRGF más AH con valores de $P = 0.002$ y $P = 0.004$, respectivamente. Por lo tanto, los datos obtenidos ponen de manifiesto que existe un mayor éxito del cierre de las UPP, cuando se aplica el PRGF en dos ocasiones y mayor aún cuando se combina con AH Figura 5.

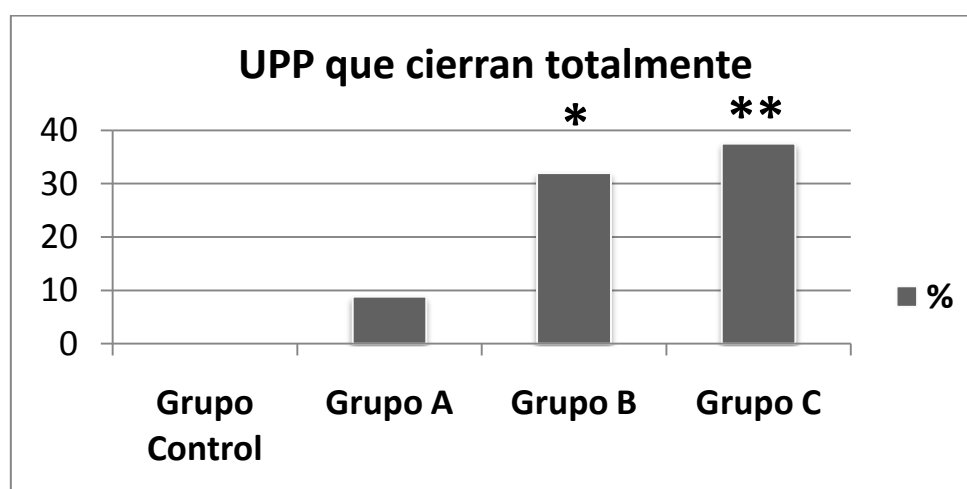


Fig. 5.- Porcentaje de UPP que muestran cicatrización total en la población de estudio.

* $P \leq 0.002$, ** $P \leq 0.001$.

En la Figura 6 se muestra fotográficamente la evolución en el tiempo de una úlcera que progresa a la cicatrización total como consecuencia del tratamiento.

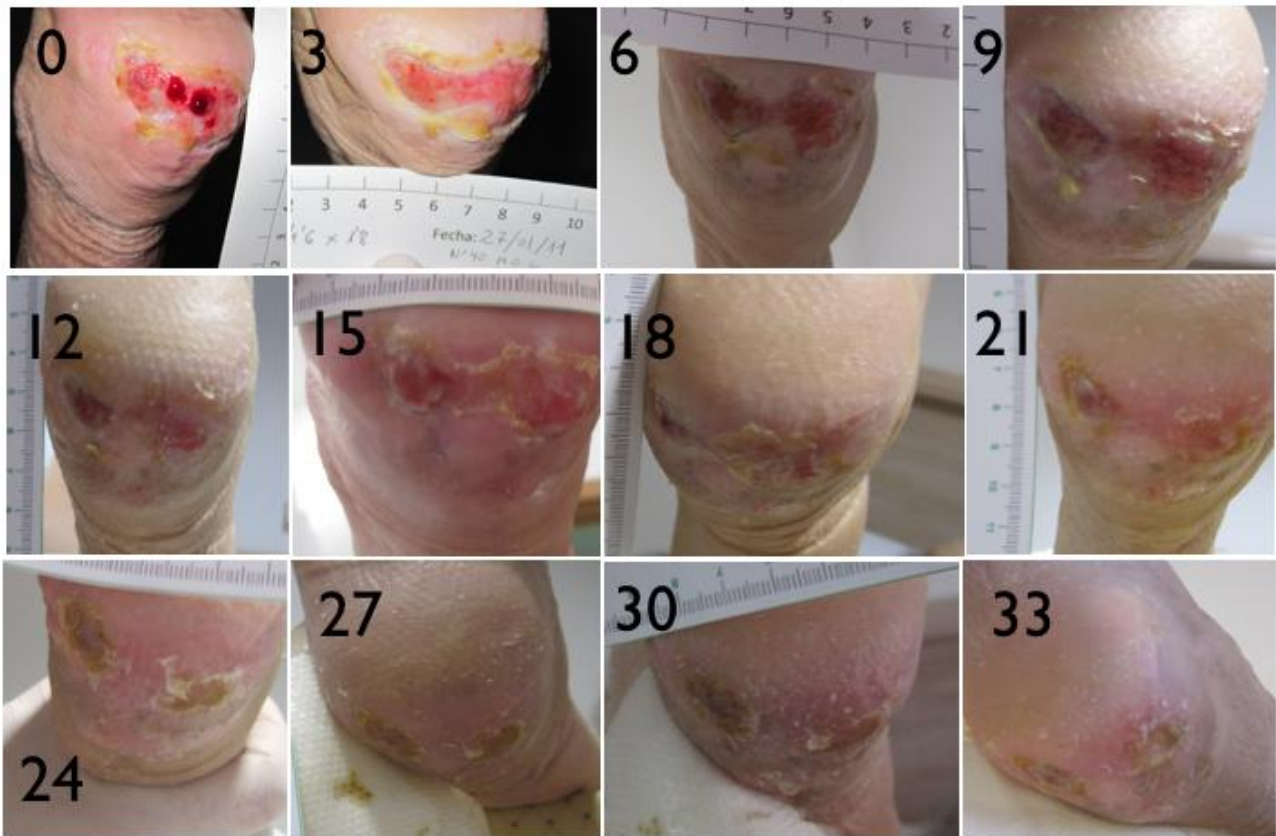


Fig. 6.- Secuencia fotográfica cada 3 días de la evolución de una úlcera tratada.

Aunque estos dos parámetros, grado de cicatrización y cicatrización total de la úlcera, muestran de forma clara y sencilla la efectividad de los tratamientos, hemos de señalar que el estudio ha supuesto el seguimiento continuado de las lesiones cada 3 días hasta completar las 5 semanas de estudio. En dicho seguimiento, junto a la determinación del área de la úlcera, otros datos han sido recogidos como el exudado o el aspecto del lecho de la herida.

En la Figura 7 podemos observar la evolución del área de una de las úlceras tratadas, la cual disminuyó de forma apreciable a partir de las 24 h posteriores al tratamiento, experimentando una reducción del área de la lesión del 28.6%. Si bien cabe señalar que la disminución observada no siempre fue progresiva, sino que se detecta un perfil evolutivo a modo de picos, con una reducción del área de la lesión mayor del 50%, con respecto al área inicial, a partir del día 12. Esta evolución en picos se repite en prácticamente todos los casos. De igual modo en la Tabla 9 recogemos de forma pormenorizada, junto a los datos del tamaño de la úlcera, otros datos que reflejan la evolución del proceso de cicatrización desde el día 0, día del tratamiento, al día 33, día en el que se hizo la última valoración. Como podemos apreciar a partir de los 21 días del tratamiento se observa prácticamente ausencia de exudado, unido a la epitelización del tejido. El perfil de evolución de la úlcera, en relación al tipo de tejido y la cantidad de exudado, puede ser observado en la Figura 8.

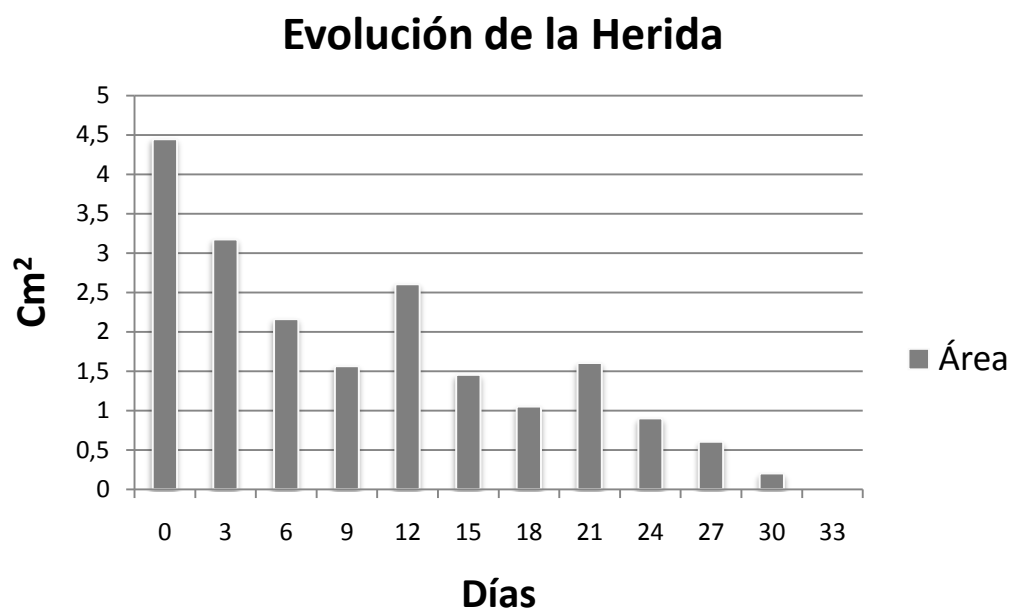


Fig. 7.- Evolución del área que presenta una úlcera tratada expresada en cm².

Tabla 9.- Datos de la evolución de una UPP tratada.

Día	Dimensiones (cm ²)	% cicatrización	Exudado	Tejido
0	4.44	0.0	Moderado	Granulación/esfacelo
3	3.17	28.6	Moderado	Granulación
6	2.16	51.4	Ligero	Granulación
9	1.56	64.9	Ligero	Granulación
12	2.6	41.4	Moderado	Esfacelo/granulación
15	1.45	67.3	Moderado	Granulación
18	1.05	76.4	Ligero	Granulación
21	1.6	64.0	Ligero/ninguno	Epitelial
24	0.9	79.7	Ninguno	Epitelial
27	0.6	86.5	Ninguno	Epitelial
30	0.2	95.5	Ninguno	Epitelial
33	0	100.0	Ninguno	Epitelial

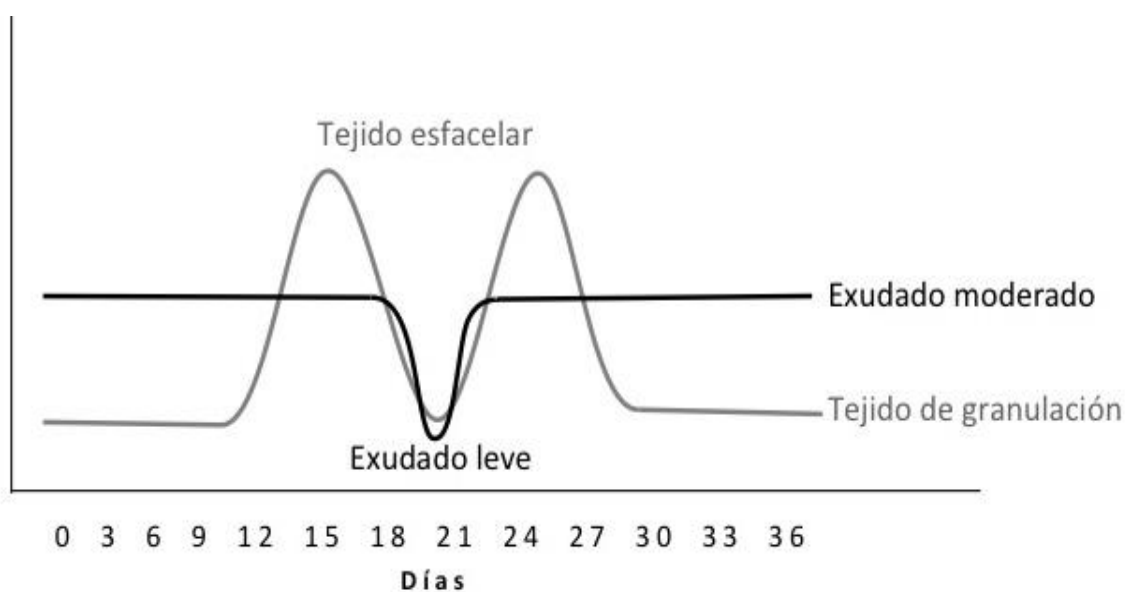


Fig. 8.- Perfil de evolución del tejido del lecho de la herida y cantidad de exudado de una úlcera tratada.

Otro aspecto de gran importancia detectado a lo largo del ensayo clínico ha sido que ninguna de las UPP estudiadas presentó signos de infección local, en los 36 días de seguimiento, independientemente del grupo de estudio en el que se encontrasen.

Paralelamente, el tejido del lecho de la herida, en todas las UPP estudiadas, siempre fue tejido de granulación o tejido con esfacelos, no llegando a encontrar en ningún caso tejido necrótico.

1.4. Efecto de distintas variables clínicas del paciente en el porcentaje de cicatrización de las UPP.

En el presente ensayo clínico junto al estudio de la evolución y efectividad de los tres protocolos de tratamiento seguidos, hemos analizado la relación de esta evolución con otras variables clínicas de la población de estudio.

En la Tabla 10 se encuentran los resultados de la asociación entre el porcentaje de cicatrización de las UPP con respecto al tratamiento farmacológico que reciben los pacientes. Según el test de la U-Mann-Witney no hay asociación entre la evolución de la lesión y el consumo de fármacos como AINEs ($P = 0.839$), Heparinas ($P = 0.416$) u Hormona Tiroidea ($P=0.06$). En cambio, sí que encontramos una relación negativa entre el porcentaje de reducción de las heridas en aquellos pacientes a los que se les administran Estatinas, con un nivel de significación de $P \leq 0.001$.

Por otro lado, y en relación a los datos de la analítica clínica mostrada por los pacientes del estudio, no hemos encontrado asociación, según el Coeficiente de Rho de Spearman, para las variables de tipo no paramétrico, entre los valores medios de albúmina y de proteínas totales en suero y el grado de cicatrización de la herida. En cambio, sí que se detectó una correlación negativa entre los valores medios de plaquetas en sangre y el

porcentaje de cierre de las UPP, en el sentido de que evolucionaron mejor aquellas heridas de pacientes con valores menos elevados de plaquetas en sangre ($P = 0.0001$) (Tabla 11).

Tabla 10.- Relación entre el grado de cicatrización de la UPP y el tratamiento farmacológico seguido por el paciente según el test de U-Mann-Witney.

Grado de Cicatrización			
Fármaco	Media \pm SD		P
	Sin Tratamiento Farmacológico	Con Tratamiento Farmacológico	
AINEs	51.18 \pm 37.22	53.20 \pm 39.07	0.839
Estatinas	57.95 \pm 37.98	26.58 \pm 27.56	0.001*
Heparinas	52.91 \pm 37.75	43.47 \pm 47.51	0.416
Hormona Tiroidea	50.97 \pm 38.05	80.08 \pm 32.30	0.060

*Significativo $P \leq 0.05$

Tabla 11.- Relación entre el grado de cicatrización de la UPP y la analítica clínica del paciente según el Coeficiente de Rho de Spearman.

Grado de cicatrización (%)	Albumina (g/dL)	Total proteínas (g/dL)	Plaquetas (n°/mm^3)
Coeficiente de Correlación	0.097	- 0.890	- 0.353
P	0.290	0.334	0.000*

*Significativo $P \leq 0.01$

2. ESTUDIO *IN VITRO*

2.1. Aislamiento, cultivo y establecimiento de las líneas celulares.

Las muestras de biopsias de tejido gingival humano se tomaron de voluntarios sanos, siendo en total 5 biopsias de 5 voluntarios (2 hombres y 3 mujeres) con edades comprendidas entre los 20 y 25 años. Una vez procesadas las muestras y puestas en cultivo, el tiempo requerido para la obtención de una línea celular (la cual se consideró establecida cuando se obtuvo un cultivo confluyente) varió de forma importante en función de la fuente de FC utilizados en cada caso, aun partiendo de las células aisladas de la misma muestra de tejido gingival. Las células cultivadas en medio DMEM con suplemento de PRP al 10% requirieron un menor tiempo para llegar a la confluencia, que osciló entre 17 y 20 días, mientras que las células procedentes de la misma muestra de tejido cultivadas en presencia de SBF al 10% necesitaron entre 20 y 25 días para llegar a la confluencia.

2.2. Efecto del PRP sobre la proliferación celular.

El estudio del efecto del PRP sobre la capacidad proliferativa de las distintas líneas celulares establecidas fue determinado tanto en cultivos a corto plazo como en cultivos a largo plazo. Como podemos observar en la Figura 9, la tasa de crecimiento de las células de las líneas cultivadas en presencia de PRP al 10% a corto plazo, mostraron una mayor capacidad proliferativa que las células de las líneas cultivadas con SBF al 10% ($P < 0.001$). Por el contrario, cuando analizamos la capacidad proliferativa de las células procedentes de cultivos a largo plazo, observamos que aquellas que habían sido cultivadas con PRP al 10%

muestran una tasa de crecimiento ligeramente menor, aunque no llegar a ser significativa, respecto a las células cultivadas en presencia de SBF al 10% bajo las mismas condiciones.

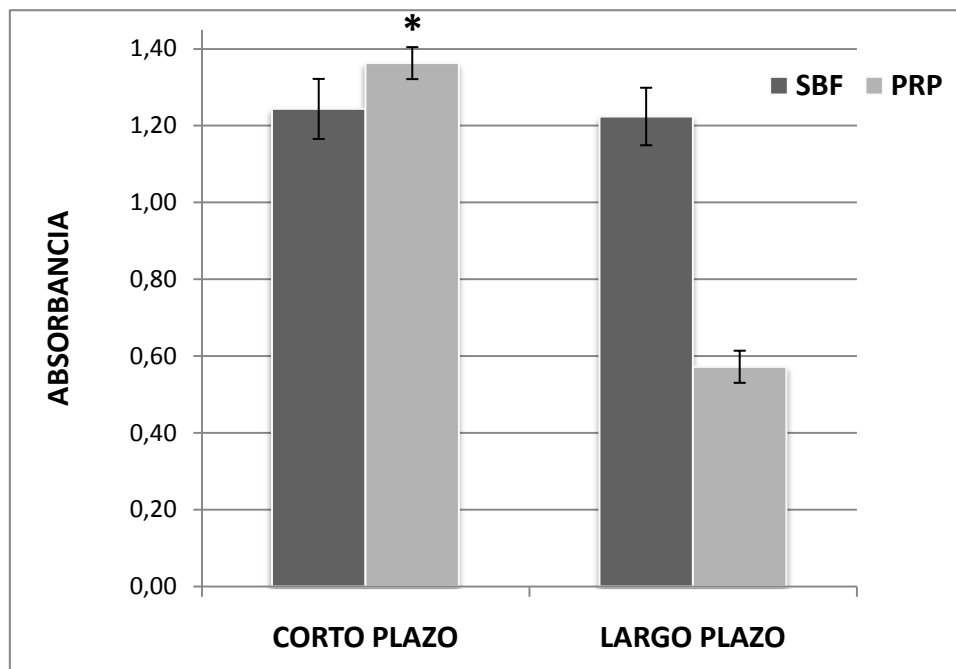


Figura 9.- Proliferación de las distintas líneas celulares cultivadas con medio DMEM suplementado con SBF al 10% o PRP al 10% como única Fuente de FC, a corto y largo plazo, después de 24 h de incubación. La técnica que se utilizó fue la del MTT y los datos se expresaron como la media de la absorbancia \pm la desviación estándar. * $P < 0.001$.

2.3. Efecto del PRP sobre el perfil antigénico de los fibroblastos humanos en cultivo.

El estudio de la expresión de marcadores se ha realizado por citometría de flujo y por microscopía confocal, mediante el uso de una batería de Abmo unidos a fluorocromos en las distintas líneas celulares mantenidas en cultivo y en presencia de PRP al 10% o SBF al 10% a corto y largo plazo.

2.4. Perfil antigénico mediante citometría de flujo.

La expresión de marcadores de las células cultivadas en presencia de SBF o PRP se muestra en la Tabla 12. Como podemos observar después de dos pases en los distintos cultivos realizados con SBF y PRP como fuente de FC, prácticamente la totalidad de las células analizadas expresaron los antígenos Vimentina y Fibronectina, sin embargo las células mostraron una expresión del orden del 5% para la α -actina en las distintas líneas celulares (SBF y PRP). Por el contrario, cuando analizamos las células cultivadas en PRP a largo plazo observamos que, junto a la expresión positiva de Fibronectina y Vimentina, se detecta una expresión positiva para la α -actina en el 65% de la población analizada, no detectándose cambios en las células cultivadas en SBF. También cabe señalar que esta expresión fue homogénea en las distintas líneas celulares establecidas bajo las mismas condiciones de cultivo.

2.5. Perfil antigénico mediante microscopía confocal.

El estudio de la expresión antigénica mediante microscopía confocal corroboró los datos citométricos anteriores, ya que como se muestra en la Figura 10, en las células cultivadas a largo plazo en medio DMEM suplementado con PRP al 10%, existen dos poblaciones celulares, una de color verde como consecuencia de su marcaje específico con el Abmo Anti-fibronectina (FITC) y otra población doblemente teñida de color rojo y verde debido al doble marcaje los Abmo Anti-fibronectina (FICT) y Anti α -actina (PE).

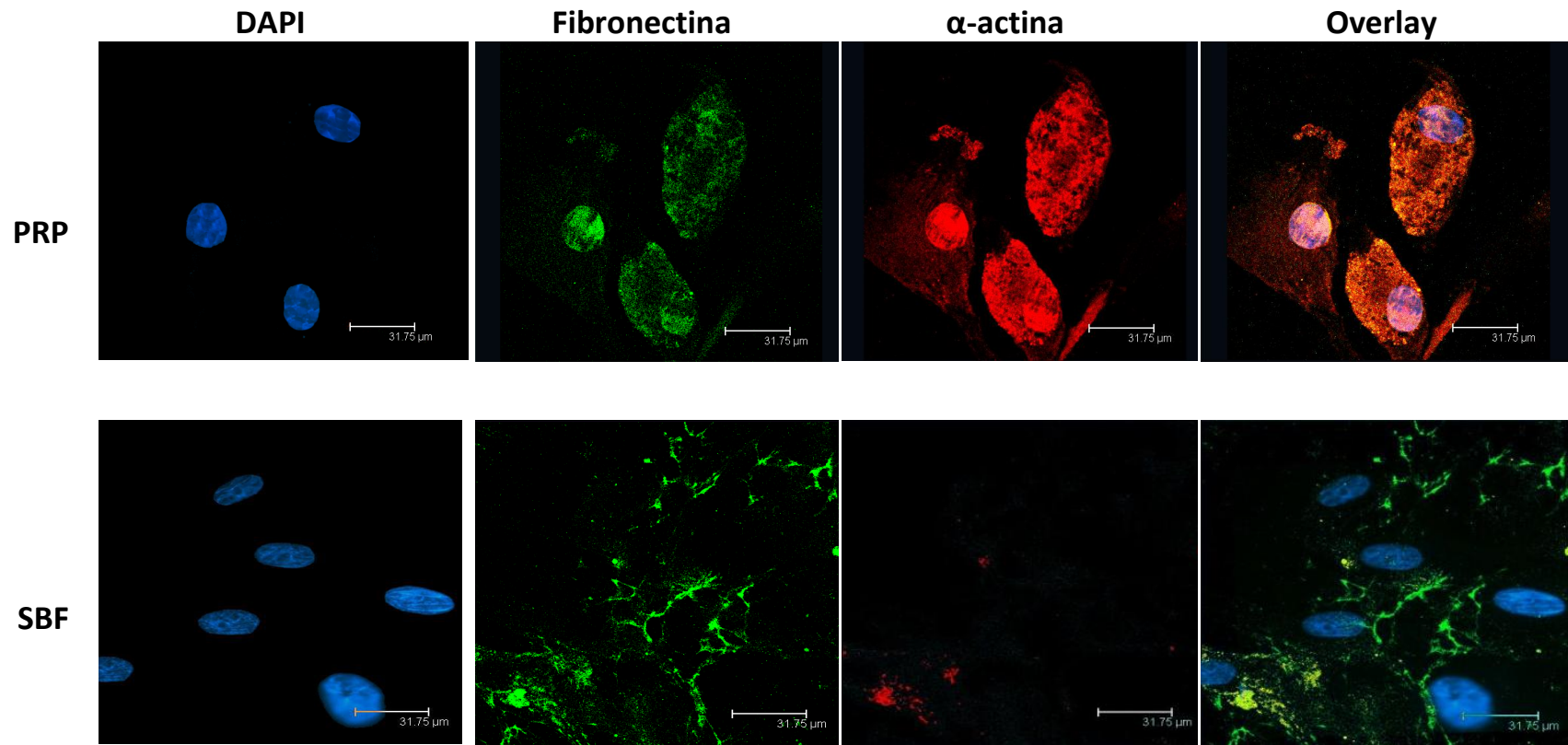


Fig. 10.- Inmunotinción con los Abmo Fibronectin-FITC y α -actin-PE de las células cultivadas a largo plazo en medio DMEM suplementado con PRP al 10% y SBF al 10% como única Fuente de FC.

Tabla 12.- Expresión antigénica de las distintas líneas celulares cultivadas con medio DMEM suplementado con SBF al 10% o PRP al 10% como única fuente de FC determinada mediante citometría de flujo.

Marcadores	Expresión Antigénica (%) Cultivos a corto plazo		Expresión Antigénica (%) Cultivos a largo plazo	
	PRP	SBF	PRP	SBF
Fibronectina	83.06 ± 4.20	84.20 ± 3.01	78.86 ± 3.20	81.20 ± 2.78
Vimentina	91.44 ± 3.20	91.60 ± 3.48	90.54 ± 3.10	91.39 ± 3.58
α-actina	5.2 ± 1.44	4.4 ± 1.62	65.03 ± 2.14*	7.1 ± 1.22

*Significativo $P \leq 0.001$

2.6. Estudio de la morfología celular en cultivos primarios de fibroblastos humanos.

El estudio de la morfología de las células de los diferentes cultivos se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de scanning y microscopía electrónica de transmisión.

2.6.1. Estudio mediante microscopía de scanning.

El estudio de la morfología celular de las células cultivadas en presencia de medio DMEM suplementado con PRP al 10% o SBF al 10% a corto y a largo plazo mediante microscopía de scanning mostró, que si bien después del segundo pase no hay diferencias apreciables a nivel morfológico entre las células de una línea cultivada con PRP respecto a las células de la línea cultivada en SBF, cuando analizamos las células mantenidas en presencia de PRP como única fuente de FC a largo plazo observamos la existencia de dos

poblaciones, una de tipo fusiforme y otra de aspecto más voluminoso y no fibroblástica, mientras que en los cultivos realizados en presencia de SBF como fuente de FC solo podemos ver una única población, con una morfología típicamente fibroblástica (Fig. 11).

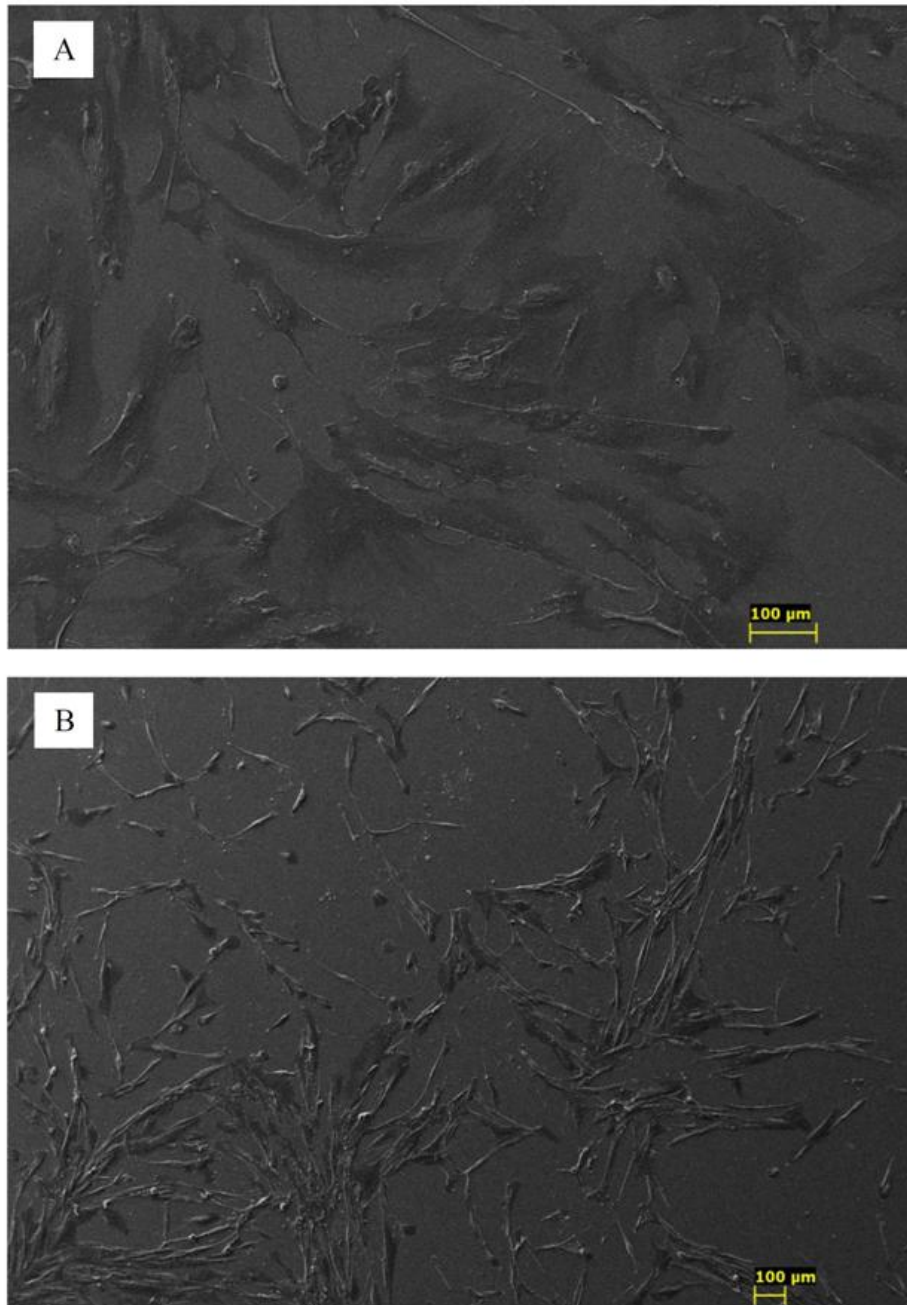


Fig. 11.- Análisis de la morfología celular mediante microscopía de scanning en la que se observan 2 poblaciones celulares de fibroblastos humanos en cultivadas a largo plazo en medio DMEM suplementado con PRP (A) y SBF (B) como única fuente de FC.

2.6.2. Estudio mediante microscopía electrónica de transmisión.

El análisis de la ultraestructura de las células de los diferentes cultivos revela, al igual que en microscopía de scanning, que hay dos tipos celulares en los cultivos mantenidos en presencia de PRP al 10% como única fuente de FC, a diferencia de los cultivos en presencia de SBF al 10% como única fuente de FC a largo plazo que solo muestran una población (Fig. 12). En los cultivos en presencia de PRP se observa: A) una población de un gran tamaño que presenta un citoesqueleto muy pronunciado, un menor retículo endoplásmico, mitocondrias largas y delgadas, menos ribosomas y ausencia de polisomas; y B) una población más pequeña y fusiforme con presencia de fibras, con numerosas vesículas endocíticas, un abundante y dilatado retículo endoplásmico rugoso, numerosos polisomas y una superficie celular con abundantes prolongaciones. En los cultivos en presencia de SBF sólo se observa una única población con una ultraestructura similar a la población B) anteriormente descrita.

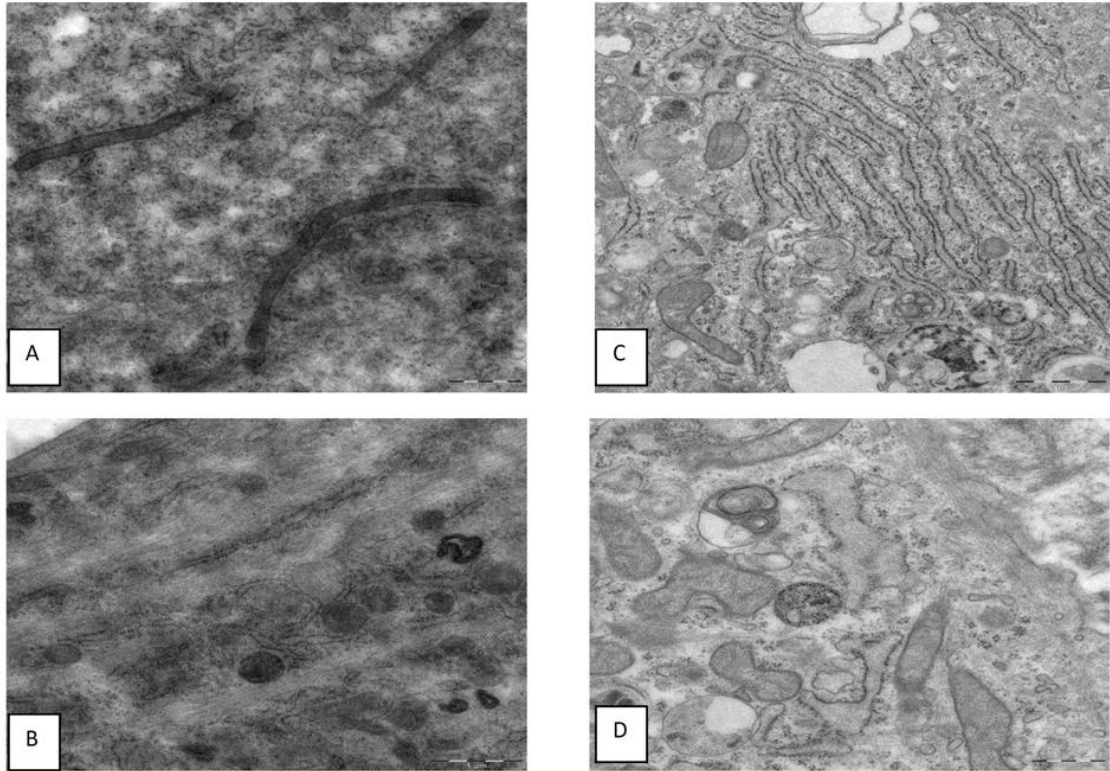


Fig. 12.- Análisis de la ultraestructura mediante microscopía de transmisión en la que se observan fotografías de fibroblastos humanos cultivados a largo plazo en medio DMEM suplementado con PRP (A,B) y SBF (C,D) como única fuente de FC.

VI. DISCUSIÓN

La incidencia de UPP es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como uno de sus indicadores para evaluar la calidad asistencial de un país, ya que estas representan un importante problema asistencial dado su prevalencia y el impacto sobre la salud y la calidad de vida de los pacientes. Además, se asocian con un aumento de estancia hospitalaria y se correlacionan con un incremento en los costes hospitalarios. El desarrollo de una UPP supone el riesgo de otros problemas clínicos, por lo que su prevención es primordial. Esto ha dado lugar a que distintos profesionales de la salud se hayan dedicado en los últimos años a estudiar nuevas estrategias para su tratamiento. Pero es el personal de enfermería el que más inquietud muestra por este problema sanitario, ya que sobre este profesional recae la responsabilidad e interés en la búsqueda de alternativas orientadas a la prevención, cuidado y tratamientos de las UPP.

Por todo lo anteriormente expuesto, en la presente Tesis Doctoral nos planteamos como objetivo, el estudiar una nueva alternativa en el tratamiento y cuidado de las UPP, mediante la realización de un ensayo clínico; así como, indagar sobre el posible mecanismo por el que dicha alternativa actúa sobre el proceso de cicatrización, mediante el estudio *in vitro* con células humanas en cultivo.

Ensayo Clínico.

El PRGF y el AH han sido aplicados como alternativas al tratamiento estándar de las UPP con la finalidad de favorecer la cicatrización de la lesión que éstas entrañan. El PRGF se ha empleado como fuente de FC de carácter autólogo, al objeto de propiciar la regeneración

de los tejidos lesionados, y por lo tanto favorecer su cicatrización, y el AH se ha usado porque a nivel tisular puede actuar modulando la hidratación y el balance osmótico.

La población utilizada para llevar a cabo el presente estudio ha estado compuesta tanto por hombres como por mujeres con el perfil típico de la población de riesgo para padecer una UPP. Pacientes de edad avanzada (82.54 años), mayoritariamente mujeres (60%), con un alto grado de dependencia (el 90% dependientes totales según la escala de Barthel) y residentes en un Centro de Mayores o de Asistencia a Crónicos; en los que las úlceras se encontraban localizadas mayoritariamente en el talón, seguida de coxis y de trocánter. Todos estos datos nos indican que el estudio se ha realizado sobre una población que representa en gran medida a la población media que padece una UPP y que comúnmente nos la vamos a encontrar en la mayoría de los estudios de UPP (Flattau & Blank, 2012; Fogerty et al., 2008). Este aspecto es de gran transcendencia, ya que los resultados aquí obtenidos serán susceptibles de ser plenamente extrapolables al terreno clínico diario.

La valoración de los datos obtenidos en el presente ensayo clínico nos indica que la utilización del PRGF y del PRGF más AH en el tratamiento y cuidado de las UPP se muestra como una metodología útil que favorece la cicatrización de las UPP. Este hecho va unido a que es una técnica sencilla, fácil de aplicar y que supone un bajo coste económico.

Nuestro estudio muestra que la combinación del PRGF y el AH produce una disminución del 100% de la lesión a los 36 días en el 37.5% de los pacientes que siguieron este protocolo de tratamiento. Si bien, según arrojan los datos de la monitorización de la lesión, entre los 15 y 20 días de aplicado el PRGF, el proceso de cicatrización sufre una cierta ralentización, siendo en los primeros días posteriores al tratamiento donde se observan los

efectos más llamativos. Lo que nos sugiere que la efectividad del plasma tiene lugar en los primeros días posteriores al tratamiento y una vez iniciada la regeneración del tejido la evolución es más lenta. Nuestros resultados están en consonancia con los obtenidos por Scevola et al. (2010) cuando tratan UPP con gel de plaquetas alogénico. Estos autores sugieren que el gel es más efectivo en las dos primeras semanas de tratamiento. Pero a diferencia con nuestro ensayo clínico, este estudio pone de manifiesto que el tratamiento prolongado no proporciona ninguna ventaja significativa en comparación con el protocolo estándar, o de buena práctica, en el tratamiento de úlceras crónicas. El uso del gel de plaquetas alogénico se fundamenta igualmente en su alto contenido en FC, si bien su procedencia no autóloga podría de algún modo interferir en la evolución del proceso de cicatrización, lo que podría justificar una progresión diferente a la esperada.

Nuestros resultados corroboran la efectividad del PRGF descrita por otros autores en el tratamiento de heridas crónicas en general (Anitua et al., 2008; de Leon et al., 2011; J. Liu, Yuan, & Zhang, 2011; Orcajo et al., 2011). En los estudios realizados por Anitua (2008) y de Leon et al. (2011) se hace una valoración conjunta de heridas crónicas de diferente etiología, y aún cuando los datos son favorables en relación a la cicatrización de las heridas estudiadas, creemos que la valoración conjunta de los casos para determinar la utilidad del PRGF en el tratamiento de lesiones crónicas, entre las que se incluyen úlceras por presión, puede interferir en la interpretación de los resultados; siendo conveniente hacer una valoración por grupos de pacientes con úlceras de una misma etiología, ya que ello puede tener importantes repercusiones en el proceso evolutivo de la cicatrización de las mismas. Por otra parte, los artículos de Anitua et al. (2008) y de Leon et al. (2011) no describen la dosis utilizada de PRGF en el tratamiento de úlceras, aspecto éste especialmente

importante, ya que hay un estudio *in vitro* que describe que dosis elevadas de PRP muestran un efecto adverso sobre el crecimiento celular (Hsu, Yuan, & Tseng, 2009).

Los estudios de Liu et al. (2011) y Orcajo et al. (2011) muestran, al igual que nuestro estudio, que el PRGF puede cicatrizar completamente heridas crónicas de tejidos blandos. Así, Liu et al. (2011) muestran la evolución de tres pacientes (35-42 años) con heridas crónicas de etiología traumática, dos por accidente de coche y una de cirugía espinal, con una evolución progresiva hasta su total cicatrización tras el tratamiento con una dosis no descrita de plasma. En el estudio de Orcajo et al. (2011) lo que se trata es un pie diabético, el cual igualmente evoluciona de manera favorable hasta su cicatrización.

El análisis de la evolución del tamaño de la lesión en los distintos grupos de estudio muestra claramente que los tres protocolos de tratamiento disminuyen de manera significativa el tamaño de la lesión, mostrándose en orden de efectividad el protocolo C, seguido del B y finalmente el protocolo A. Según estos datos podemos sugerir que la aplicación de nuevas dosis en el tiempo favorece el proceso de cicatrización; y además que el AH parece contribuir a mejorar dicho proceso.

Cuando el AH ha sido aplicado a nivel tisular, clásicamente se le han atribuido propiedades lubricantes, higroscópicas y homeostáticas. Actualmente sabemos que la acción que desempeña después de su aplicación es más compleja; actuando tanto a nivel de la matriz extracelular como a nivel del tejido epitelial, para favorecer su regeneración (Beasley et al., 2009; Price et al., 2007; Saito, Furuya, & Kotake, 2010; Vogel, Crockett, Oden, Laliberte, & Molina, 2010).

La utilidad del AH ha sido ampliamente demostrada en distintos campos clínicos; sin embargo, hay muy pocos datos de su uso en el tratamiento de UPP, o en su aplicación junto a FC. Nuestros datos ponen de manifiesto que la asociación de AH y PRGF puede ser una estrategia válida para favorecer la regeneración de tejidos y por lo tanto el AH se presenta como un buen coadyuvante de PRGF, cuya aplicación asociada al PRGF en el tratamiento de UPP puede suponer una disminución del área de la herida y un incremento de la probabilidad de cicatrización total de la lesión.

Otro aspecto importante que hemos observado es que, de las 124 UPP incluidas en el estudio, ninguna mostró signos de infección. Sabemos que una de las principales complicaciones en el cuidado de las UPP es la infección de la lesión, la cual puede no sólo afectar a la evolución del proceso de cicatrización de forma negativa, sino que incluso puede comprometer la vida del paciente (Aitken et al., 2011; Ramarathnam et al., 2013; Soldera, Nedel, Cardoso, & d' Azevedo, 2013). En este sentido sabemos que el gel de plaquetas presenta actividad antibacteriana. Una de las primeras descripciones de dicha actividad fue realizada en 2008 por Moojen et al.. Estos autores describen que el PRP posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, efecto que se mostró máximo en las primeras horas del cultivo, concretamente entre las 4 a 8 horas del cultivo del microorganismo en presencia de PRP. El efecto observado no sólo inhibió el crecimiento bacteriano sino que disminuyó 100 veces el número de microorganismos del inóculo inicial, lo que sugiere que el PRP no sólo tiene efecto bacteriostático sino también efecto bactericida, sobre esta población bacteriana. La actividad antibacteriana se atribuyó inicialmente a la presencia de mieloperoxidasas en el gel de plaquetas. Pero estos autores, al determinar el papel de la actividad mieloperoxidasa sobre la acción antimicrobiana

detectada en el PRP, no encontraron correlación entre la muerte bacteriana y esta actividad enzimática.

Posteriores estudios han confirmado que el PRGF, en diversas formulaciones, tiene efecto antibacteriano frente a distintos microorganismos, tanto Gram positivos (*Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus epidermidis*) como Gram negativos (*Escherichia coli*) (Anitua et al., 2012). Si bien, hay estudios que encuentran actividad frente a *S. aureus* y *E. coli*, pero no frente a *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa* (Bielecki et al., 2007). Este efecto detectado en el PRGF es de gran importancia clínica, ya que no sólo favorecería la regeneración del tejido sino que preservaría, al menos en las primeras horas de su aplicación en el lecho de la herida, de la posible contaminación de la lesión, lo cual claramente contribuye a la regeneración del tejido. No obstante, hasta la fecha desconocemos el mecanismo por el que el PRGF actúa inhibiendo el crecimiento bacteriano.

Los pacientes que han formado nuestra población de estudio, en muchos de los casos, estaban bajo tratamiento farmacológico, y dado que hay referencias que muestran que determinados fármacos pueden tener efecto sobre los procesos de regeneración tisular, tanto de forma favorable como de forma adversa (Díaz-Rodríguez, García-Martínez, Morales, et al., 2012; Farsaei, Khalili, & Farboud, 2012; García-Martínez et al., 2011; Serra et al., 2013), es por lo que hemos analizado la relación entre la cicatrización y el consumo de determinados fármacos (AINEs, Estatinas, Heparinas y Hormona Tiroidea).

Los AINEs son fármacos comúnmente utilizados por su acción farmacológica como analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios, cuyo consumo es habitual en la población anciana. En nuestro estudio el 50% de los pacientes tomaban de forma habitual algún tipo

de AINE. Nuestros resultados muestran que no hay relación, ni positiva ni negativa significativa, entre el consumo de AINEs y la evolución de la cicatrización. En este sentido sabemos que los AINEs tienen un efecto adverso sobre la regeneración del tejido óseo (Ho, Chang, & Wang, 1995; Pape et al., 2010), y es sobre el osteoblasto sobre quien ejerce su acción. Pero también es sabido que no todos los AINEs tienen este efecto; así, el ibuprofeno, uno de los AINEs más utilizados en clínica, no tiene acción sobre el crecimiento del osteoblasto (Díaz-Rodríguez, García-Martínez, De Luna-Bertos, Ramos-Torrecillas, & Ruiz, 2012), célula responsable de la formación y regeneración del hueso (Eriksen, 2010). De modo, que el efecto de los AINEs sobre la regeneración ósea depende de diversos factores como la dosis y el principio activo (Arpornmaeklong, Akarawatcharangura, & Pripatnanont, 2008; Salari & Abdollahi, 2009). Esto nos sugiere que la ausencia de relación entre cicatrización y consumo de AINEs puede ser debida a que estos fármacos no actúen sobre las poblaciones celulares implicadas en este proceso regenerativo, o bien a la naturaleza química del AINE consumido en cada caso.

En un ensayo clínico realizado en 142 pacientes se demuestra que la administración subcutánea de 2850 UI/0.3 ml de Heparina de bajo peso molecular (Nadroparin) durante 12 meses favorece la cicatrización de úlceras venosa (Serra et al., 2013). Por ello, en la presente Tesis hemos valorado la relación del consumo de Heparina y la cicatrización de las UPP tratadas. Nuestros datos no muestran asociación estadística entre la evolución de las UPP y el consumo de Heparina; si bien, hemos de señalar que nuestros resultados no son concluyentes dado que el número de pacientes a los que se les administró durante el ensayo Heparina eran solo 7 de los 100 que participaron en el estudio.

La administración de Hormona Tiroidea ha sido otro de los fármacos que se han valorado en nuestro estudio. Los resultados revelan una asociación positiva pero ésta no llega a ser significativa estadísticamente. En este caso igualmente pensamos que el número de pacientes con UPP a los que se les ha prescrito Hormona Tiroidea por padecer hipotiroidismo era muy reducido (6%) lo que dificulta la valoración. En relación con la Hormona Tiroidea, hemos de señalar que ha sido descrito que esta hormona juega un importante papel en la proliferación epidérmica y en la cicatrización de heridas; si bien se desconoce su acción fisiológica a nivel de la piel (Zhang et al., 2012). Tarameshloo et al. (2012) en un estudio experimental realizado en ratas Wistar muestran el efecto beneficioso de la aplicación tópica sobre heridas de una crema en donde se asocia Hormona Tiroidea y gel de Aloe Vera.

Finalmente, otro de los fármacos que han sido estudiados son las Estatinas, las cuales eran administradas a un elevado número de pacientes de la población de estudio (82 pacientes). Nuestros resultados muestran que el consumo de Estatinas tiene una relación inversa significativa con el proceso evolutivo de la lesión. En este sentido, hay distintos estudios que muestran que la administración de distintos tipos de Estatinas, bien de forma oral y preferiblemente de forma tópica, mejoran la cicatrización de heridas, fundamentalmente en modelos animales (Bitto et al., 2008; Schiefelbein et al., 2008; Uygur, Noyan, & Hahaolu, 2010). Su utilidad en la regeneración tisular se basa en su papel en la angiogénesis y por consiguiente en la cicatrización de heridas (Galeano et al., 2003). No obstante, hay cierta controversia sobre el efecto de las Estatinas sobre la cicatrización, en donde la dosis y el tipo parece ser determinante. Por otra parte, los estudios existentes

hasta la fecha se basan en estudios animales con un tamaño de muestra pequeño y un seguimiento a corto plazo (Farsaei et al., 2012).

En el presente estudio también hemos analizado la posible correlación entre la evolución de la cicatrización y otros parámetros clínicos del paciente, encontrando que no hay una relación entre la evolución de la herida y el contenido en albúmina o el contenido en proteínas totales que presentaba el paciente en el momento de iniciado el tratamiento. De Leon et al. (2011) tampoco encuentran relación entre el efecto observado al aplicar PRGF y los niveles de albumina y hemoglobina detectados en suero del paciente. Sin embargo, creemos que estos factores aunque no son determinantes, como así lo demuestra el análisis estadístico, sí que de algún modo pueden repercutir en el proceso de regeneración tisular. Si observamos los valores presentados por los distintos pacientes, estos no se alejan mucho de los valores considerados fisiológicos, lo que explicaría el que no hayamos encontrado una relación entre variables (parámetros bioquímicos y cicatrización).

Otra de las variables analizadas en relación con la evolución del proceso de cicatrización ha sido el número de plaquetas presentes en la sangre del paciente. Nuestros resultados, en contra de lo que cabría esperar, han mostrado una relación negativa. La justificación del uso del PRGF en la regeneración de tejidos recae en el mayor número de plaquetas y por tanto en una mayor presencia de FC contenidos en sus gránulos α (Sánchez et al., 2003). En relación con nuestros resultados el estudio de Hsu et al. (2009), describe que dosis elevadas de plaquetas muestran un efecto adverso sobre el crecimiento celular. Por otra parte, hay que señalar que en nuestro estudio el número medio de plaquetas (325 plaquetas/mm³) se encuentra próximo al rango superior del valor medio fisiológico (150-400 plaquetas/mm³). Por lo que se nos plantea la duda de si un aumento del número de

plaquetas puede suponer un menor contenido en las mismas de FC, por lo que la causa de esta relación inversa podría recaer en el contenido y no en el número propiamente.

Junto a estos factores clínicos del paciente, que de algún modo pueden interferir o contribuir en el proceso de cicatrización, sin duda la dosis de PRGF empleada en el tratamiento en relación al tamaño de la lesión, en cada caso, es otro aspecto importante a considerar a la hora de interpretar los resultados. Este hecho contrasta con los estudios realizados en donde no es común encontrar datos concretos sobre la dosis de tratamiento. Así, en los estudios realizados por Anitua et al. (2008) y de Leon et al. (2011) en úlceras crónicas, no se incluyen los parámetros bioquímicos y hematológicos del paciente, ni la dosis de tratamiento.

En resumen, los datos aquí mostrados, como los descritos por otros autores (Anitua, Alkhraisat, & Orive, 2011), revelan que el uso del PRGF en la regeneración de tejidos puede ser de gran utilidad en los distintos campos de la clínica, desde la enfermería, a la odontología, a la traumatología, o a la cirugía plástica entre otras. Además, estos datos clínicos quedan corroborados a nivel de laboratorio, en donde se demuestra que el PRP actúa favoreciendo el crecimiento de distintas poblaciones celulares (Anitua, Sanchez, Merayo-Lloves, et al., 2011a; García-Martínez et al., 2011). No obstante, junto a los trabajos que muestran el efecto beneficioso del PRGF en el tratamiento de úlceras en general, hay algunos estudios que muestran ausencia de efecto del PRGF en la regeneración del tejido lesionado (Woodall et al., 2007). Creemos que un aspecto especialmente importante a tener en cuenta a la hora de hacer una valoración de la utilidad del PRGF es conocer el estado general del paciente. En este sentido, en nuestro estudio señalaremos que los pacientes presentaban un perfil bioquímico y hematológico próximo a lo que se considera normal o

fisiológico. Esta circunstancia creemos que de algún modo ha contribuido al éxito del estudio. No obstante, y como es sabido, no todas las úlceras responden al tratamiento estándar (Braund, Hook, & Medlicott, 2007); por ello, pensamos que la utilización de técnicas y tratamientos alternativos en el proceso de cicatrización de las UPP se hace necesario, y es en este sentido, en donde proponemos el uso del PRGF, y preferiblemente la asociación de PRGF-AH, como una técnica de bajo costo y segura para el paciente, que mejora el bienestar del mismo al acortar el tiempo de curación de la herida. Por otra parte y a la luz de nuestros resultados, creemos que es necesario estudiar más en profundidad esta alternativa en los cuidados de las UPP.

Estudio *in vitro*.

El PRP ha sido propuesto como una estrategia útil en el tratamiento de diferentes lesiones tisulares, generalmente de carácter crónico, en las que se ven implicados diferentes tejidos (de Leon et al., 2011). A nivel de tejidos blandos el PRGF ha sido utilizado en cirugía plástica y reparadora y en el tratamiento de úlceras de diferente naturaleza y etiología (Frykberg et al., 2010; Kakudo, Kushida, Minakata, Suzuki, & Kusumoto, 2011). Y son los fibroblastos las principales células implicadas en la regeneración de tejidos blandos; así como, en la reparación de otras lesiones. En el proceso de reparación y en la fase de remodelación los fibroblastos se diferencian a miofibroblastos, células que contienen a nivel del citoesqueleto filamentos contráctiles de α -actina. Durante el proceso de regeneración o reparación de heridas, son los miofibroblastos los responsables de la contracción de la lesión y del depósito y reorganización de la matriz extracelular, por lo que se les atribuye,

igualmente, un papel importante en la cicatrización de heridas (Desmoulière, Chaponnier, & Gabbiani, 2005). Por otra parte, el TGF- β ha sido identificado como uno de los principales FC implicados en la inducción de la diferenciación de fibroblasto a miofibroblasto (Saika et al., 2006).

Nuestros resultados muestran que el PRP favorece el aislamiento y cultivo de los fibroblastos como consecuencia de una mayor capacidad proliferativa en relación al SBF, que es la fuente de FC que comúnmente se utiliza para el aislamiento y cultivos de poblaciones celulares. Estos resultados guardan relación con la mayor tasa de crecimiento detectada en estas células respecto de la mostrada por las células procedentes del mismo tejido, aisladas y cultivadas en presencia de SBF. Sin embargo, al mantener las líneas celulares a largo plazo desaparecen estas diferencias, observándose un ligero incremento de la tasa de crecimiento en los cultivos en presencia de SBF respecto a los mantenidos en presencia de PRP. Estos resultados pueden guardar relación con los estudios *in vitro* realizados en otras poblaciones celulares. En el caso del osteoblasto es sabido que cuando se aíslan de muestras de hueso humano y cultivan en presencia de PRP, presentan una mayor tasa de crecimiento, sin que haya afectación del ciclo celular, aspecto este de especial relevancia dado que altas concentraciones de FC podrían modificar el ciclo celular, con todo lo que ello implica. No obstante, estas líneas celulares muestran un agotamiento y envejecimiento prematuro, el cual ha sido relacionado con el incremento del porcentaje en fase G₀/G₁ de los cultivos de osteoblastos en presencia de PRP a largo plazo. (García-Martínez et al., 2011).

Además, nuestros resultados *in vitro* ayudarían a explicar los resultados obtenidos *in vivo*, tanto en nuestro ensayo clínico como en otros estudios (Scevola et al., 2010), en donde

se demuestra que la administración tópica de gel de plaquetas sobre las heridas crónicas es más efectiva durante las dos primeras semanas de tratamiento. Asimismo, en nuestros resultados del ensayo clínico, observamos que en donde aplicamos una única dosis de PRGF, a partir de las dos primeras semanas de tratamiento se produce un estancamiento en la evolución de la herida o cicatrización de la misma, hecho que explica que en este protocolo de tratamiento el porcentaje de cicatrización después de 36 días sea del 48,38% frente al 80,48% obtenido con dos dosis y AH, y unido a que solo el 8.82% de los pacientes muestren la cicatrización total de la herida frente al 32% y 37.5% observado con dos dosis de PRGF y dos dosis de PRGF más AH, respectivamente. Hay que señalar, que en estas dos últimas pautas de tratamiento fue a los 15 días, cuando se aplicó una nueva dosis de gel de plaquetas, lo que pudo suponer una nueva estimulación del proceso de regenerativo de la lesión, con un nuevo ciclo de incremento de la capacidad proliferativa del fibroblasto seguido de la inducción de su diferenciación a miofibroblasto, el cual contribuiría a aumentar el grado de cicatrización de la herida y en algunos casos llegaría incluso a completarla.

La mayor tasa de crecimiento detectada en los cultivos en presencia de PRP en cultivos a corto plazo estaría en consonancia con los resultados descritos por otros autores (Anitua, Sanchez, De la Fuente, Zalduendo, & Orive, 2011b; Krasna, Domanović, Tomsic, Svajger, & Jeras, 2007) en los que se muestra que el PRP aumenta el crecimiento celular de manera dosis dependiente. No obstante, hemos de señalar que las condiciones de cultivo empleadas en el presente estudio difieren de las utilizadas por dichos autores, ya que en nuestro estudio las líneas celulares son establecidas y mantenidas con una única fuente de FC desde el inicio del cultivo, PRP o SBF; por otra parte, al comparar la tasa de crecimiento,

se ha utilizado la misma concentración de fuente de FC, en ambos casos, un 10% de PRP o un 10% de SBF, a diferencia del estudio de Anitua et al. (2011b) en el que compara una concentración del 2% de SBF frente a concentraciones del orden del 10% en el caso del PRP.

Los estudios morfológicos y antigénicos ponen de manifiesto que la presencia de PRP en el medio de cultivo a largo plazo como única fuente de factores de crecimiento induce la diferenciación del fibroblasto, observándose dos poblaciones morfológicamente diferentes y con diferencias ultraestructurales. Esta diferenciación observada *in vitro* afecta a más del 50% de la población celular, la cual muestra una expresión positiva para la α -actina, lo que nos sugiere que el PRP induce la diferenciación del fibroblasto a miofibroblasto. Estos resultados están en consonancia con el estudio de Saika et al. (2006) el cual demuestra que el TGF- β 1 es el principal inductor de la diferenciación de fibroblasto a miofibroblasto, ya que entre los factores de crecimiento contenidos en los gránulos α de las plaquetas se encuentra el TGF- β 1 (Anitua et al., 2007; Nurden, Nurden, Sanchez, Andia, & Anitua, 2008). Por otra parte, es sabido que el TGF- β 1 juega un papel importante en la regeneración de tejidos blandos, ya que, junto a su papel morfogenético, también está estrechamente implicado en la síntesis de colágeno (Shi & Massagué, 2003).

Estudios recientes realizados por Anitua et al. (2011a), muestran que el PRP previene e inhibe la diferenciación inducida por TGF- β 1 a miofibroblasto. Estos datos, de algún modo contradicen la utilidad del uso del PRP en la regeneración de tejidos, ya que el PRP impediría la función del TGF- β 1 presente fisiológicamente en los tejidos e inhibiría la presencia de miofibroblastos en el tejido en reparación, dificultando el proceso de cicatrización, ya que, como es sabido, el miofibroblasto juega un papel clave a nivel de la regeneración del tejido blando (Desmoulière et al., 2005). Por el contrario, los datos aquí mostrados sí que

explicarían el papel del PRP *in vivo*, aumentando la proliferación de los fibroblastos a corto plazo, y a largo plazo induciendo la diferenciación de parte de esta población a miofibroblasto, el cual contribuiría a la regeneración de la matriz del tejido lesionado.

Todos los datos aquí mostrados nos sugieren claramente que el PRGF es una alternativa útil en el tratamiento y cuidado de las UPP, capaz de reducir el área de la lesión y aumentar el porcentaje de úlceras que cicatrizan completamente. Por otra parte, la asociación del AH al PRGF mejora la efectividad del mismo. Este efecto sobre el proceso de cicatrización puede verse modulado por el tratamiento farmacológico que siga el paciente, como es el caso de las Estatinas que muestran un efecto adverso, o por los parámetros bioquímicos y hematológicos que presente.

A las propiedades cicatrizantes mostradas por el PRFG en este estudio hay que unir otros aspectos no menos importantes desde el punto de vista sanitario como su posible acción antibacteriana, su bajo coste económico y su fácil obtención y aplicación.

En relación al mecanismo de acción del PRP en la regeneración de la UPP nuestros datos sugieren, sin descartar otras posibles acciones, que actúa mediante la activación de la proliferación del fibroblasto y su posterior diferenciación a miofibroblasto.

VII. CONCLUSIONES/CONCLUSIONS

- 1.- El PRGF es una alternativa útil, económica y fácil de aplicar para el tratamiento de las UPP, el cual actúa disminuyendo el área de la lesión y aumentando el porcentaje de cicatrización completa de la herida.
- 2.- El AH asociado al PRGF contribuye a mejorar el proceso de cicatrización de las UPP.
- 3.- La efectividad del tratamiento de las UPP con PRGF o PRGF-AH puede verse modulada por el consumo de fármacos y por los parámetros bioquímicos y hematológicos del paciente.
- 4.- Los fibroblastos humanos cultivados en presencia de PRP, como única fuente de FC, presentan una mayor tasa de crecimiento en cultivos a corto plazo, y diferenciación a miofibroblastos en cultivos a largo plazo.

- 1.- PRGF offers a useful, economical and easily-applied approach for the treatment of pressure ulcers, which acts by reducing their surface area and increasing the percentage in which the wound-healing is complete.
- 2.- HA in association with PRGF contributes to enhancing the pressure ulcer healing process.
- 3.- The effectiveness of pressure ulcer treatment using plasma rich in growth factors with or without HA can be modified by the consumption of pharmaceuticals and by the patient's biochemical and/or haematological profile.
- 4.- Human fibroblasts cultured in the presence of platelet-rich plasma as the sole growth factor source show a higher proliferation rate in short-term cultures and a higher differentiation rate to myofibroblasts in long-term cultures in comparison to cultures in the presence of foetal bovine serum.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Agrawal, K., & Chauhan, N. (2012). Pressure ulcers: Back to the basics. *Indian journal of plastic surgery: official publication of the Association of Plastic Surgeons of India*, 45(2), 244-254. doi:10.4103/0970-0358.101287
- Aitken, L. M., Williams, G., Harvey, M., Blot, S., Kleinpell, R., Labeau, S., ... Ahrens, T. (2011). Nursing considerations to complement the Surviving Sepsis Campaign guidelines. *Critical care medicine*, 39(7), 1800-1818. doi:10.1097/CCM.0b013e31821867cc
- Anitua, E. (2001a). The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Practical Procedures & Aesthetic Dentistry: PPAD*, 13(6), 487-493; quiz 487-493.
- Anitua, E. (2001b). *A New Approach to Bone Regeneration: Plasma Rich in Growth Factors*. Puesta al Dia Publicaciones, S.L.
- Anitua, E., Aguirre, J. J., Algorta, J., Ayerdi, E., Cabezas, A. I., Orive, G., & Andia, I. (2008). Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *Journal of Biomedical Materials Research. Part B, Applied Biomaterials*, 84(2), 415-421. doi:10.1002/jbm.b.30886
- Anitua, E., Alkhraisat, M. H., & Orive, G. (2011). Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*. doi:10.1016/j.jconrel.2011.07.004
- Anitua, E., Alonso, R., Girbau, C., Aguirre, J. J., Muruzabal, F., & Orive, G. (2012). Antibacterial effect of plasma rich in growth factors (PRGF®-Endoret®) against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains. *Clinical and experimental dermatology*, 37(6), 652-657.
- Anitua, E., Andía, I., Sanchez, M., Azofra, J., Zalduendo, M. M., de la Fuente, M., ... Nurden, A. T. (2005). Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, 23(2), 281-286. doi:10.1016/j.orthres.2004.08.015
- Anitua, E., Sanchez, M., Merayo-Llodes, J., De la Fuente, M., Muruzabal, F., & Orive, G. (2011a). Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates proliferation and migration of primary keratocytes and conjunctival fibroblasts and inhibits and reverts TGF-beta1-Induced myodifferentiation. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 52(9), 6066-6073. doi:10.1167/iovs.11-7302
- Anitua, E., Sanchez, M., De la Fuente, M., Zalduendo, M. M., & Orive, G. (2011b). Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates tendon and synovial fibroblasts migration and improves the biological properties of hyaluronic acid. *Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy: Official Journal of the ESSKA*. doi:10.1007/s00167-011-1697-4

Anitua, E., Sánchez, M., Nurden, A. T., Nurden, P., Orive, G., & Andía, I. (2006). New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends in Biotechnology*, 24(5), 227-234. doi:10.1016/j.tibtech.2006.02.010

Anitua, E., Sanchez, M., Nurden, A. T., Zalduendo, M., de la Fuente, M., Azofra, J., & Andia, I. (2007). Reciprocal actions of platelet-secreted TGF-beta1 on the production of VEGF and HGF by human tendon cells. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 119(3), 950-959. doi:10.1097/01.prs.0000255543.43695.1d

Antoniades, H. N., & Williams, L. T. (1983). Human platelet-derived growth factor: structure and function. *Federation Proceedings*, 42(9), 2630-2634.

Arenas, R., & Ávalos-Díaz, E. (2004). *Dermatología: Atlas, diagnóstico y tratamiento* (3.^a ed.). McGraw-Hill Interamericana.

Arpornmaeklong, P., Akarawatcharangura, B., & Pripatnanont, P. (2008). Factors influencing effects of specific COX-2 inhibitor NSAIDs on growth and differentiation of mouse osteoblasts on titanium surfaces. *The International journal of oral & maxillofacial implants*, 23(6), 1071-1081.

Atri, S. C., Misra, J., Bisht, D., & Misra, K. (1990). Use of homologous platelet factors in achieving total healing of recalcitrant skin ulcers. *Surgery*, 108(3), 508-512.

Attinger, C. E., Janis, J. E., Steinberg, J., Schwartz, J., Al-Attar, A., & Couch, K. (2006). Clinical approach to wounds: débridement and wound bed preparation including the use of dressings and wound-healing adjuvants. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7 Suppl), 72S-109S. doi:10.1097/01.prs.0000225470.42514.8f

Barrientos, S., Stojadinovic, O., Golinko, M. S., Brem, H., & Tomic-Canic, M. (2008). Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16(5), 585-601. doi:10.1111/j.1524-475X.2008.00410.x

Bartkova, J., Grøn, B., Dabelsteen, E., & Bartek, J. (2003). Cell-cycle regulatory proteins in human wound healing. *Archives of Oral Biology*, 48(2), 125-132. doi:10.1016/S0003-9969(02)00202-9

Bauer, S. M., Bauer, R. J., & Velazquez, O. C. (2005). Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. *Vascular and endovascular surgery*, 39(4), 293-306.

Beasley, K. L., Weiss, M. A., & Weiss, R. A. (2009). Hyaluronic acid fillers: a comprehensive review. *Facial Plastic Surgery: FPS*, 25(2), 86-94. doi:10.1055/s-0029-1220647

Beeckman, D., Schoonhoven, L., Fletcher, J., Furtado, K., Gunningberg, L., Heyman, H., ... Defloor, T. (2007). EPUAP classification system for pressure ulcers: European reliability study. *Journal of Advanced Nursing*, 60(6), 682-691. doi:10.1111/j.1365-2648.2007.04474.x

- Bennett, N. T., Griffiths, G. D., Schor, A. M., Leese, G. P., & Schor, S. L. (2003). Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers. *The British journal of surgery*, *90*(2), 133-146. doi:10.1002/bjs.4019
- Bergstrom, N., Braden, B., Laguzza, A., & Holman, V. (1987). The Braden Scale for Predicting Pressure Sore Risk. *Nursing research*, *36*(4), 205-210.
- Bergstrom, N., Demuth, P., & Braden, B. (1987). A clinical trial of the Braden Scale for Predicting Pressure Sore Risk. *The Nursing clinics of North America*, *22*(2), 417-428.
- Bergstrom, N., Horn, S. D., Smout, R. J., Bender, S. A., Ferguson, M. L., Taler, G., ... Voss, A. C. (2005). The National Pressure Ulcer Long-Term Care Study: Outcomes of Pressure Ulcer Treatments in Long-Term Care. *Journal of the American Geriatrics Society*, *53*(10), 1721-1729. doi:10.1111/j.1532-5415.2005.53506.x
- Bertheim, U., & Hellström, S. (1994). The distribution of hyaluronan in human skin and mature, hypertrophic and keloid scars. *British journal of plastic surgery*, *47*(7), 483-489.
- Bhanot, S., & Alex, J. C. (2002). Current applications of platelet gels in facial plastic surgery. *Facial Plastic Surgery: FPS*, *18*(1), 27-33. doi:10.1055/s-2002-19824
- Bielecki, T. M., Gazdzik, T. S., Arendt, J., Szczepanski, T., Król, W., & Wielkoszynski, T. (2007). Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*, *89*(3), 417-420. doi:10.1302/0301-620X.89B3.18491
- Bitar, M. S. (2000). Insulin and glucocorticoid-dependent suppression of the IGF-I system in diabetic wounds. *Surgery*, *127*(6), 687-695. doi:10.1067/msy.2000.105869
- Bitto, A., Minutoli, L., Altavilla, D., Polito, F., Fiumara, T., Marini, H., ... Squadrito, F. (2008). Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. *Pharmacological research: the official journal of the Italian Pharmacological Society*, *57*(2), 159-169. doi:10.1016/j.phrs.2008.01.005
- Blanco, J. B., & Torralba, J. B. (2009). Control local de la carga bacteriana en un úlcera por presión infectada. Mediante un apósito hidropolimérico con plata iónica. *Revista ROL de enfermería*, *32*(10), 7-14.
- Bonete Lluch, D. (2006). *Valoración de la regeneración ósea en un modelo animal: Utilización del Plasma Rico en Plaquetas en la curación de los defectos óseos. Estudio preliminar para un diseño experimental en conejos.* (Tesis doctoral). Universidad de Valencia, Valencia.
- Bouten, C. V., Oomens, C. W., Baaijens, F. P., & Bader, D. L. (2003). The etiology of pressure ulcers: skin deep or muscle bound? *Archives of physical medicine and rehabilitation*, *84*(4), 616-619. doi:10.1053/apmr.2003.50038

- Bowen-Pope, D. F., van Koppen, A., & Schatteman, G. (1991). Is PDGF really important? Testing the hypotheses. *Trends in Genetics: TIG*, 7(11-12), 413-418.
- Bowler, P. G., Duerden, B. I., & Armstrong, D. G. (2001). Wound Microbiology and Associated Approaches to Wound Management. *Clinical Microbiology Reviews*, 14(2), 244-269. doi:10.1128/CMR.14.2.244-269.2001
- Braden, B. J., & Bryant, R. (1990). Innovations to prevent and treat pressure ulcers. *Geriatric nursing (New York, N.Y.)*, 11(4), 182-186.
- Bradham, D. M., Igarashi, A., Potter, R. L., & Grotendorst, G. R. (1991). Connective tissue growth factor: a cysteine-rich mitogen secreted by human vascular endothelial cells is related to the SRC-induced immediate early gene product CEF-10. *The Journal of cell biology*, 114(6), 1285-1294.
- Braund, R., Hook, S., & Medlicott, N. J. (2007). The role of topical growth factors in chronic wounds. *Current Drug Delivery*, 4(3), 195-204.
- Brem, H., & Lyder, C. (2004). Protocol for the successful treatment of pressure ulcers. *The American Journal of Surgery*, 188(1, Supplement 1), 9-17. doi:10.1016/S0002-9610(03)00285-X
- Brem, H., Maggi, J., Nierman, D., Rolnitzky, L., Bell, D., Rennert, R., ... Vladeck, B. (2010). High cost of stage IV pressure ulcers. *The American Journal of Surgery*, 200(4), 473-477. doi:10.1016/j.amjsurg.2009.12.021
- Broughton, G., 2nd, Janis, J. E., & Attinger, C. E. (2006). The basic science of wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 117(7 Suppl), 12S-34S. doi:10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2
- Bussolino, F., Di Renzo, M. F., Ziche, M., Bocchietto, E., Olivero, M., Naldini, L., ... Comoglio, P. M. (1992). Hepatocyte growth factor is a potent angiogenic factor which stimulates endothelial cell motility and growth. *The Journal of cell biology*, 119(3), 629-641.
- Camargo, P. M., Lekovic, V., Weinlaender, M., Vasilic, N., Madzarevic, M., & Kenney, E. B. (2002). Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *Journal of Periodontal Research*, 37(4), 300-306.
- Carlson, N. E., & Roach, R. B., Jr. (2002). Platelet-rich plasma: clinical applications in dentistry. *Journal of the American Dental Association*, 133(10), 1383-1386.
- Carruthers, J., & Carruthers, A. (2003). A prospective, randomized, parallel group study analyzing the effect of BTX-A (Botox) and nonanimal sourced hyaluronic acid (NASHA, Restylane) in combination compared with NASHA (Restylane) alone in severe glabellar rhytides in adult female subjects: treatment of severe glabellar rhytides with a hyaluronic acid derivative compared with the derivative and BTX-A. *Dermatologic Surgery: Official Publication for American Society for Dermatologic Surgery*, 29(8), 802-809.

- Ceccarelli, S., Cardinali, G., Aspite, N., Picardo, M., Marchese, C., Torrisi, M. R., & Mancini, P. (2007). Cortactin involvement in the keratinocyte growth factor and fibroblast growth factor 10 promotion of migration and cortical actin assembly in human keratinocytes. *Experimental cell research*, 313(9), 1758-1777. doi:10.1016/j.yexcr.2007.03.013
- Clark, R. A., Folkvord, J. M., Hart, C. E., Murray, M. J., & McPherson, J. M. (1989). Platelet isoforms of platelet-derived growth factor stimulate fibroblasts to contract collagen matrices. *Journal of Clinical Investigation*, 84(3), 1036-1040. doi:10.1172/JCI114227
- Comoglio, P. M., & Boccaccio, C. (2001). Scatter factors and invasive growth. *Seminars in cancer biology*, 11(2), 153-165. doi:10.1006/scbi.2000.0366
- Croce, M. A., Dyne, K., Boraldi, F., Quaglino, D., Jr, Cetta, G., Tiozzo, R., & Pasquali Ronchetti, I. (2001). Hyaluronan affects protein and collagen synthesis by in vitro human skin fibroblasts. *Tissue & cell*, 33(4), 326-331. doi:10.1054/tice.2001.0180
- Cullinane, A. B., O'Callaghan, P., McDermott, K., Keohane, C., & Cleary, P. E. (2002). Effects of autologous platelet concentrate and serum on retinal wound healing in an animal model. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology = Albrecht Von Graefes Archiv Für Klinische Und Experimentelle Ophthalmologie*, 240(1), 35-41.
- Cutting, K. F., & White, R. J. (2002). Maceration of the skin and wound bed. 1: Its nature and causes. *Journal of wound care*, 11(7), 275-278.
- Chang, K.-V., Hsiao, M.-Y., Chen, W.-S., Wang, T.-G., & Chien, K.-L. (2012). Effectiveness of Intra-Articular Hyaluronic Acid for Ankle Osteoarthritis Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Archives of physical medicine and rehabilitation*. doi:10.1016/j.apmr.2012.10.030
- Chen, C. C., Mo, F. E., & Lau, L. F. (2001). The angiogenic factor Cyr61 activates a genetic program for wound healing in human skin fibroblasts. *The Journal of biological chemistry*, 276(50), 47329-47337. doi:10.1074/jbc.M107666200
- Chen, W. Y., & Abatangelo, G. (1999). Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 7(2), 79-89.
- Cheung, E., Katti, D., Rosier, R., & Laurencin, C. (2003). Growth factor-based system for use as bone graft substitutes. En *Bone graft substitutes* (pp. 174-188). Illinois: Rossemont.
- Choi, B.-H., Zhu, S.-J., Kim, B.-Y., Huh, J.-Y., Lee, S.-H., & Jung, J.-H. (2005). Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 34(4), 420-424. doi:10.1016/j.ijom.2004.10.018
- D'Alessandro, M., Russell, D., Morley, S. M., Davies, A. M., & Lane, E. B. (s. f.). Keratin mutations of epidermolysis bullosa simplex alter the kinetics of stress response to osmotic shock. Recuperado 14 de abril de 2013, a partir de <http://jcs.biologists.org>

- D'Souza, S. J., Pajak, A., Balazsi, K., & Dagnino, L. (2001). Ca²⁺ and BMP-6 signaling regulate E2F during epidermal keratinocyte differentiation. *The Journal of biological chemistry*, 276(26), 23531-23538. doi:10.1074/jbc.M100780200
- De Leon, J. M., Driver, V. R., Fylling, C. P., Carter, M. J., Anderson, C., Wilson, J., ... Rappl, L. M. (2011). The clinical relevance of treating chronic wounds with an enhanced near-physiological concentration of platelet-rich plasma gel. *Advances in Skin & Wound Care*, 24(8), 357-368. doi:10.1097/01.ASW.0000403249.85131.6f
- Dealey, C. (2009). A joint collaboration: international pressure ulcer guidelines. *Journal of wound care*, 18(9), 368-372.
- Dealey, C., & Lindholm, C. (2006). Pressure Ulcer Classification. En M. Romanelli, M. Clark, G. Cherry, D. Colin, & T. Defloor (Eds.), *Science and Practice of Pressure Ulcer Management* (pp. 37-41). Springer London.
- Dealey, C., Posnett, J., & Walker, A. (2012). The cost of pressure ulcers in the United Kingdom. *Journal of wound care*, 21(6), 261-262, 264, 266.
- Defloor, T. (1999). The risk of pressure sores: a conceptual scheme. *Journal of Clinical Nursing*, 8(2), 206-216.
- Defloor, T., De Bacquer, D., & Grypdonck, M. H. F. (2005). The effect of various combinations of turning and pressure reducing devices on the incidence of pressure ulcers. *International journal of nursing studies*, 42(1), 37-46. doi:10.1016/j.ijnurstu.2004.05.013
- Defloor, T., & Schoonhoven, L. (2004). Inter-rater reliability of the EPUAP pressure ulcer classification system using photographs. *Journal of clinical nursing*, 13(8), 952-959. doi:10.1111/j.1365-2702.2004.00974.x
- Defloor, T., Schoonhoven, L., Katrien, V., Weststrate, J., & Myny, D. (2006). Reliability of the European Pressure Ulcer Advisory Panel classification system. *Journal of Advanced Nursing*, 54(2), 189-198. doi:10.1111/j.1365-2648.2006.03801.x
- Desmoulière, A., Chaponnier, C., & Gabbiani, G. (2005). Tissue repair, contraction, and the myofibroblast. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 13(1), 7-12. doi:10.1111/j.1067-1927.2005.130102.x
- Díaz-Rodríguez, L., García-Martínez, O., De Luna-Bertos, E., Ramos-Torrecillas, J., & Ruiz, C. (2012). Effect of ibuprofen on proliferation, differentiation, antigenic expression, and phagocytic capacity of osteoblasts. *Journal of bone and mineral metabolism*, 30(5), 554-560. doi:10.1007/s00774-012-0356-2
- Díaz-Rodríguez, L., García-Martínez, O., Morales, M. A., Rodríguez-Pérez, L., Rubio-Ruiz, B., & Ruiz, C. (2012). Effects of indomethacin, nimesulide, and diclofenac on human MG-63 osteosarcoma cell line. *Biological research for nursing*, 14(1), 98-107. doi:10.1177/1099800411398933

- Diegelmann, R. F., & Evans, M. C. (2004). Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 9, 283-289.
- Dini, V., Bertone, M., & Romanelli, M. (2006). Prevention and management of pressure ulcers. *Dermatologic therapy*, 19(6), 356-364. doi:10.1111/j.1529-8019.2006.00094.x
- DiPietro, L. A., Polverini, P. J., Rahbe, S. M., & Kovacs, E. J. (1995). Modulation of JE/MCP-1 expression in dermal wound repair. *The American journal of pathology*, 146(4), 868-875.
- Dorner, B., Posthauer, M. E., & Thomas, D. (2009). The Role of Nutrition in Pressure Ulcer Prevention and Treatment: National Pressure Ulcer Advisory Panel White Paper. *Advances in Skin & Wound Care*, 22(5), 212-221. doi:10.1097/01.ASW.0000350838.11854.0a
- Dunsmore, S. E., Rubin, J. S., Kovacs, S. O., Chedid, M., Parks, W. C., & Welgus, H. G. (1996). Mechanisms of hepatocyte growth factor stimulation of keratinocyte metalloproteinase production. *The Journal of biological chemistry*, 271(40), 24576-24582.
- Edwards, R., & Harding, K. G. (2004). Bacteria and wound healing. *Current opinion in infectious diseases*, 17(2), 91-96.
- Ek, A. C., Gustavsson, G., & Lewis, D. H. (1985). The local skin blood flow in areas at risk for pressure sores treated with massage. *Scandinavian journal of rehabilitation medicine*, 17(2), 81-86.
- Eming, S. A., Krieg, T., & Davidson, J. M. (2007). Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. *The Journal of investigative dermatology*, 127(3), 514-525. doi:10.1038/sj.jid.5700701
- Eppley, B. L., Woodell, J. E., & Higgins, J. (2004). Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and reconstructive surgery*, 114(6), 1502-1508.
- Eriksen, E. F. (2010). Cellular mechanisms of bone remodeling. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*, 11(4), 219-227. doi:10.1007/s11154-010-9153-1
- Ersser, S. J., Getliffe, K., Voegeli, D., & Regan, S. (2005). A critical review of the inter-relationship between skin vulnerability and urinary incontinence and related nursing intervention. *International journal of nursing studies*, 42(7), 823-835. doi:10.1016/j.ijnurstu.2004.12.003
- European Pressure Ulcer Advisory Panel and National Pressure Ulcer Advisory Panel. (2009). *Prevention and treatment of pressure ulcers: quick reference guide*. Washington DC: National Pressure Ulcer Advisory Panel.
- Fakhari, A., & Berkland, C. (2013). Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler and in osteoarthritis treatment. *Acta biomaterialia*. doi:10.1016/j.actbio.2013.03.005

- Farrag, T. Y., Lehar, M., Verhaegen, P., Carson, K. A., & Byrne, P. J. (2007). Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *The Laryngoscope*, 117(1), 157-165. doi:10.1097/01.mlg.0000249726.98801.77
- Farsaei, S., Khalili, H., & Farboud, E. S. (2012). Potential role of statins on wound healing: review of the literature. *International wound journal*, 9(3), 238-247. doi:10.1111/j.1742-481X.2011.00888.x
- Fatini, G., Gallenga, G., & Veltroni, A. (1968). Treatment of burns with hyaluronic acid. Clinical study. *Ospedali D'Italia e Chirurgia*, 19, 283-7.
- Feiken, E., Rømer, J., Eriksen, J., & Lund, L. R. (1995). Neutrophils express tumor necrosis factor-alpha during mouse skin wound healing. *The Journal of investigative dermatology*, 105(1), 120-123.
- Fernandez, R., Griffiths, R., & Ussia, C. (2004). Effectiveness of solutions, techniques and pressure in wound cleansing. *JBIR Reports*, 2(7), 231-270. doi:10.1111/j.1479-6988.2004.00013.x
- Ferrandiz, C. (2010). *Dermatología clínica* (3.^a ed.). Elsevier España.
- Ferrer Solà, M., Espauella Panicot, J., Altimires Roset, J., Ylla-Català Borè, E., & Moreno Susi, M. (2013). Comparison of efficacy of heel ulcer prevention between classic padded bandage and polyurethane heel in a medium-stay hospital: randomized controlled trial. *Revista española de geriatría y gerontología*, 48(1), 3-8. doi:10.1016/j.regg.2012.04.008
- Finnie, A. (2002). Hydrocolloids in wound management: pros and cons. *British journal of community nursing*, 7(7), 338, 340, 342 passim.
- Flattau, A., & Blank, A. E. (2012). Risk factors for 90-day and 180-day mortality in hospitalised patients with pressure ulcers. *International wound journal*. doi:10.1111/j.1742-481X.2012.01032.x
- Fogerty, M. D., Abumrad, N. N., Nanney, L., Arbogast, P. G., Poulouse, B., & Barbul, A. (2008). Risk factors for pressure ulcers in acute care hospitals. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 16(1), 11-18. doi:10.1111/j.1524-475X.2007.00327.x
- Fraser, J. R., Laurent, T. C., & Laurent, U. B. (1997). Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of internal medicine*, 242(1), 27-33.
- Frykberg, R. G., Driver, V. R., Carman, D., Lucero, B., Borris-Hale, C., Fylling, C. P., ... Clausen, P. A. (2010). Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet-rich plasma gel: a prospective case series. *Ostomy wound management*, 56(6), 36-44.

- Gale, N. W., & Yancopoulos, G. D. (1999). Growth factors acting via endothelial cell-specific receptor tyrosine kinases: VEGFs, angiopoietins, and ephrins in vascular development. *Genes & Development*, *13*(9), 1055-1066.
- Galeano, M., Deodato, B., Altavilla, D., Cucinotta, D., Arsic, N., Marini, H., ... Squadrito, F. (2003). Adeno-associated viral vector-mediated human vascular endothelial growth factor gene transfer stimulates angiogenesis and wound healing in the genetically diabetic mouse. *Diabetologia*, *46*(4), 546-555. doi:10.1007/s00125-003-1064-1
- García Fernández, F. P., Montalvo Cabrerizo, M., García Guerrero, A., Pancorbo Hidalgo, P. L., García Pavón, F., González Jiménez, F., ... Iglesias Parra, M. R. (2007). *Guía de práctica clínica para la prevención y el tratamiento de las úlceras por presión*. Servicio Andaluz de Salud. Consejería de Salud. Junta de Andalucía.
- García, M. M., & Lozano, M. M. (2003). *Dermatología*. Ed. Médica Panamericana.
- García-Martínez, O., Reyes-Botella, C., Díaz-Rodríguez, L., Luna-Bertos, E. D., Ramos-Torrecillas, J., Vallecillo-Capilla, M. F., & Ruiz, C. (2011). Effect of Platelet-Rich Plasma on Growth and Antigenic Profile of Human Osteoblasts and Its Clinical Impact. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*. doi:10.1016/j.joms.2011.06.199
- Garg, A. K. (2000). The use of platelet-rich plasma to enhance the success of bone grafts around dental implants. *Dental Implantology Update*, *11*(3), 17-21.
- Gillitzer, R., & Goebeler, M. (2001). Chemokines in cutaneous wound healing. *Journal of Leukocyte Biology*, *69*(4), 513-521.
- Gomes, J. A. P., Amankwah, R., Powell-Richards, A., & Dua, H. S. (2004). Sodium hyaluronate (hyaluronic acid) promotes migration of human corneal epithelial cells in vitro. *The British Journal of Ophthalmology*, *88*(6), 821-825. doi:10.1136/bjo.2003.027573
- Gorecki, C., Brown, J. M., Nelson, E. A., Briggs, M., Schoonhoven, L., Dealey, C., ... Nixon, J. (2009). Impact of pressure ulcers on quality of life in older patients: a systematic review. *Journal of the American Geriatrics Society*, *57*(7), 1175-1183. doi:10.1111/j.1532-5415.2009.02307.x
- Graumlich, J. F., Blough, L. S., McLaughlin, R. G., Milbrandt, J. C., Calderon, C. L., Agha, S. A., & Scheibel, L. W. (2003). Healing pressure ulcers with collagen or hydrocolloid: a randomized, controlled trial. *Journal of the American Geriatrics Society*, *51*(2), 147-154.
- Gray, D., Acton, C., Chadwick, P., Fumarola, S., Leaper, D., Morris, C., ... Young, T. (2011). Consensus guidance for the use of debridement techniques in the UK. *Wounds UK*, *7*(1), 77-84.
- Graziani, F., Cei, S., Ducci, F., Giuca, M. R., Donos, N., & Gabriele, M. (2005). In vitro effects of different concentration of PRP on primary bone and gingival cell lines. Preliminary results. *Minerva Stomatologica*, *54*(1-2), 15-22.

Groves, R. W., & Schmidt-Lucke, J. A. (2000). Recombinant human GM-CSF in the treatment of poorly healing wounds. *Advances in skin & wound care*, 13(3 Pt 1), 107-112.

Gruber, R., Varga, F., Fischer, M. B., & Watzek, G. (2002). Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clinical Oral Implants Research*, 13(5), 529-535.

Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras Por Presión y heridas crónicas (GNEAUPP). (2003a). *Directrices generales sobre prevención de las úlceras por presión*. Logroño.

Grupo Nacional para el Estudio y Asesoramiento en Úlceras Por Presión y heridas crónicas (GNEAUPP). (2003b). *Directrices generales sobre el tratamiento de las úlceras por presión*. Logroño.

Hamm, R. L. (2007). Chapter 28 - Tissue Healing and Pressure Ulcers. En *Physical Rehabilitation. Evidence-Based Examination, Evaluation, and Intervention*. (pp. 733-776). Saint Louis: W.B. Saunders.

Hascall, V. C., Majors, A. K., De La Motte, C. A., Evanko, S. P., Wang, A., Drazba, J. A., ... Wight, T. N. (2004). Intracellular hyaluronan: a new frontier for inflammation? *Biochimica et biophysica acta*, 1673(1-2), 3-12. doi:10.1016/j.bbagen.2004.02.013

Heldin, C.-H., Eriksson, U., & Ostman, A. (2002). New members of the platelet-derived growth factor family of mitogens. *Archives of biochemistry and biophysics*, 398(2), 284-290. doi:10.1006/abbi.2001.2707

Heyneman, A., Beele, H., Vanderwee, K., & Defloor, T. (2008). A systematic review of the use of hydrocolloids in the treatment of pressure ulcers. *Journal of clinical nursing*, 17(9), 1164-1173. doi:10.1111/j.1365-2702.2007.02218.x

Hinz, B. (2007). Formation and function of the myofibroblast during tissue repair. *The Journal of investigative dermatology*, 127(3), 526-537. doi:10.1038/sj.jid.5700613

Ho, M. L., Chang, J. K., & Wang, G. J. (1995). Antiinflammatory drug effects on bone repair and remodeling in rabbits. *Clinical orthopaedics and related research*, (313), 270-278.

Hodge-Dufour, J., Noble, P. W., Horton, M. R., Bao, C., Wysoka, M., Burdick, M. D., ... Puré, E. (1997). Induction of IL-12 and chemokines by hyaluronan requires adhesion-dependent priming of resident but not elicited macrophages. *Journal of immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 159(5), 2492-2500.

Horn, S., Bender, S. A., Ferguson, M. L., Smout, R. J., Bergstrom, N., Taler, G., ... Voss, A. C. (2004). The National Pressure Ulcer Long-Term Care Study: pressure ulcer development in long-term care residents. *Journal of the American Geriatrics Society*, 52(3), 359-367.

Horn, T. (2012). Wound dressings. Overview and classification. *Der Unfallchirurg*, 115(9), 774-782. doi:10.1007/s00113-012-2209-9

- Hsu, C.-W., Yuan, K., & Tseng, C.-C. (2009). The negative effect of platelet-rich plasma on the growth of human cells is associated with secreted thrombospondin-1. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 107(2), 185-192. doi:10.1016/j.tripleo.2008.07.016
- Iocono, J. A., Colleran, K. R., Remick, D. G., Gillespie, B. W., Ehrlich, H. P., & Garner, W. L. (2000). Interleukin-8 levels and activity in delayed-healing human thermal wounds. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 8(3), 216-225.
- Jacinto, A., Martinez-Arias, A., & Martin, P. (2001). Mechanisms of epithelial fusion and repair. *Nature cell biology*, 3(5), E117-123. doi:10.1038/35074643
- Jay, G. D. (2004). Current thinking on viscosupplementation in osteoarthritis. *Medicine and health, Rhode Island*, 87(7), 213-215.
- Jeschke, M. G., Barrow, R. E., Hawkins, H. K., Yang, K., Hayes, R. L., Lichtenbelt, B. J., ... Herndon, D. N. (1999). IGF-I gene transfer in thermally injured rats. *Gene therapy*, 6(6), 1015-1020. doi:10.1038/sj.gt.3300923
- Jiang, D., Liang, J., & Noble, P. W. (2007). Hyaluronan in tissue injury and repair. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 23, 435-461. doi:10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123337
- Jones, V., Grey, J. E., & Harding, K. G. (2006). Wound dressings. *BMJ* : *British Medical Journal*, 332(7544), 777-780.
- Kaiser, S., Schirmacher, P., Philipp, A., Protschka, M., Moll, I., Nicol, K., & Blessing, M. (1998). Induction of bone morphogenetic protein-6 in skin wounds. Delayed reepithelialization and scar formation in BMP-6 overexpressing transgenic mice. *The Journal of investigative dermatology*, 111(6), 1145-1152. doi:10.1046/j.1523-1747.1998.00407.x
- Kakudo, N., Kushida, S., Minakata, T., Suzuki, K., & Kusumoto, K. (2011). Platelet-rich plasma promotes epithelialization and angiogenesis in a splitthickness skin graft donor site. *Medical molecular morphology*, 44(4), 233-236. doi:10.1007/s00795-010-0532-1
- Kawada, A., Hiruma, M., Noguchi, H., Ishibashi, A., Motoyoshi, K., & Kawada, I. (1997). Granulocyte and macrophage colony-stimulating factors stimulate proliferation of human keratinocytes. *Archives of dermatological research*, 289(10), 600-602.
- Kim, S.-G., Chung, C.-H., Kim, Y.-K., Park, J.-C., & Lim, S.-C. (2002). Use of particulate dentin-plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 17(1), 86-94.
- Knighton, D. R., Doucette, M., Fiegel, V. D., Ciresi, K., Butler, E., & Austin, L. (1988). The use of platelet derived wound healing formula in human clinical trials. *Progress in Clinical and Biological Research*, 266, 319-329.

Knighton, D. R., Hunt, T. K., Thakral, K. K., & Goodson, W. H. (1982). Role of platelets and fibrin in the healing sequence: an in vivo study of angiogenesis and collagen synthesis. *Annals of Surgery*, *196*(4), 379-388.

Koh, T. J., & DiPietro, L. A. (2011). Inflammation and wound healing: the role of the macrophage. *Expert reviews in molecular medicine*, *13*, e23. doi:10.1017/S1462399411001943

König, M., Vanscheidt, W., Augustin, M., & Kapp, H. (2005). Enzymatic versus autolytic debridement of chronic leg ulcers: a prospective randomised trial. *Journal of wound care*, *14*(7), 320-323.

Kothapalli, D., Frazier, K. S., Welply, A., Segarini, P. R., & Grotendorst, G. R. (1997). Transforming growth factor beta induces anchorage-independent growth of NRK fibroblasts via a connective tissue growth factor-dependent signaling pathway. *Cell growth & differentiation: the molecular biology journal of the American Association for Cancer Research*, *8*(1), 61-68.

Krasna, M., Domanović, D., Tomsic, A., Svajger, U., & Jeras, M. (2007). Platelet gel stimulates proliferation of human dermal fibroblasts in vitro. *Acta dermatovenerologica Alpina, Panonica, et Adriatica*, *16*(3), 105-110.

Krupski, W. C., Reilly, L. M., Perez, S., Moss, K. M., Crombleholme, P. A., & Rapp, J. H. (1991). A prospective randomized trial of autologous platelet-derived wound healing factors for treatment of chronic nonhealing wounds: a preliminary report. *Journal of Vascular Surgery: Official Publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter*, *14*(4), 526-532; discussion 532-536.

Kumar, V., Abbas, A. K., Fausto, N., & Aster, J. C. (2009). *Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease*, (8.^a ed.). Philadelphia: Elsevier Health Sciences.

Kuo, J. W. (2005). *Practical Aspects of Hyaluronan Based Medical Products*. United States: CRC Press.

Lau, K., Paus, R., Tiede, S., Day, P., & Bayat, A. (2009). Exploring the role of stem cells in cutaneous wound healing. *Experimental dermatology*, *18*(11), 921-933. doi:10.1111/j.1600-0625.2009.00942.x

Lesley, J., Hyman, R., English, N., Catterall, J. B., & Turner, G. A. (1997). CD44 in inflammation and metastasis. *Glycoconjugate journal*, *14*(5), 611-622.

Lieberman, J. R., Daluiski, A., & Einhorn, T. A. (2002). The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *The Journal of Bone and Joint Surgery. American Volume*, *84-A*(6), 1032-1044.

Liu, J., Yuan, T., & Zhang, C. (2011). Three cases using platelet-rich plasma to cure chronic soft tissue lesions. *Transfusion and Apheresis Science: Official Journal of the World*

- Apheresis Association: Official Journal of the European Society for Haemapheresis*, 45(2), 151-155. doi:10.1016/j.transci.2011.07.011
- Liu, W., Chua, C., Wu, X., Wang, D., Ying, D., Cui, L., & Cao, Y. (2005). Inhibiting scar formation in rat wounds by adenovirus-mediated overexpression of truncated TGF-beta receptor II. *Plastic and reconstructive surgery*, 115(3), 860-870.
- Livesley, N. J., & Chow, A. W. (2002). Infected pressure ulcers in elderly individuals. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 35(11), 1390-1396. doi:10.1086/344059
- Lym, H. S., Suh, Y., & Park, C. K. (2004). Effects of hyaluronic acid on the polymorphonuclear leukocyte (PMN) release of active oxygen and protection of bovine corneal endothelial cells from activated PMNs. *Korean journal of ophthalmology: KJO*, 18(1), 23-28.
- Lynch, S. E., Colvin, R. B., & Antoniadis, H. N. (1989). Growth factors in wound healing. Single and synergistic effects on partial thickness porcine skin wounds. *The Journal of Clinical Investigation*, 84(2), 640-646. doi:10.1172/JCI114210
- Madhok, B. M., Vowden, K., & Vowden, P. (2013). New techniques for wound debridement. *International wound journal*. doi:10.1111/iwj.12045
- Man, D., Plosker, H., & Winland-Brown, J. E. (2001). The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plastic and reconstructive surgery*, 107(1), 229-237; discussion 238-239.
- Mandracchia, V. J., Sanders, S. M., & Frerichs, J. A. (2001). The use of becaplermin (rhPDGF-BB) gel for chronic nonhealing ulcers. A retrospective analysis. *Clinics in podiatric medicine and surgery*, 18(1), 189-209, viii.
- Marinel-lo Roura, J. (2005). *Úlceras de la extremidad inferior*. Barcelona: Editorial Glosa, S.L.
- Martin, P. (1997). Wound Healing--Aiming for Perfect Skin Regeneration. *Science*, 276(5309), 75-81. doi:10.1126/science.276.5309.75
- Marx, R. E. (2001). Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant dentistry*, 10(4), 225-228.
- Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M., Schimmele, S. R., Strauss, J. E., & Georgeff, K. R. (1998). Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 85(6), 638-646.
- Matsumoto, K., Hashimoto, K., Yoshikawa, K., & Nakamura, T. (1991). Marked stimulation of growth and motility of human keratinocytes by hepatocyte growth factor. *Experimental cell research*, 196(1), 114-120.

- McDonnell, M. A., Law, B. K., Serra, R., & Moses, H. L. (2001). Antagonistic effects of TGFbeta1 and BMP-6 on skin keratinocyte differentiation. *Experimental cell research*, 263(2), 265-273. doi:10.1006/excr.2000.5117
- McInnes, E., Jammali-Blasi, A., Bell-Syer, S. E., Dumville, J. C., & Cullum, N. (2011). Support surfaces for pressure ulcer prevention. *Cochrane database of systematic reviews (Online)*, (4), CD001735. doi:10.1002/14651858.CD001735.pub4
- Mesa, F. L., Aneiros, J., Cabrera, A., Bravo, M., Caballero, T., Revelles, F., ... O'Valle, F. (2002). Antiproliferative effect of topic hyaluronic acid gel. Study in gingival biopsies of patients with periodontal disease. *Histology and Histopathology*, 17(3), 747-753.
- Micera, A., Vigneti, E., Pickholtz, D., Reich, R., Pappo, O., Bonini, S., ... Levi-Schaffer, F. (2001). Nerve growth factor displays stimulatory effects on human skin and lung fibroblasts, demonstrating a direct role for this factor in tissue repair. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(11), 6162-6167. doi:10.1073/pnas.101130898
- Michael, S. M., Porter, D., & Pountney, T. E. (2007). Tilted seat position for non-ambulant individuals with neurological and neuromuscular impairment: a systematic review. *Clinical rehabilitation*, 21(12), 1063-1074. doi:10.1177/0269215507082338
- Mishra, A., & Pavelko, T. (2006). Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *The American Journal of Sports Medicine*, 34(11), 1774-1778. doi:10.1177/0363546506288850
- Moojen, D. J. F., Everts, P. A. M., Schure, R.-M., Overdeest, E. P., van Zundert, A., Knape, J. T. A., ... Dhert, W. J. A. (2008). Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against *Staphylococcus aureus*. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*, 26(3), 404-410. doi:10.1002/jor.20519
- Moore, K. W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R. L., & O'Garra, A. (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annual Review of Immunology*, 19, 683-765. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.683
- Murphy, P. S., & Evans, G. R. D. (2012). Advances in wound healing: a review of current wound healing products. *Plastic surgery international*, 2012, 190436. doi:10.1155/2012/190436
- Nagai, M. K., & Embil, J. M. (2002). Becaplermin: recombinant platelet derived growth factor, a new treatment for healing diabetic foot ulcers. *Expert opinion on biological therapy*, 2(2), 211-218. doi:10.1517/14712598.2.2.211
- Nishida, T., Nakamura, M., Mishima, H., & Otori, T. (1991). Hyaluronan stimulates corneal epithelial migration. *Experimental eye research*, 53(6), 753-758.
- Nixon, J., Cranny, G., Iglesias, C., Nelson, E. A., Hawkins, K., Phillips, A., ... Cullum, N. (2006). Randomised, controlled trial of alternating pressure mattresses compared with

alternating pressure overlays for the prevention of pressure ulcers: PRESSURE (pressure relieving support surfaces) trial. *BMJ (Clinical research ed.)*, 332(7555), 1413. doi:10.1136/bmj.38849.478299.7C

Nixon, J., Thorpe, H., Barrow, H., Phillips, A., Andrea Nelson, E., Mason, S. A., & Cullum, N. (2005). Reliability of pressure ulcer classification and diagnosis. *Journal of advanced nursing*, 50(6), 613-623. doi:10.1111/j.1365-2648.2005.03439.x

Nurden, A. T., Nurden, P., Sanchez, M., Andia, I., & Anitua, E. (2008). Platelets and wound healing. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 13, 3532-3548.

O'Meara, S., Al-Kurdi, D., Ologun, Y., & Ovington, L. G. (2010). Antibiotics and antiseptics for venous leg ulcers. *Cochrane database of systematic reviews (Online)*, (1), CD003557. doi:10.1002/14651858.CD003557.pub3

Oksala, O., Salo, T., Tammi, R., Häkkinen, L., Jalkanen, M., Inki, P., & Larjava, H. (1995). Expression of proteoglycans and hyaluronan during wound healing. *The journal of histochemistry and cytochemistry: official journal of the Histochemistry Society*, 43(2), 125-135.

Onesti, M. G., Fioramonti, P., Carella, S., Fino, P., Sorvillo, V., & Scuderi, N. (2013). A new association between hyaluronic acid and collagenase in wound repair: an open study. *European review for medical and pharmacological sciences*, 17(2), 210-216.

Orcajo, B., Muruzabal, F., Isasmendi, M. C., Gutierrez, N., Sánchez, M., Orive, G., & Anitua, E. (2011). The use of plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) in the treatment of a severe mal perforant ulcer in the foot of a person with diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 93(2), e65-67. doi:10.1016/j.diabres.2011.04.008

Pagheti, A., Bellingeri, A., Pomponio, G., Sansoni, J., & Paladino, D. (2009). Topic efficacy of ialuronic acid associated with argentic sulphadiazine (Connettivina Plus) in the treatment of pressure sores: a prospective observational cohort study. *Professioni Infermieristiche*, 62(2), 67-77.

Pancorbo-Hidalgo, P. L., Garcia-Fernandez, F. P., Lopez-Medina, I. M., & Alvarez-Nieto, C. (2006). Risk assessment scales for pressure ulcer prevention: a systematic review. *Journal of Advanced Nursing*, 54(1), 94-110. doi:10.1111/j.1365-2648.2006.03794.x

Pape, H.-C., Marcucio, R., Humphrey, C., Colnot, C., Knobe, M., & Harvey, E. J. (2010). Trauma-induced inflammation and fracture healing. *Journal of orthopaedic trauma*, 24(9), 522-525. doi:10.1097/BOT.0b013e3181ed1361

Paques, M., Chastang, C., Mathis, A., Sahel, J., Massin, P., Dosquet, C., ... Gaudric, A. (1999). Effect of autologous platelet concentrate in surgery for idiopathic macular hole: results of a multicenter, double-masked, randomized trial. Platelets in Macular Hole Surgery Group. *Ophthalmology*, 106(5), 932-938.

- Pasonen-Seppänen, S., Karvinen, S., Törrönen, K., Hyttinen, J. M. T., Jokela, T., Lammi, M. J., ... Tammi, R. (2003). EGF upregulates, whereas TGF-beta downregulates, the hyaluronan synthases Has2 and Has3 in organotypic keratinocyte cultures: correlations with epidermal proliferation and differentiation. *The Journal of Investigative Dermatology*, 120(6), 1038-1044. doi:10.1046/j.1523-1747.2003.12249.x
- Pavesio, A., Abatangelo, G., Borrione, A., Brocchetta, D., Hollander, A. P., Kon, E., ... Marcacci, M. (2003). Hyaluronan-based scaffolds (Hyalograft C) in the treatment of knee cartilage defects: preliminary clinical findings. *Novartis Foundation Symposium*, 249, 203-217; discussion 229-233, 234-238, 239-241.
- Pieper, B., Langemo, D., & Cuddigan, J. (2009). Pressure ulcer pain: a systematic literature review and national pressure ulcer advisory panel white paper. *Ostomy/wound management*, 55(2), 16-31.
- Pincelli, C. (2000). Nerve growth factor and keratinocytes: a role in psoriasis. *European journal of dermatology: EJD*, 10(2), 85-90.
- Powers, C. J., McLeskey, S. W., & Wellstein, A. (2000). Fibroblast growth factors, their receptors and signaling. *Endocrine-related cancer*, 7(3), 165-197.
- Price, R. D., Berry, M. G., & Navsaria, H. A. (2007). Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery: JPRAS*, 60(10), 1110-1119. doi:10.1016/j.bjps.2007.03.005
- Prinz, A., Fennes, C., Buehl, W., & Findl, O. (2012). Efficacy of ophthalmic viscosurgical devices in maintaining corneal epithelial hydration and clarity: In vitro assessment. *Journal of Cataract & Refractive Surgery*, 38(12), 2154-2159. doi:10.1016/j.jcrs.2012.06.054
- Raja, Sivamani, K., Garcia, M. S., & Isseroff, R. R. (2007). Wound re-epithelialization: modulating keratinocyte migration in wound healing. *Frontiers in bioscience: a journal and virtual library*, 12, 2849-2868.
- Ramarathnam, V., De Marco, B., Ortegón, A., Kemp, D., Luby, J., & Sreeramoju, P. (2013). Risk factors for development of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection among colonized patients. *American journal of infection control*. doi:10.1016/j.ajic.2012.08.005
- Raychaudhuri, S. K., Raychaudhuri, S. P., Weltman, H., & Farber, E. M. (2001). Effect of nerve growth factor on endothelial cell biology: proliferation and adherence molecule expression on human dermal microvascular endothelial cells. *Archives of dermatological research*, 293(6), 291-295.
- Reddy, M., Gill, S. S., Kalkar, S. R., Wu, W., Anderson, P. J., & Rochon, P. A. (2008). Treatment of pressure ulcers: a systematic review. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 300(22), 2647-2662. doi:10.1001/jama.2008.778

- Reddy, M., Gill, S. S., & Rochon, P. A. (2006). Preventing pressure ulcers: a systematic review. *JAMA: the journal of the American Medical Association*, 296(8), 974-984. doi:10.1001/jama.296.8.974
- Redelings, M. D., Lee, N. E., & Sorvillo, F. (2005). Pressure ulcers: more lethal than we thought? *Advances in skin & wound care*, 18(7), 367-372.
- Reinke, J. M., & Sorg, H. (2012). Wound repair and regeneration. *European surgical research. Europäische chirurgische Forschung. Recherches chirurgicales européennes*, 49(1), 35-43. doi:10.1159/000339613
- Rendu, F., & Brohard-Bohn, B. (2001). The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*, 12(5), 261-273. doi:10.1080/09537100120068170
- Rennekampff, H. O., Hansbrough, J. F., Kiessig, V., Doré, C., Sticherling, M., & Schröder, J. M. (2000). Bioactive interleukin-8 is expressed in wounds and enhances wound healing. *The Journal of surgical research*, 93(1), 41-54. doi:10.1006/jsre.2000.5892
- Rhee, S., & Grinnell, F. (2006). P21-activated kinase 1: convergence point in PDGF- and LPA-stimulated collagen matrix contraction by human fibroblasts. *The Journal of cell biology*, 172(3), 423-432. doi:10.1083/jcb.200505175
- Rich, S. E., Margolis, D., Shardell, M., Hawkes, W. G., Miller, R. R., Amr, S., & Baumgarten, M. (2011). Frequent manual repositioning and incidence of pressure ulcers among bedbound elderly hip fracture patients. *Wound repair and regeneration* □ : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society, 19(1), 10-18. doi:10.1111/j.1524-475X.2010.00644.x
- Robson, M. C., Steed, D. L., & Franz, M. G. (2001). Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current problems in surgery*, 38(2), 72-140. doi:10.1067/msg.2001.111167
- Roldán, J. C., Jepsen, S., Miller, J., Freitag, S., Rueger, D. C., Açil, Y., & Terheyden, H. (2004). Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. *Bone*, 34(1), 80-90.
- Ross, R., Raines, E. W., & Bowen-Pope, D. F. (1986). The biology of platelet-derived growth factor. *Cell*, 46(2), 155-169.
- Rozman, P., & Bolta, Z. (2007). Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatovenerologica Alpina, Panonica, Et Adriatica*, 16(4), 156-165.
- Rueda López, J., Torra i Bou, J.-E., Martínez Cuervo, F., Verdú Soriano, J., & Soldevilla Agreda, J. J. (2003). 1er Estudio Nacional de Prevalencia de Ulceras por Presión en España: epidemiología y variables definitorias de las lesiones y pacientes. *Gerokomos: Revista de la Sociedad Española de Enfermería Geriátrica y Gerontológica*, 14(1), 37-47.

- Rutherford, R. B., Niekrash, C. E., Kennedy, J. E., & Charette, M. F. (1992). Platelet-derived and insulin-like growth factors stimulate regeneration of periodontal attachment in monkeys. *Journal of Periodontal Research*, 27(4 Pt 1), 285-290.
- Rutherford, R. B., Ryan, M. E., Kennedy, J. E., Tucker, M. M., & Charette, M. F. (1993). Platelet-derived growth factor and dexamethasone combined with a collagen matrix induce regeneration of the periodontium in monkeys. *Journal of Clinical Periodontology*, 20(7), 537-544.
- Saika, S., Ikeda, K., Yamanaka, O., Flanders, K. C., Okada, Y., Miyamoto, T., ... Kao, W. W.-Y. (2006). Loss of tumor necrosis factor alpha potentiates transforming growth factor beta-mediated pathogenic tissue response during wound healing. *The American journal of pathology*, 168(6), 1848-1860.
- Saito, S., Furuya, T., & Kotake, S. (2010). Therapeutic effects of hyaluronate injections in patients with chronic painful shoulder: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Arthritis Care & Research*, 62(7), 1009-1018. doi:10.1002/acr.20174
- Salari, P., & Abdollahi, M. (2009). Controversial effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on bone: a review. *Inflammation & allergy drug targets*, 8(3), 169-175.
- Salcido, R., Lee, A., & Ahn, C. (2011). Heel pressure ulcers: purple heel and deep tissue injury. *Advances in skin & wound care*, 24(8), 374-380; quiz 381-382. doi:10.1097/01.ASW.0000403250.85131.b9
- Sánchez, A. R., Sheridan, P. J., Eckert, S. E., & Weaver, A. L. (2005). Regenerative potential of platelet-rich plasma added to xenogenic bone grafts in peri-implant defects: a histomorphometric analysis in dogs. *Journal of Periodontology*, 76(10), 1637-1644. doi:10.1902/jop.2005.76.10.1637
- Sánchez, A. R., Sheridan, P. J., & Kupp, L. I. (2003). Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 18(1), 93-103.
- Sánchez, M., Anitua, E., Azofra, J., Andía, I., Padilla, S., & Mujika, I. (2007). Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *The American Journal of Sports Medicine*, 35(2), 245-251. doi:10.1177/0363546506294078
- Sánchez, M., Azofra, J., Anitua, E., Andía, I., Padilla, S., Santisteban, J., & Mujika, I. (2003). Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 35(10), 1648-1652. doi:10.1249/01.MSS.0000089344.44434.50
- Santy, J. (2008). Recognising infection in wounds. *Nursing standard (Royal College of Nursing (Great Britain): 1987)*, 23(7), 53-54, 56, 58 passim.

- Scevola, S., Nicoletti, G., Brenta, F., Isernia, P., Maestri, M., & Faga, A. (2010). Allogenic platelet gel in the treatment of pressure sores: a pilot study. *International Wound Journal*, 7(3), 184-190. doi:10.1111/j.1742-481X.2010.00671.x
- Schiefelbein, D., Goren, I., Fisslthaler, B., Schmidt, H., Geisslinger, G., Pfeilschifter, J., & Frank, S. (2008). Biphasic regulation of HMG-CoA reductase expression and activity during wound healing and its functional role in the control of keratinocyte angiogenic and proliferative responses. *The Journal of biological chemistry*, 283(22), 15479-15490. doi:10.1074/jbc.M709841200
- Schlegel, K. A., Kloss, F. R., Schultze-Mosgau, S., Neukam, F. W., & Wiltfang, J. (2003). Osseous defect regeneration using autogenous bone alone or combined with Biogran or Aligpore with and without added thrombocytes. A microradiologic evaluation. *Mund-, Kiefer- Und Gesichtschirurgie: MKG*, 7(2), 112-118. doi:10.1007/s10006-003-0454-3
- Serra, A.-A., Nuttens, A., Larvor, V., Renault, D., Couée, I., Sulmon, C., & Gouesbet, G. (2013). Low environmentally relevant levels of bioactive xenobiotics and associated degradation products cause cryptic perturbations of metabolism and molecular stress responses in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of experimental botany*. doi:10.1093/jxb/ert119
- Shea, J. D. (1975). Pressure sores: classification and management. *Clinical orthopaedics and related research*, (112), 89-100.
- Shi, Y., & Massagué, J. (2003). Mechanisms of TGF-beta signaling from cell membrane to the nucleus. *Cell*, 113(6), 685-700.
- Shih, S. D., Rees, T. D., Miller, E. G., Wright, J. M., & Iacopino, A. M. (1996). The effects of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-1 on epithelial dysplasia. *Journal of Periodontology*, 67(11), 1224-1232.
- Singh, A. B., & Harris, R. C. (2005). Autocrine, paracrine and juxtacrine signaling by EGFR ligands. *Cellular Signalling*, 17(10), 1183-1193. doi:10.1016/j.cellsig.2005.03.026
- Skórkowska-Telichowska, K., Czemplik, M., Kulma, A., & Szopa, J. (2011). The local treatment and available dressings designed for chronic wounds. *Journal of the American Academy of Dermatology*. doi:10.1016/j.jaad.2011.06.028
- Sobotka, L., Smahelova, A., Pastorova, J., & Kusalova, M. (2007). A case report of the treatment of diabetic foot ulcers using a sodium hyaluronate and iodine complex. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 6(3), 143-147. doi:10.1177/1534734607304684
- Soldera, J., Nedel, W. L., Cardoso, P. R. C., & d' Azevedo, P. A. (2013). Bacteremia due to *Staphylococcus cohnii* ssp. *urealyticus* caused by infected pressure ulcer: case report and review of the literature. *São Paulo medical journal = Revista paulista de medicina*, 131(1), 59-61.

Soldevilla Agreda, J. J., & Torra i Bou, J. E. (1999). Epidemiología de las úlceras por presión en España. Estudio piloto en la comunidad autónoma de la Rioja. *Gerokomos: Revista de la Sociedad Española de Enfermería Geriátrica y Gerontológica*, 10(2), 75-87.

Soldevilla Agreda, J. J., Torra i Bou, J. E., Posnett, J., Soriano, P. J. V., San Miguel, L., & Santos, M. M. (2007). The Burden of Pressure Ulcers in Spain. *Wounds*, 19(7), 201-206.

Soldevilla Agreda, J. J., Torra i Bou, J. E., Verdú Soriano, J., Martínez Cuervo, F., López Casanova, P., Rueda López, J., & Mayán Santos, J. M. (2007). 2º Estudio Nacional de Prevalencia de Úlceras por Presión en España, 2005: epidemiología y variables definitorias de las lesiones y pacientes. Recuperado a partir de <http://rua.ua.es/dspace/handle/10045/24632>

Soldevilla, J. J., Torra i Bou, J.-E., Verdú Soriano, J., & López Casanova, P. (2011). 3.er Estudio Nacional de Prevalencia de Úlceras por Presión en España, 2009: Epidemiología y variables definitorias de las lesiones y pacientes. *Gerokomos*, 22(2), 77-90. doi:10.4321/S1134-928X2011000200005

Sorando, E. E., Benito Duque, P., De Juan Huelves, A., Arranz López, L., & García Martínez, L. (2005). Prevención de las úlceras por presión en Cuidados Paliativos: recomendaciones basadas en la evidencia médica. *Medicina paliativa*, 12(1), 47-.

Sorg, H., Krueger, C., & Vollmar, B. (2007). Intravital insights in skin wound healing using the mouse dorsal skin fold chamber. *Journal of Anatomy*, 211(6), 810-818. doi:10.1111/j.1469-7580.2007.00822.x

Stacey, M. C., Mata, S. D., Trengove, N. J., & Mather, C. A. (2000). Randomised double-blind placebo controlled trial of topical autologous platelet lysate in venous ulcer healing. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery: The Official Journal of the European Society for Vascular Surgery*, 20(3), 296-301. doi:10.1053/ejvs.2000.1134

Stelnicki, E. J., Longaker, M. T., Holmes, D., Vanderwall, K., Harrison, M. R., Largman, C., & Hoffman, W. Y. (1998). Bone morphogenetic protein-2 induces scar formation and skin maturation in the second trimester fetus. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 101(1), 12-19.

Stratton, R. J., Ek, A.-C., Engfer, M., Moore, Z., Rigby, P., Wolfe, R., & Elia, M. (2005). Enteral nutritional support in prevention and treatment of pressure ulcers: a systematic review and meta-analysis. *Ageing research reviews*, 4(3), 422-450. doi:10.1016/j.arr.2005.03.005

Tarameshloo, M., Norouzian, M., Zarein-Dolab, S., Dadpay, M., Mohsenifar, J., & Gazor, R. (2012). Aloe vera gel and thyroid hormone cream may improve wound healing in Wistar rats. *Anatomy & cell biology*, 45(3), 170-177. doi:10.5115/acb.2012.45.3.170

Tarroni, G., Tessarin, C., De Silvestro, L., Casol, D., Giozzet, M., Caloprisco, G., & De Paoli Vitali, E. (2002). Local therapy with platelet-derived growth factors for chronic diabetic ulcers in haemodialysis patients. *Giornale Italiano Di Nefrologia: Organo Ufficiale Della Società Italiana Di Nefrologia*, 19(6), 630-633.

The Management of Pressure Ulcers in Primary and Secondary Care: A Clinical Practice Guideline. (2005). London: Royal College of Nursing (UK). Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK49010/>

Thibeault, S. L., Klemuk, S. A., Chen, X., & Quinchia Johnson, B. H. (2011). In Vivo engineering of the vocal fold ECM with injectable HA hydrogels-late effects on tissue repair and biomechanics in a rabbit model. *Journal of voice: official journal of the Voice Foundation*, 25(2), 249-253. doi:10.1016/j.jvoice.2009.10.003

Thomas, D. R., Rodeheaver, G. T., Bartolucci, A. A., Franz, R. A., Sussman, C., Ferrell, B. A., ... Maklebust, J. (1997). Pressure ulcer scale for healing: derivation and validation of the PUSH tool. The PUSH Task Force. *Advances in wound care: the journal for prevention and healing*, 10(5), 96-101.

Torra i Bou, J. E., Segovia Gómez, T., Verdú Soriano, J., Nolasco Bonmatí, A., Rueda López, J., & Arboix i Perejamo, M. (2005). The effectiveness of a hyperoxygenated fatty acid compound in preventing pressure ulcers. *Journal of wound care*, 14(3), 117-121.

Toyoda, M., Takayama, H., Horiguchi, N., Otsuka, T., Fukusato, T., Merlino, G., ... Mori, M. (2001). Overexpression of hepatocyte growth factor/scatter factor promotes vascularization and granulation tissue formation in vivo. *FEBS letters*, 509(1), 95-100.

Trengove, N. J., Bielefeldt-Ohmann, H., & Stacey, M. C. (2000). Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 8(1), 13-25.

Tsai, Y.-C., Lin, S.-Y., Liu, Y., & Wang, R.-H. (2012). Factors related to the development of pressure ulcers among new recipients of home care services in Taiwan: a questionnaire study. *International journal of nursing studies*, 49(11), 1383-1390. doi:10.1016/j.ijnurstu.2012.06.012

Tsou, R., Fathke, C., Wilson, L., Wallace, K., Gibran, N., & Isik, F. (2002). Retroviral delivery of dominant-negative vascular endothelial growth factor receptor type 2 to murine wounds inhibits wound angiogenesis. *Wound repair and regeneration: official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 10(4), 222-229.

Tziotzios, C., Profyris, C., & Sterling, J. (2012). Cutaneous scarring: Pathophysiology, molecular mechanisms, and scar reduction therapeutics Part II. Strategies to reduce scar formation after dermatologic procedures. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 66(1), 13-24; quiz 25-26. doi:10.1016/j.jaad.2011.08.035

Urken, M. L. (2003). Advances in head and neck reconstruction. *The Laryngoscope*, 113(9), 1473-1476. doi:10.1097/00005537-200309000-00008

Uutela, M., Wirzenius, M., Paavonen, K., Rajantie, I., He, Y., Karpanen, T., ... Alitalo, K. (2004). PDGF-D induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood

vessel maturation during angiogenesis. *Blood*, 104(10), 3198-3204. doi:10.1182/blood-2004-04-1485

Uygur, F., Noyan, N., & Hahaolu, A. (2010). The effect of simvastatin on the survival of ischaemic skin flap: an experimental study in rats. *Journal of plastic, reconstructive & aesthetic surgery: JPRAS*, 63(10), 1723-1732. doi:10.1016/j.bjps.2009.10.021

Valbonesi, M., Giannini, G., Migliori, F., Dalla Costa, R., & Galli, A. (2002). The role of autologous fibrin-platelet glue in plastic surgery: a preliminary report. *The International Journal of Artificial Organs*, 25(4), 334-338.

Van Lis, M. S., van Asbeck, F. W. A., & Post, M. W. M. (2010). Monitoring healing of pressure ulcers: a review of assessment instruments for use in the spinal cord unit. *Spinal cord*, 48(2), 92-99. doi:10.1038/sc.2009.146

Vanderwee, K., Grypdonck, M. H. F., De Bacquer, D., & Defloor, T. (2007). Effectiveness of turning with unequal time intervals on the incidence of pressure ulcer lesions. *Journal of advanced nursing*, 57(1), 59-68. doi:10.1111/j.1365-2648.2006.04060.x

VanEtten, N. K., Sexton, P., & Smith, R. (1990). Development and implementation of a skin care program. *Ostomy/wound management*, 27, 40-54.

Vangilder, C., Macfarlane, G. D., & Meyer, S. (2008). Results of nine international pressure ulcer prevalence surveys: 1989 to 2005. *Ostomy/wound management*, 54(2), 40-54.

Vogel, R., Crockett, R. S., Oden, N., Laliberte, T. W., & Molina, L. (2010). Demonstration of efficacy in the treatment of dry eye disease with 0.18% sodium hyaluronate ophthalmic solution (vismed, rejena). *American Journal of Ophthalmology*, 149(4), 594-601. doi:10.1016/j.ajo.2009.09.023

Wallace, J. L., Dickey, M., McKnight, W., & Dudar, G. K. (2006). Platelets accelerate gastric ulcer healing through presentation of vascular endothelial growth factor. *British Journal of Pharmacology*, 148(3), 274-278. doi:10.1038/sj.bjp.0706722

Wankell, M., Kaesler, S., Zhang, Y. Q., Florence, C., Werner, S., & Duan, R. (2001). The activin binding proteins follistatin and follistatin-related protein are differentially regulated in vitro and during cutaneous wound repair. *The Journal of endocrinology*, 171(3), 385-395.

Weibrich, G., Hansen, T., Kleis, W., Buch, R., & Hitzler, W. E. (2004). Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone*, 34(4), 665-671. doi:10.1016/j.bone.2003.12.010

Weibrich, G., Kleis, W. K. G., Hafner, G., & Hitzler, W. E. (2002). Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex, and platelet count. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery: official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery*, 30(2), 97-102. doi:10.1054/jcms.2002.0285

- Weigel, P. H., Frost, S. J., McGary, C. T., & LeBoeuf, R. D. (1988). The role of hyaluronic acid in inflammation and wound healing. *International journal of tissue reactions*, 10(6), 355-365.
- Werner, S., & Grose, R. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiological Reviews*, 83(3), 835-870. doi:10.1152/physrev.00031.2002
- Wetzler, C., Kämpfer, H., Stallmeyer, B., Pfeilschifter, J., & Frank, S. (2000). Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair. *The Journal of investigative dermatology*, 115(2), 245-253. doi:10.1046/j.1523-1747.2000.00029.x
- Whitman, D. H., Berry, R. L., & Green, D. M. (1997). Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery: Official Journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons*, 55(11), 1294-1299.
- Wiltfang, J., Kloss, F. R., Kessler, P., Nkenke, E., Schultze-Mosgau, S., Zimmermann, R., & Schlegel, K. A. (2004). Effects of platelet-rich plasma on bone healing in combination with autogenous bone and bone substitutes in critical-size defects. An animal experiment. *Clinical Oral Implants Research*, 15(2), 187-193.
- Winter, G. D. (1962). Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature*, 193, 293-294.
- Witkowski, J. A., & Parish, L. C. (1982). Histopathology of the decubitus ulcer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 6(6), 1014-1021.
- Woodall, J., Jr, Tucci, M., Mishra, A., & Benghuzzi, H. (2007). Cellular effects of platelet rich plasma: a study on HL-60 macrophage-like cells. *Biomedical Sciences Instrumentation*, 43, 266-271.
- Yoon, S. T., & Boden, S. D. (2002). Osteoinductive molecules in orthopaedics: basic science and preclinical studies. *Clinical orthopaedics and related research*, (395), 33-43.
- Zavan, B., Vindigni, V., Vezzù, K., Zorzato, G., Luni, C., Abatangelo, G., ... Cortivo, R. (2009). Hyaluronan based porous nano-particles enriched with growth factors for the treatment of ulcers: a placebo-controlled study. *Journal of materials science. Materials in medicine*, 20(1), 235-247. doi:10.1007/s10856-008-3566-3
- Zhang, B., Zhang, A., Zhou, X., Webb, P., He, W., & Xia, X. (2012). Thyroid hormone analogue stimulates keratinocyte proliferation but inhibits cell differentiation in epidermis. *International journal of immunopathology and pharmacology*, 25(4), 859-869.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Escala de Barthel.**COMER**

- (10) Independiente. Capaz de comer por sí solo y en un tiempo razonable. La comida puede ser cocinada y servida por otra persona.
- (5) Necesita ayuda. Para cortar la carne o el pan, extender la mantequilla, etc., pero es capaz de comer solo.
- (0) Dependiente. Necesita ser alimentado por otra persona.

LAVARSE (BAÑARSE)

- (5) Independiente. Capaz de lavarse entero. Incluye entrar y salir del baño. Puede realizarlo todo sin estar una persona presente.
- (0) Dependiente. Necesita alguna ayuda o supervisión.

VESTIRSE

- (10) Independiente. Capaz de ponerse y quitarse la ropa sin ayuda.
- (5) Necesita ayuda. Realiza solo al menos la mitad de las tareas en un tiempo razonable.
- (0) Dependiente.

ARREGLARSE

- (5) Independiente. Realiza todas las actividades personales sin ninguna ayuda. Los complementos necesarios pueden ser provistos por otra persona.
- (0) Dependiente. Necesita alguna ayuda.

DEPOSICIÓN

- (10) Continente. Ningún episodio de incontinencia.
- (5) Accidente ocasional. Menos de una vez por semana o necesita ayuda para enemas y supositorios.
- (0) Incontinente.

MICCIÓN

- (10) Continente. Ningún episodio de incontinencia. Capaz de usar cualquier dispositivo por sí solo.
- (5) Accidente ocasional. Máximo un episodio de incontinencia en 24 horas. Incluye necesitar ayuda en la manipulación de sondas y otros dispositivos.
- (0) Incontinente.

USAR EL RETRETE

- (10) Independiente. Entra y sale solo y no necesita ningún tipo de ayuda por parte de otra persona.
- (5) Necesita ayuda. Capaz de manejarse con pequeña ayuda: es capaz de usar el cuarto de baño. Puede limpiarse solo.
- (0) Dependiente. Incapaz de manejarse sin ayuda mayor.

TRASLADO AL SILLÓN/CAMA

- (15) Independiente. No precisa ayuda.
- (10) Mínima ayuda. Incluye supervisión verbal o pequeña ayuda física.
- (5) Gran ayuda. Precisa la ayuda de una persona fuerte o entrenada.
- (0) Dependiente. Necesita grúa o alzamiento por dos personas. Incapaz de permanecer sentado.

DEAMBULACION

- (15) Independiente. Puede andar 50 m, o su equivalente en casa, sin ayuda o supervisión de otra persona. Puede usar ayudas instrumentales (bastón, muleta), excepto andador. Si utiliza prótesis, debe ser capaz de ponérsela y quitársela solo.
- (10) Necesita ayuda. Necesita supervisión o una pequeña ayuda física por parte de otra persona. Precisa utilizar andador.
- (5) Independiente. (En silla de ruedas) en 50 m. No requiere ayuda o supervisión.
- (0) Dependiente.

SUBIR/BAJAR ESCALERAS

- (10) Independiente. Capaz de subir y bajar un piso sin la ayuda ni supervisión de otra persona.
- (5) Necesita ayuda. Precisa ayuda o supervisión.
- (0) Dependiente. Incapaz de salvar escalones

EVALUACIÓN DE LA ESCALA DE BARTHEL

Independiente: 100 ptos (95 sí permanece en silla de ruedas).

Dependiente leve: >60 ptos.

Dependiente moderado: 40-59 ptos.

Dependiente grave: 20-39 ptos.

Dependiente total: <20 ptos.

Anexo 2. Consentimiento informado.**CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE**

Título del estudio: *Valoración y estandarización del uso del plasma rico en plaquetas/
plasma rico en factores de crecimiento en el tratamiento de las úlceras por presión.*

Yo, (nombre y apellidos)

.....

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1. Cuando quiera**
- 2. Sin tener que dar explicaciones**
- 3. Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos**

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio

Fecha

Firma del paciente

Fecha

Firma del Investigador

Anexo 3. Hoja de recogida de datos.

<i>REGISTRO DE CURAS</i>			GRUPO:				Nº:		UBICACIÓN:		
<ul style="list-style-type: none"> • Nombre: • Habitación: • Género: • Edad: • Dieta: • Patologías: 	<ul style="list-style-type: none"> • Registro de Tratamiento: -Material Utilizado en la Limpieza: -Material Utilizado en el Lecho de la Herida: -Dosis (ml) de PRP o PRGF: -Dolor en el Cambio de Apósito: 				<ul style="list-style-type: none"> • Registro de la Lesión: -Localización: -Estadío: -Fecha de Aparición: -Piel perilesional: 						
							<ul style="list-style-type: none"> • Estado Civil: • Tiempo residencia: • Tratamiento: 		<ul style="list-style-type: none"> • NOTAS: 		
FECHA											
DIMENSIONES											
EXUDADO											
TEJIDO											
FECHA											
DIMENSIONES											
EXUDADO											
TEJIDO											

EXUDADO: 0 Ninguno, 1 Ligero, 2 Moderado, 3 Abundante.

TEJIDO: 0 Cicatrizado, 1 Epitelial, 2 Granulación, 3 Esfacelo, 4 Necrótico.

