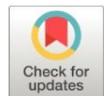


Plasma rico en plaquetas y plasma gel en cicatrización por segunda intención en conejos

Platelet-rich plasma and plasma gel in healing by second intention in rabbits

- ¹ Alvaro Francisco Sánchez Cedeño  <https://orcid.org/0000-0003-0327-3509>
Maestría en Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Cuenca, Ecuador.
alvaro.sanchez.29@est.ucacue.edu.ec
- ² Andrés Santiago Aguilar Caivinagua  <https://orcid.org/0009-0002-5140-3101>
Maestría en Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Cuenca, Ecuador.
andres.aguilar@ucacue.edu.ec
- ³ Edy Paul Castillo Hidalgo  <https://orcid.org/0000-0001-5311-5002>
Maestría en Medicina Veterinaria, Universidad Católica de Cuenca, Ecuador.
ecastilloh@ucacue.edu.ec



Artículo de Investigación Científica y Tecnológica

Enviado: 13/01/2023

Revisado: 10/02/2023

Aceptado: 02/03/2023

Publicado: 05/04/2023

DOI: <https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i2.2535>

Cítese:

Sánchez Cedeño, A. F., Aguilar Caivinagua, A. S., & Castillo Hidalgo, E. P. (2023). Plasma rico en plaquetas y plasma gel en cicatrización por segunda intención en conejos. *Anatomía Digital*, 6(2), 64-82.
<https://doi.org/10.33262/anatomiadigital.v6i2.2535>



ANATOMÍA DIGITAL, es una Revista Electrónica, Trimestral, que se publicará en soporte electrónico tiene como misión contribuir a la formación de profesionales competentes con visión humanística y crítica que sean capaces de exponer sus resultados investigativos y científicos en la misma medida que se promueva mediante su intervención cambios positivos en la sociedad. <https://anatomiadigital.org>

La revista es editada por la Editorial Ciencia Digital (Editorial de prestigio registrada en la Cámara Ecuatoriana de Libro con No de Afiliación 663) www.celibro.org.ec

Esta revista está protegida bajo una licencia Creative Commons Attribution Non Commercial No Derivatives 4.0 International. Copia de la licencia: <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>

Palabras claves:

Biopsia,
angiogénesis,
granulación,
inflamación,
colágeno,
fibroplasia.

Keywords:

Biopsy,
angiogenesis,
granulation,
inflammation,
collagen,
fibroplasia

Resumen

Objetivo. El objetivo de la investigación fue evaluar el efecto del plasma rico en plaquetas y plasma gel en cicatrización de heridas por segunda intención en conejos. **Metodología.** Se utilizó 8 conejos (*Oryctolagus cuniculi*) de entre 12 a 24 meses de edad, aparentemente sanos, machos y hembras, con un peso de entre 3.5 a 4.5 kg, a los cuales se realizó 3 heridas de 2 cm de diámetro, asignando un diferente tipo de tratamiento a cada una: Tratamiento 1 (T1): plasma gel; Tratamiento 2 (T2): plasma rico en plaquetas; Tratamiento 3 (T3): placebo como control. Se realizaron biopsias a los días 7, 14 y 21 de iniciado el tratamiento para valorar el grado de inflamación, reepitelización, neovascularización, depósito de colágeno, fibroplasia, contaminación bacteriana y contaminación fúngica. **Resultados.** Al día 7 de iniciados los tratamientos se obtuvo un incremento significativo en el grado de inflamación de las lesiones de T1. Para el día 14 los valores de depósito de colágeno fueron estadísticamente mayores para T3. Al día 7 y 14 la fibroplasia fue mayor para T2 y T3 en comparación a T1. **Conclusiones.** Las heridas tratadas por segunda intención con el uso plasma rico en plaquetas y plasma gel mejoran entre los 7 a 15 días de tratamiento, reduciendo el grado de inflamación y aumentando el depósito de colágeno en comparación a tratamientos placebo. Entre el uso de Plasma rico en plaquetas y Plasma gel se obtuvieron mejores resultados de los parámetros de cicatrización para las heridas tratadas con Plasma gel, sobre todo al día 15 de iniciado los tratamientos. **Área de estudio:** medicina veterinaria, salud animal, dermatología.

Abstract

Objective. The objective of the research was to evaluate the effect of platelet rich plasma and plasma gel on wound healing by secondary intention in rabbits. **Methodology.** Eight rabbits (*Oryctolagus cuniculi*) between 12 and 24 months of age, apparently healthy, male, and female, weighing between 3,5 and 4,5kg were used to which 3 wounds of 2 cm in diameter, assigning a different type of treatment for each one: Treatment 1 (T1): placebo as control; Treatment 2 (T2): platelet rich plasma; Treatment 3 (T3): plasma gel. Biopsies were performed on days 7, 14 and 21 after starting treatment to assess the degree of

inflammation, re-epithelialization, neovascularization, collagen deposition, fibroplasia, bacterial contamination, and fungal contamination. **Results.** On day seven of starting the treatments, a significant increase in the degree of inflammation of the T1 lesions was obtained. On day fourteen the collagen deposition values were statistically higher for T3. At day 7 and 14, fibroplasia was higher for T2 and T3 compared to T1. **Conclusions.** Wounds treated by secondary intention with platelet rich plasma and plasma gel improve, between 7 and 15 days of treatment, reducing the degree of inflammation and increasing collagen deposition compared to placebo treatment. Between the use of platelet rich plasma and plasma gel, better results were obtained for wounds treated with plasma gel, especially on day fifteen after starting the treatments. **Area of study:** veterinary medicine, animal health, dermatology.

Introducción

Plasma rico en plaquetas (Prp)

La definición de PRP se define como un volumen biológico autólogo derivado de la sangre, que se obtiene tras un proceso de centrifugado, con concentraciones plaquetarias superior al nivel basal. El uso de PRP se considera una alternativa a la terapia tópica de heridas para favorecer el proceso de cicatrización, gracias a la activación plaquetaria que no solo interviene en la hemostasia (con la formación del tapón plaquetario), sino que también en la reparación y regeneración tisular mediante la secreción de biomoléculas que promueven la interacción celular, hemostasia, coagulación, composición de una matriz extracelular, producción de trombina, producción de plasmina, remodelación vascular y control de la coagulación. Además, contiene factores de crecimiento, capaces de modificar las respuestas biológicas celulares al regular la diferenciación, proliferación, migración y metabolismo celular, promoviendo quimiotaxis y angiogénesis, y proteínas antimicrobianas con efecto bactericida y fungicida (1).

Entre los factores de crecimiento y proteínas se incluye al PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas), el TGF- β (factor de crecimiento transformante β), factor plaquetario, la interleuquina-1, factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF) y factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (2, 3).

Método de obtención

La obtención del PRP inicia con la obtención aséptica de una muestra sanguínea, la cual se coloca en un recipiente estéril con anticoagulante (citrato sódico o EDTA), para ser centrifugada a 3000 rpm durante 8 minutos. Tras este proceso se separa la sangre en 3 componentes, Plasma pobre en Factores de Crecimiento (fracción superior), Plasma rico en factores de Crecimiento (fracción intermedia) y la serie roja (fracción inferior). Se separa la fracción de plasma (fracción pobre y rica) mediante una pipeta y se coloca en un tubo estéril para su activación que se realiza incorporando Cloruro de calcio al 10% en relación 1:5 con el volumen de PRP (4, 5).

Plasma gel

Corresponde a una alternativa del plasma rico en plaquetas obtenido posterior a la centrifugación de una muestra sanguínea. Para la transformación de plasma líquido a gel se utilizan equipos especiales, en las que se incorpora el PRP en estado líquido, y será sometido a un cambio de temperatura brusco (pasando de temperaturas altas a bajas), transformando de esta manera el plasma en estado líquido a gel (6).

Cicatrización

Es un proceso dinámico complejo que incluye procesos físicos, químicos y celulares que integran las funciones de los elementos sanguíneos, la matriz extracelular, las células parenquimatosas y los mediadores solubles. Existen 3 etapas distintas en el proceso de cicatrización que son: la inflamatoria, la proliferativa y la de remodelación (7).

Fase inflamatoria

La etapa inflamatoria se da inmediatamente después de provocada la lesión tisular, tiene como finalidad proporcionar una rápida hemostasia e iniciar una serie de procesos que conlleven a la regeneración tisular. Esta fase se inicia con la ruptura de vasos consecuentes del trauma, que conllevan a la extravasación de los constituyentes sanguíneos. La respuesta a este cambio es la vasoconstricción, mecanismo que tiene como finalidad lograr una hemostasia inmediata, y se continua con una vasodilatación, que permite la llegada de células inflamatorias circulantes al foco de la herida. Neutrófilos y monocitos son atraídos a la herida por factores liberados por las plaquetas, péptidos bacterianos, factores del complemento y productos derivados de la degradación de la fibrina (7).

La atracción y adhesión de los neutrófilos a las células endoteliales se da por la acción de factores quimiotácticos y sustancias proinflamatorias como las citocinas. Los neutrófilos constituyen la primera línea celular en llegar hacia la herida (corresponden el componente celular inflamatorio predominante entre las primeras 24 a 48 horas), tienen como función

liberar enzimas proteolíticas y más citocinas proinflamatorias que intervienen en la atracción y proliferación de fibroblastos y queratinocitos. Los neutrófilos agotados pueden quedar atrapados en el coágulo o bien ser fagocitados por los macrófagos. Estos neutrófilos serán entonces reemplazados por monocitos, los cuales llegan a la herida y se diferencian en macrófagos, para ejercer una acción antiinfecciosa y de limpieza mediante su capacidad de fagocitosis, pero su principal función radica en que son una fuente esencial de citocinas proinflamatorias (interleucina I, factor de necrosis tumoral alfa) y de factores de crecimiento (IGF-1, TGF- β y PDGF), moléculas que van a conllevar a la formación de tejido granular (7, 8).

Entre 48-72 horas después de la aparición de la herida, las células predominantes son los macrófagos. La reepitelización se completa en unas 48 horas en heridas con bordes aproximados, pero pueden durar mucho más en heridas en las que la cicatrización tiene que completarse por segunda intención (7, 9).

Hacia el quinto o séptimo día el número de células inflamatorias va disminuyendo e incrementan los fibroblastos pasando a ser las células predominantes. La fase inflamatoria dura aproximadamente 5 días en heridas experimentales (7).

Fase proliferativa

Considerada desde el día 5 al 20 posteriores a la lesión y comprende la proliferación de fibroblastos (pasan a ser las células predominantes), la angiogénesis y la síntesis de matriz extracelular. La emigración y proliferación de los fibroblastos dependen de las citocinas producidas por las plaquetas y los macrófagos (IGF-1, EGF, TNF, TGF- β), que estimulan el depósito de matriz extracelular, sintetizada por los fibroblastos. Este incremento de matriz extracelular tiene gran importancia ya que los componentes de esta facilitan la migración de células endoteliales, necesarias para la reparación del tejido, su posterior fijación en la herida y también su proliferación (8).

La emigración de células endoteliales se da gracias a los vasos sanos más próximos a la herida y de neocapilares formados que van invadiendo poco a poco la matriz provisional. La angiogénesis da lugar a la formación de una red vascular indiferenciada, denominada granulación carnosa, la cual es visible in vivo a partir del 5to día, que irá disminuyendo gradualmente en el tejido de granulación y a la par irá sintetizando colágeno, por lo que la herida involuciona hacia una cicatriz (7, 8).

Fase de remodelación

Ocurre desde el día 20 posterior al trauma y puede durar desde meses hasta 1 a 2 años. Existe la transición de tejido de granulación a maduración cicatrizal, mediante la remodelación del tipo de colágeno, en donde el colágeno tipo III disminuye en forma gradual mientras que el colágeno tipo I incrementa. Las citocinas y la matriz extracelular

desempeñan un rol importante en este proceso, al descomponer las fibras de colágeno no funcionales dentro de la matriz.

El depósito de colágeno se relaciona directamente con la fuerza tensora de la herida. Al inicio esta fuerza de tensión incrementa de forma considerable, llegando a tener el 20% de su fuerza final hasta el día 21 posterior a la lesión. La remodelación de la matriz va a incrementar de manera considerable la resistencia de la cicatriz, alcanzando entre un 80 a 90% hasta la 6ta semana. Esta fuerza de tensión se asocia principalmente a la remodelación de colágeno, lo que genera haces colagenosos más grandes y entrecruzamientos intermoleculares con fibras de colágeno adyacentes, es decir, va a haber menos colágeno, pero con una configuración superior a nivel estructural (7, 10).

Factores de crecimiento que intervienen en la cicatrización

Factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF)

Este factor se activa cuando las plaquetas se agregan y se inicia la cascada de coagulación. Mediante la activación de los macrófagos promueve la angiogénesis por un mecanismo de quimiotaxis. Fomenta la formación de colágeno tipo I, actúa como mitógeno de células mesenquimales y la proliferación de células adiposas y de fibroblastos dérmicos (2).

Factor de crecimiento transformante β (TGF- β)

Involucrado directa o indirectamente en procesos de cicatrización, angiogénesis y génesis de piel al promover quimiotaxis, proliferación y diferenciación de células mesenquimales y epiteliales (2).

Factor de crecimiento epidérmico (EGF)

Posee efectos mitogénicos en células epiteliales y epiteliales, además estimula la quimiotaxis endotelial y la angiogénesis (3).

Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)

Favorece a la angiogénesis en el tejido de granulación, provocando la infiltración y proliferación de células endoteliales (2).

Factor de crecimiento similar a la insulina (IGF)

Promueve la quimiotaxis endotelial y a la angiogénesis. Promueve la proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento. Tiene otra función importante al actuar como agente quimiotáctico para las células vasculares endoteliales (2, 3).

Factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF)

Induce la quimiotaxis y proliferación de las células endoteliales, además de incrementar la permeabilidad vascular (3).

Cicatrización por segunda intención

Difiere de la cicatrización por primera intención en que los defectos hísticos contienen mayores volúmenes de restos necróticos, exudado y fibrina que debe eliminarse, y por ende van a influir en que se presente una intensa reacción inflamatoria y ser susceptible a infecciones secundarias. La forma en que se va produciendo la cicatrización es mediante la formación de tejido de granulación que va a contraer la herida, por lo que cuanto mayor es el volumen de granulación, mayor es la masa de tejido cicatrizante. Este proceso se atribuye a la presencia de miofibroblastos (9).

El estudio del uso de plasma rico en plaquetas y de plasma gel ha ganado protagonismo en los últimos años por sus propiedades antes mencionadas favoreciendo las diversas fases de la cicatrización (11).

Se han realizado estudios para comparar las concentraciones de factor de crecimiento transformante beta 1 (TGF- β 1) y factor plaquetario AB (PDGF-AB) y determinar las correlaciones entre conteo celular y concentración de factores de crecimiento (todos con importancia en el proceso de cicatrización) presentes en PRP y plasma gel. El estudio se realizó con catorce muestras de perros raza Fila brasileros y se observaron diferencias significativas entre el recuento plaquetario y leucocitario al comparar sangre entera, PRP y gel de plaquetas. La concentración de TGF- β y PDGF-AB no tuvieron diferencias significativas en PRP en comparación al plasma gel (11).

En medicina humana se ha evidenciado los beneficios del PRP en diversas ramas de la medicina. En la dermatología se ha evidenciado sus beneficios en el tratamiento de úlceras crónicas, así como en quemaduras dérmicas, constatándose mayor porcentaje de cicatrización y una reducción en complicaciones y en el tiempo hasta la cicatrización completa (12, 13).

En medicina veterinaria se encuentran estudios realizado en conejos a los cuales se les realizó dos heridas en la región lumbar dorsal, para comparar el uso de PRP con un tratamiento control, obtuvo como resultado una reducción en el tiempo de cicatrización en las heridas tratadas con PRP. Histológicamente se observó abundante proliferación de fibroblastos y una densa vascularización (14).

Otro estudio realizado en conejos fue realizado para evaluar la eficacia del PRP en el tratamiento de úlceras corneales no infecciosas. Se compararon 3 tratamientos, el primer grupo de conejos fue tratado con solución salina estéril (grupo control), el segundo grupo

con un gel extracto desproteínizado de sangre de ternera y el tercer grupo con PRP. Los resultados reflejaron una mejor evolución en el grupo desproteínizado de sangre de ternera y en el grupo de PRP versus el grupo control, llegando a la conclusión que ambas opciones terapéuticas son efectivas para la regeneración de úlceras corneales profundas y extensas (15).

En Quito, Ecuador, se realizó un estudio en perros tratados con PRP autólogo y heterólogo comparándolos frente a un grupo control sin tratamiento, obteniendo como resultado la aceleración en el proceso de cicatrización de las heridas de los grupos tratados versus el control. Además, se observó que el tejido de granulación se presenta mucho más rápido (día 5) en los grupos autólogo y heterólogo, en comparación al grupo control en el cual en promedio al día 8, se obtuvo apenas un 80% de tejido de granulación, prolongando su cicatrización (16).

El uso de plasma gel en la medicina humana ha ganado espacio últimamente en el campo de la investigación. En odontología ha mostrado gran potencial analgésico, reducción en la inflamación facial y mejores parámetros de cicatrización tras cirugías de extracción de molares (17).

En el área de dermatología humana se ha experimentado el uso de plasma gel para el tratamiento de úlceras venosas para evaluar su seguridad y eficacia cicatrizante obteniendo como resultado la resolución de heridas que no podían cicatrizar tras un largo tiempo con tratamientos convencionales, así como también la disminución del dolor (18).

En veterinaria son escasos los trabajos en los que se prueba el PRP en estado de gel. Un estudio realizado en ratas comparó el grado de cicatrización y efecto antibacteriano del plasma gel en heridas subcutáneas infectadas con *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* resistente a la Meticilina (MRSA NR15), obteniendo a los 7 días conteos bacterianos y grados de cicatrización similares entre tratamientos de plasma gel versus tratamientos con Vancomicina (19).

A pesar de no haber diferencias en cuanto a concentraciones celulares y de factores de crecimiento entre el PRP (líquido) y plasma gel, los estudios tanto en medicina humana como en veterinaria en cicatrización de heridas, se han centralizado más al uso de PRP de forma líquida, por lo que, en esta investigación se busca implantar otra forma de uso al plasma rico en plaquetas en forma de gel.

Metodología

Heridas y preparación de tratamientos

El estudio se realizó en la ciudad de Puyo, Pastaza, en donde se utilizaron 8 conejos (*Oryctolagus cuniculi*) de entre 3.5 a 4.5 kg de peso.

Se empleó anestesia general para realizar 3 heridas circulares de 20 milímetros de diámetro, dos a nivel escapular y una en la zona lumbar de cada animal.

Se usó como premedicación Tramadol (4mg/kg) y Acepromazina (0,5 mg/kg) intramuscular y como inducción Ketamina (15mg/kg) y Xilacina (0,5mg/kg).

Con el animal anestesiado además se extrajo muestras de sangre de la vena yugular, las cuales serían utilizadas para la obtención de PRP, mediante centrifugación (a 2000rpm por 10 minutos) y activación con cloruro de calcio al 10% (0,05 ml de cloruro de calcio por cada ml de plasma) y plasma gel, mediante centrifugación y uso del equipo Smart Filler Slim®.

Tratamientos

Cada herida recibió un tratamiento distinto:

Para el tratamiento de la primera herida se realizaron limpiezas diarias con solución fisiológica y la aplicación tópica de plasma gel autólogo.

La segunda herida fue tratada mediante infiltración de PRP autólogo en estado líquido en los bordes de la herida y se realizaron limpiezas diarias con solución fisiológica.

El tratamiento de la tercera herida se lo considero como placebo, control, realizando únicamente limpiezas diarias con solución fisiológica.

Biopsias

Se obtuvieron muestras para biopsia de las 3 heridas de cada conejo los días 7, 14 y 21 después de haber iniciado los tratamientos, para lo cual se realizaron cortes circulares de 5 milímetros de diámetro para evaluar el grado de inflamación, reepitelización, neovascularización, depósito de colágeno, fibroplasia, contaminación bacteriana y contaminación fúngica.

Los parámetros de inflamación, reepitelización y neovascularización fueron valorados bajo la tinción H & E, mientras que, para la fibroplasia, depósito de colágeno y remodelación se utilizó la tinción Tricrómica de Masson.

Se procedió a tomar las medidas de por lo menos 3 campos microscópicos en todas las placas. Se utilizó un microscopio triocular Nikon E200.

- **Inflamación:**

Para obtener valores de inflamación se realizó un conteo, en un campo de 40X, de las células blancas ubicadas en la zona cicatrizal, diferenciándolas entre mononucleares y

polimorfonucleares. Los valores de referencia considerados, para establecer el grado de inflamación son:

Leve: 1 a 200 células inflamatorias por campo de 40X de tejido cicatrizal viable.

Moderada: 200 a 400 células inflamatorias por campo de 40X de tejido cicatrizal viable.

Marcada: >400 células inflamatorias por campo de 40X de tejido cicatrizal viable.

- Reepitelización:

Para medir reepitelización se observó con un aumento de 4X y se tomó una fotomicrografía del campo completo. En la fotomicrografía se midió la extensión/longitud (mm) total de la cicatriz (biopsia) y posteriormente se midió la longitud de reepitelización (mm), es decir, las zonas donde la cicatriz presentaba una capa epitelial completamente formada y adherida a la dermis superficial, para obtener un valor exacto en porcentaje.

Ausente: 0%

Leve: 50%

Avanzada: 70%

Completa: 100%

- Neovascularización:

Para la valoración de la neovascularización, se observó con un aumento de 4X y se tomó una fotomicrografía del campo completo. En la fotomicrografía se tomaron dos medidas: 1) el área (mm²) (superficie: largo x ancho) total de la cicatriz (biopsia) inmediatamente por debajo de la zona de reepitelización; y 2) el área (mm²) de neovascularización inmediatamente por debajo de la zona de reepitelización, generando el dato de neovascularización en porcentaje aproximado (biopsias irregulares) sobre el total de la superficie cicatrizal observada.

Ausente: 0%

Leve: 10%

Moderada: 30%

Marcada: 50%

- Fibroplasia y depósito de colágeno:

La fibroplasia se valora como la cantidad de fibroblastos proliferativos presentes en el área de lesión, mientras que, la deposición de colágeno se valora por la cantidad de sustancia extracelular presente en el área de lesión. La deposición de colágeno se tiñe de color azul y las células fibroblásticas son teñidas de color rojo. La evaluación se realizó en un aumento de 10X y en base a una escala cualitativa de observación (se adjunta escala).

Fibroplasia:

Escasa: Escasa proliferación de fibroblasto.

Leve: Proliferación leve de fibroblastos en forma de haces.

Moderada: Mayor grado de organización y acumulación de fibroblastos.

Abundante: Gran cantidad de fibroblasto reactivo.

Depósito de colágeno:

Escaso: Colágeno casi imperceptible.

Leve: Láminas colágenas acumuladas esporádicamente y de forma leve.

Moderado: Acumulación moderada y multifocal de colágeno intercelular.

Abundante: Marcada deposición de colágeno.

Método estadístico

Los tratamientos fueron comparados utilizando la prueba no paramétrica de Kruskal - Wallis. Esta prueba, es la generalización de la prueba de Rangos con Signo de Wilcoxon utilizada para comparar dos muestras independientes. Es la alternativa no paramétrica al ANOVA unidireccional cuando no es posible asumir el supuesto de normalidad y la variable dependiente se encuentra como mínimo en escala ordinal.

Resultados

Comparación de tratamientos a los 7 días

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos al utilizar la prueba de Kruskal – Wallis para comparar, después de 7 días transcurridos, los tres efectos de tratamientos marcados por las variables: inflamación (I), reepitelización (R), neovascularización (N), depósito de colágeno (DC), fibroplasia (F), contaminación bacteriana (CB) y contaminación fúngica (CF). La tabla 1 revela que, al nivel de significación del 5%, solamente la variable inflamación difiere por tratamientos ($p = 0.038$), el resto de las variables, a los 7 días, no muestran diferencias debido a los tratamientos.

Tabla 1.

Resultados de prueba de Kruskal – Wallis al día 7 de iniciado los tratamientos

	Inflamación	Reepitelización	Neovascularización	Depósito de Colágeno	Fibroplasia	Contaminación bacteriana	Contaminación fúngica
Chi-cuadrado	6,539	2	4,089	3,764	1,498	4,025	0
gl	2	2	2	2	2	2	2
Sig. asintót	0,038	0,368	0,129	0,152	0,473	0,134	1

La tabla 1 presenta los rangos promedio por tratamientos para la variable inflamación, la cual, resultado significativa en la prueba de Kruskal - Wallis, así mismo, muestra los resultados de las comparaciones por pares de tratamientos.

Tabla 2.

Variable inflamación por tratamientos a los 7 días

Tratamientos	n	Rango promedio
Control	8	17,00a
Plasma rico en plaquetas	8	10,19b
Plasma gel	8	10,31b
Total (N)	24	

En la tabla 2 se observa que el mayor nivel de inflamación, en términos del rango promedio, lo presenta el tratamiento control (rango promedio = 17,00). Niveles más bajos de inflamación y muy similares, se encuentran en los tratamientos plasma rico en plaquetas (10,19) y plasma gel (10), los cuales, difieren de manera significativa del tratamiento control.

El análisis del resto de variables resultó no significativo comparándolas entre ellas, en las ocurrencias existió ausencia casi total del proceso de reepitelización después de 7 días de la lesión. El proceso de neovascularización se presenta básicamente, desde el nivel ausente al leve, y tal como lo señala el resultado de la prueba de Kruskal – Wallis, sin marcada superioridad para ningún tratamiento. La variable depósito de colágeno, se muestra con similares conteos para todos los tratamientos, principalmente a nivel escaso, solamente en los tratamientos T2 y T3 se observan vestigios a nivel leve y moderado. Con respecto a la fibroplasia, fundamentalmente esta se encuentra a nivel ausente, con número

de casos muy similares en los tratamientos, pequeña señal se presenta en los tratamientos T2 y T3 a nivel moderado. Finalmente, en referencia a la contaminación bacteriana, en alto grado estuvo ausente, 20 casos distribuidos de manera casi similar en los tres tratamientos, 3 de 8 animales en el tratamiento control (T1), presentaron contaminación bacteriana, y la contaminación fúngica estuvo siempre ausente en los todos tratamientos.

Comparación de tratamientos a los 14 días

La tabla 3 se refiere a los resultados obtenidos a través de la prueba de Kruskal – Wallis, al considerar, después de 14 días transcurridos, los tres efectos de tratamientos sobre las variables: inflamación, Re-epitelización, neovascularización, depósito de colágeno, fibroplasia, contaminación bacteriana y contaminación fúngica.

Tabla 3.

Resultados de prueba de Kruskal – Wallis al día 14 de iniciado los tratamientos

Inflamación	Reepitelización	Neovascularización	Depósito de Colágeno	Fibroplasia	Contaminación bacteriana	contaminación fúngica
3,044	0,416	0,957	4,922	1,394	2,706	0
2	2	2	2	2	2	2
0,218	0,812	0,62	0,085	0,498	0,258	1

La tabla 3 revela que, al nivel de significación del 10%, solamente la variable depósito de colágeno presenta diferencias por tratamientos, el resto de las variables, a los 14 días, no muestran diferencias atribuibles a los tratamientos.

Tabla 4.

Variable depósito de colágeno por tratamientos al día 14

Tratamientos	N	Rango promedio
Control	8	11,06a
Plasma rico en plaquetas	8	9,75a
Plasma gel	8	16,69ba
Total (N)	24	

La tabla 4 presenta valores del rango promedio por tratamiento para la variable depósito de colágeno. La tabla evidencia, para la variable depósito de colágeno, que los mejores

valores se presentan en el tratamiento con plasma gel (rango promedio = 16,69) y este, difiere significativamente de los obtenido con los tratamientos control y plasma rico en plaquetas. Los niveles de depósito de colágeno para los tratamientos control y Plasma rico en plaquetas se muestran inferiores y algo similares, 11,06 y 9,75 respectivamente, esto es verificado por la prueba de comparaciones múltiples, al reportar diferencia no significativa.

En lo referente a las variables que no resultaron significativas en la prueba de Kruskal – Wallis, para el factor inflamación, se nota que, para este momento, en mayor grado este se concentró en los niveles leve (8 casos) y moderado (11 casos), estos distribuidos casi equitativamente en los tres tratamientos sin llegar a marcar evidente superioridad de ninguno. Para esta variable inflamación, resaltan los tratamientos control (T1) y plasma rico en plaquetas (T2) porque presentan entre ambos 5 casos de inflamación marcada. En la variable reepitelización y neovascularización, ocurrió algo similar, 21 casos de reepitelización y 22 de neovascularización se concentraron en los niveles ausente y leve, repartidos en los tratamientos sin evidencias claras de superioridad para ninguno de ellos. Para fibroplasia, los resultados encontrados apuntan hacia los niveles leve y moderado, con una leve inclinación de los resultados a favorecer los tratamientos T2 y T3. En consideración a los valores de contaminación bacteriana, en 17 casos del total de 24 estuvo ausente y la contaminación fúngica, permaneció ausente en su totalidad.

Comparación de tratamientos a los 21 días

La tabla 5 se refiere a los resultados obtenidos al comparar, después de 21 días de evolución, los tres efectos de tratamientos sobre las variables experimentales: inflamación, reepitelización, neovascularización, depósito de colágeno, fibroplasia, contaminación bacteriana y contaminación fúngica. La tabla muestra que, en todas las variables estudiadas, no se aprecian en términos de rangos promedios debido a la prueba de Kruskal - Wallis, diferencias en los efectos de tratamiento considerados.

Tabla 5.

Resultados de prueba de Kruskal – Wallis al día 21 de iniciado los tratamientos

	Inflamación	Reepitelización	Neovascularización	Depósito de Colágeno	Fibroplasia	Contaminación bacteriana	Contaminación fúngica
Chi-cuadrado	0,595	0,987	1,278	0	2,026	2,19	0
gl	2	2	2	2	2	2	2
Sig. asintót	0,743	0,61	0,528	1	0,363	0,334	1

Entre las ocurrencias de las variables analizadas, para la variable inflamación, después de 21 días transcurridos, el nivel de inflamación que prevalece es el leve (17 casos), sin presentarse diferencias marcadas de casos entre tratamientos. En menor cantidad de ocurrencias se encuentra el nivel de inflamación moderado con 6 casos, igualmente repartidos en los tratamientos. Para el proceso de reepitelización, las observaciones tienden a presentarse del nivel leve, hacia el nivel avanzada y completa, sin poder establecerse una superioridad manifiesta en ninguno de los tratamientos. El desarrollo de la neovascularización, alcanzo niveles de ausente (6 casos) y en mayor cantidad el nivel leve (18), sin predominio de algún tratamiento. Las variables depósito de colágeno y fibroplasia mostraron conteos parecidos en los niveles leve y moderado, para el orden mencionado de las variables y de los niveles, estos valores fueron, 11 y 11, y 10 y 12, repartidos en cantidades similares para los tres tratamientos.

Por último, con relación a las medidas de contaminación, bacteriana y fúngica, la bacteriana, igual que a los 7 y 14 días, esta viene presentándose generalmente ausente, en este momento, se hallaron 21 casos del total de 24. Con respecto a la contaminación fúngica, igual que en los periodos anterior, esta, estuvo ausente en todos los tratamientos.

Discusión

A pesar de que en el presente estudio la fibroplasia no fue estadísticamente significativa, existieron promedios mayores en las heridas tratadas con plasma rico en plaquetas y plasma gel a los días 7 y 15 de iniciado los tratamientos, similar a lo ocurrido en el trabajo de Bertone (14), que a los 7 y 15 días de experimento observaron mayor cantidad de fibroblastos en heridas experimentales en conejos tratados con plasma rico en plaquetas versus un tratamiento placebo. Resultados similares obtuvo (20), que probó el uso de plasma rico en plaquetas solo o combinado en el tratamiento de heridas de conejos, obteniendo a partir del día 7, un incremento en la cantidad de fibroblastos sin importar el aditivo usado con el plasma rico en plaquetas. Diferimos de (14), en la variable neovascularización, ya que a diferencia del presente estudio que no se obtuvo diferencia significativa entre los tratamientos, a partir del 7mo día obtuvieron mayor proliferación vascular temprana y aumento vascular en los días 7 y 15 de tratamiento con PRP en comparación al tratamiento control.

Un estudio similar realizado por (16), en el que se empleó tratamiento por segunda intención a heridas de perros, mediante el uso de plasma rico en plaquetas autólogo y heterólogo, detallan al día 8 y 15 un porcentaje mayor de fibroblastos, en las muestras tratadas con PRP autólogo y heterólogo, en comparación al control, resultado similar al nuestro en esta variable. Discrepamos de este experimento en el porcentaje de inflamación, para el cual, al octavo día no obtienen diferencia significativa entre las heridas tratadas con PRP autólogo en comparación al tratamiento control, mientras que,

en el presente ensayo, el tratamiento control obtuvo mayor nivel de inflamación versus los tratamientos con PRP y plasma gel al día 7 de tratamiento.

Para analizar el efecto bactericida que posee el PRP, (19) en su estudio realizado en ratas, comparó efecto antibacteriano del plasma gel en heridas subcutáneas infectadas con *Staphylococcus aureus* subespecie *aureus* resistente a la Metilicina (MRSA NR15), obteniendo a los 7 días concentraciones bacterianas similares entre tratamientos de plasma gel y con el Vancomicina en comparación a un tratamiento placebo, en nuestro estudio al ser un procedimiento aséptico sin la inoculación de ningún tipo de cepa bacteriana no obtuvimos diferencias en esta variable entre los tratamientos pero no descartamos que el plasma gel y el plasma rico en plaquetas disminuyan las concentraciones bacterianas en heridas.

Conclusiones

- De los resultados obtenidos podemos concluir que las heridas tratadas por segunda intención con el uso plasma rico en plaquetas y plasma gel mejoran entre los 7 a 15 días de tratamiento, reduciendo el grado de inflamación y aumentando el depósito de colágeno en comparación a tratamientos placebo.
- Además, se concluye que entre el uso de Plasma rico en plaquetas y Plasma gel se obtuvieron mejores resultados de los parámetros de cicatrización para las heridas tratadas con Plasma gel, sobre todo al día 15 de iniciado los tratamientos.

Conflicto de intereses

Limitaciones del estudio

El resultado de los estudios histológicos se basa en la experiencia profesional del patólogo o de la persona que procede a dar lectura e interpretación y dependen, muchas veces de criterios personales.

La tinción de placas en ambas coloraciones es de tipo manual y esto puede generar variación en la intensidad de la coloración.

Las valoraciones son cualitativas y de análisis de proporciones y porcentajes, debido a que la valoración cuantitativa no es posible, al ser un proceso que se realiza únicamente con microscopios y softwares especializados. Estos equipos no están disponibles en el Laboratorio de Diagnóstico Anatomopatológico Veterinario.

Fortalezas del estudio

La lectura fue realizada por un Especialista en Diagnóstico Anatómo-histopatológico Veterinario, bajo estándares actualizados de valoración morfológica.

Para mejorar la valoración cualitativa, se usaron tinciones histoquímicas especiales para la valoración de fibroplasia y depósito de colágeno.

Referencias bibliográficas

1. Ribeiro APL, de Oliveira BGRB. Production cost of autologous platelet rich plasma gel. Rev Lat Am Enfermagem. 2019;27.
2. Fariña Sirandoni PA, Pulgar Aguila RA, Molina Cofré AI. Evaluación de cinco protocolos estándar para la obtención de plasma rico en plaquetas en caninos. Spei Domus. 2020 Dec 2;16(1):1–16.
3. Cuadros-Corredor YL, Siabato-Moreno JC, Roque-Rodríguez A. Uso de los factores de crecimiento presentes en el plasma rico en plaquetas como un tratamiento alternativo de lesiones músculo esqueléticas en animales. Orinoquia. 2021 Jun 16;25(1):47–64.
4. María Ávila-Álvarez A, Álvarez-Pardo F, Vélez-Gaviria M, Palacios C. Platelet-rich plasma. Considerations for its use in Dermatology. Med Cutan Iber Lat Am [Internet]. 2018;46(2):87–92. Available from: www.medigraphic.com/medicinacutaneawww.medigraphic.org.mx
5. López S, Vilar JM, Sopena JJ, Damià E, Chicharro D, Carrillo JM, et al. Assessment of the efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of traumatic canine fractures. Int J Mol Sci. 2019 Mar 1;20(5).
6. Díaz Y. Plasma Gelificado: Técnica de Obtención. (Plasma Gel). Dermatología Venezolana. 2017;55(2):49–53.
7. Senet P. Fisiología de la cicatrización cutánea. EMC - Dermatología. 2008 Jan;42(1):1–10.
8. Ramírez G. Fisiología de la cicatrización cutánea. Revista Facultad de Salud - RFS. 2010;2(2):69–78.
9. Díaz Salas A. La reparación por tejido conjuntivo: Fibrosis. Curación de las heridas. 2006.
10. Pavletic MM. Atlas de manejo de la herida y cirugía reconstructiva en pequeños animales. Vol. 3. Inter-Médica; 2011. 678 p.
11. Silva, RF, Santana, GC, Leme, Fop, et al. Release of transforming growth factor beta 1 and platelet derived growth factor type AB from canine platelet gels obtained by the tube method and activated with calcium salts. 2013.

12. Rodríguez-Salazar O, Lebron-Matéo F, Fuentes-Díaz Z, Rodríguez-Hernández O. Evaluación del plasma rico en plaquetas para la cicatrización de los pacientes con quemaduras dérmicas. *Archivo Médico Camagüey* [Internet]. 2022;26. Disponible en: <https://orcid.org/0000-0002-2323-5131>
13. Moneib HA, Youssef SS, Aly DG, Rizk MA, Abdelhakeem YI. Autologous platelet-rich plasma versus conventional therapy for the treatment of chronic venous leg ulcers: A comparative study. *J Cosmet Dermatol*. 2018 Jun 1;17(3):495–501.
14. Bertone P, Boaglio C, Ruiz F. Efecto del plasma rico en plaquetas en la cicatrización de heridas. *CicatrizAR*. 2019;5(7):36–43.
15. Acosta L, Castro M, Fernández M, Oliveres E, Gomez-Demmel E, Tartara L. Tratamiento de úlceras corneales con plasma rico en plaquetas. *Arch Soc Esp Oftalmol*. 2014 Feb;89(2):48–52.
16. Guallasamin O, Moreno V. Uso de plasma rico en factores de crecimiento autólogo y heterólogo sobre el proceso cicatrizal. Estudio experimental en caninos [Tesis de Grado]. Universidad Central del Ecuador; 2013.
17. Aftab A, Joshi UKM, Patil SKG, Hussain E, Bhatnagar S. Efficacy of autologous platelet rich plasma gel in soft and hard tissue healing after surgical extraction of impacted mandibular third molar - A prospective study. *J Oral Maxillofac Surg Med Pathol*. 2020 Jul 1;32(4):241–6.
18. Muñoz AL, Merchán WH, Resende Pires AL, Moraes ÂM, Gómez LA. Biostimulation of venous chronic ulcers with platelet-rich plasma gel and biocompatible membranes of chitosan and alginate: A pilot study. *Wound Medicine*. 2019 Sep 1;26(1).
19. Cetinkaya RA, Yilmaz S, Ünlü A, Petrone P, Marini C, Karabulut E, et al. The efficacy of platelet-rich plasma gel in MRSA-related surgical wound infection treatment: an experimental study in an animal model. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2018 Dec 1;44(6):859–67.
20. Segarra-Martínez JA, Castillo-Hidalgo EP, Rubio-Arias PG. Comparación del uso del plasma rico en plaquetas, solo o combinado, sobre el proceso de cicatrización en heridas quirúrgicas. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias*. 2022 Sep. 4; XXXII (single):1–6.

El artículo que se publica es de exclusiva responsabilidad de los autores y no necesariamente reflejan el pensamiento de la **Revista Anatomía Digital**.



El artículo queda en propiedad de la revista y, por tanto, su publicación parcial y/o total en otro medio tiene que ser autorizado por el director de la **Revista Anatomía Digital**.



Indexaciones

