

Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF): cuando los factores de crecimiento se encuentran con la fibrina

Eduardo Anitua^{a,b}, Sabino Padilla^{a,b}

^aBTI-Biotechnology Institute ImasD, Vitoria, España

^bUniversity Institute for Regenerative Medicine & Oral Implantology - UIRMI (UPV/EHU-Fundación Eduardo Anitua), Vitoria, Spain.

1. INTRODUCCIÓN

En medicina regenerativa, las tecnologías biológicas están emergiendo como herramientas útiles y adyuvantes para mejorar el microambiente dañado de los tejidos y contribuir de manera efectiva a restaurar su nivel funcional original. Gracias a una comprensión más profunda de los eventos celulares y moleculares que ocurren en los tejidos dañados (quemaduras, úlceras de la piel y córnea, la artrosis, lesiones musculares, tendinopatías, degeneración del disco intervertebral), así como de los sistemas biológicos de defensa, como el sistema de coagulación con las plaquetas y el sistema del complemento como agentes principales, estamos asistiendo a un incremento de los biomateriales autólogos derivados de la sangre, incluidas las matrices autólogas de fibrina y proteínas plasmáticas y plaquetarias. Tres elementos clave convergen simultáneamente en las matrices autólogas de fibrina (PRGF) que hacen que estas terapias biológicas autólogas que imitan a la biología, se conviertan en sistemas seguros y eficaces como agentes terapéuticos, tanto en formulaciones de infiltraciones líquidas de forma local o como en sus equivalentes de membranas: los factores de crecimiento (FC) y micropartículas (PMPs) derivadas de plaquetas y plasma, la fibrina, y la interacción de estos factores de crecimiento tanto con la matriz de fibrina como con las células del tejido del propio paciente.

Basándose en estos conceptos y en evidencias recogidas tanto en ciencia básica como en estudios clínicos, la cirugía oral y maxilofacial, la cirugía ortopédica y medicina del deporte, dermatología y oftalmología se encuentran entre los campos médicos más relevantes donde los productos autólogos derivados de la sangre ejercen resultados clínicos significativamente positivos. Existen numerosas evidencias que indican la reparación del cartílago, músculo, nervio, tendón y hueso, así como de la curación de quemaduras en la piel y úlceras corneales.

2. REPARACIÓN TISULAR: CUANDO LA INMEDIATEZ SE IMPONE SOBRE LA PERFECCIÓN ESTRUCTURAL

2.1 Daño tisular y el sistema biológico de defensa

En los mamíferos, la reparación tisular es un proceso multicelular mediado por señales moleculares derivadas de los mecanismos complementarios subyacentes al sistema de defensa biológico que incluye a la hemostasia y la coagulación, el sistema inmune innato, el sistema nervioso sensorial y la fibrogénesis (*Figura 1*). Estos procesos han evolucionado para evitar el sangrado y la infección microbiana y con ello restaurar la homeostasis del tejido y del organismo. Así pues, la reparación tisular puede considerarse como un subproducto o el resultado final de la activación secuencial de los módulos que constituyen el sistema biológico de defensa (*Figura 1*). Los agentes celulares del sistema de defensa biológico incluyen a las plaquetas, leucocitos, macrófagos, neuronas nociceptoras y fibroblastos. La alteración de la integridad estructural de los tejidos vascularizados de los mamíferos causada por agentes nocivos que afectan a tejidos como la piel, el sistema nervioso central y periférico o los tejidos musculoesqueléticos, desencadena la activación de las plaquetas y las neuronas nociceptivas, la formación de un coágulo de fibrina y el reclutamiento de neutrófilos y monocitos en el lugar afectado. Este es el primer punto de control para detener rápidamente la hemorragia y destruir y eliminar microbios, donde el dolor despierta cambios de comportamiento evitando así los estímulos nocivos.

En respuesta a las citoquinas, quimioquinas y neuropéptidos liberadas por la activación de las plaquetas y fibras C nociceptivas, como la histamina, serotonina, ATP, Ca⁺⁺, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina y las metaloproteinasas de la matriz, se produce una vasodilatación y una mayor permeabilidad de los vasos sanguíneos que permiten el paso del plasma y leucocitos (neutrófilos, eosinófilos y monocitos) hacia el parénquima dañado. Estos primeros eventos moleculares y celulares

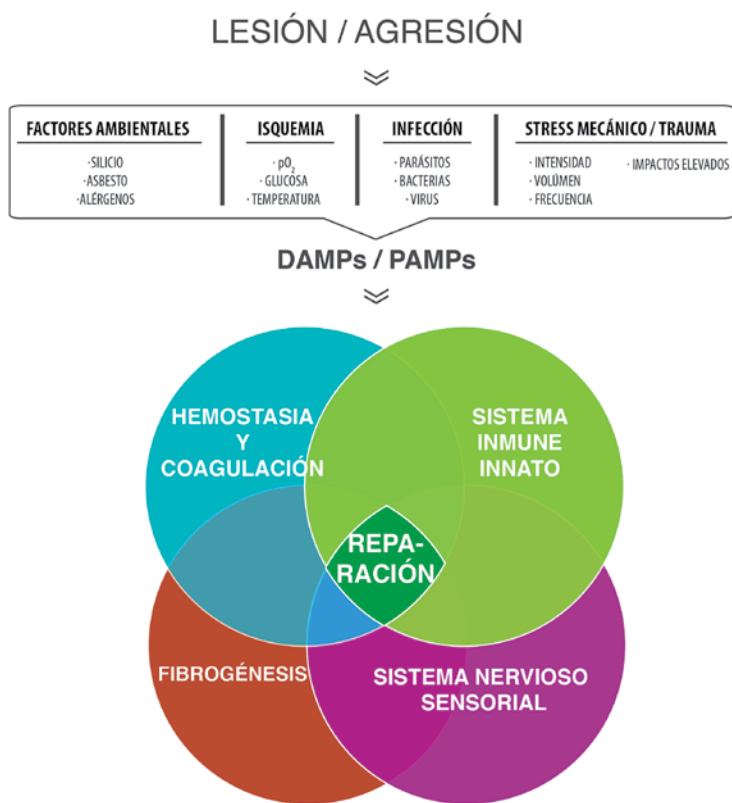


Figura 1. La reparación tisular en mamíferos.

han evolucionado con el fin de reparar rápidamente, en lugar de perfectamente, y tienen una traducción fisiopatológica en la clínica, conocida como inflamación aguda con cinco síntomas: hinchazón, enrojecimiento, calor, dolor y alteración de la función.

2.2 La fibrina: pieza central en la reconstrucción tisular

El daño local ocasionado en la composición física y química del microambiente celular y en las propias células, expone simultáneamente el factor tisular (TF) de la célula subendotelial y la superficie de los fibroblastos al torrente sanguíneo (también de los monocitos), lo que conlleva la formación de un complejo de protrombinasa que sirve para convertir la protrombina en trombina, una enzima del grupo de las proteasas de serina (tripsina, plasmina, quimotripsina) clave del sistema de coagulación. La fragmentación del fibrinógeno por la trombina genera una matriz de fibrina provisional, y simultáneamente la trombina activa a las plaquetas que son los primeros respondedores celulares junto con las neuronas sensitivas en el tejido dañado. Las plaquetas activadas junto con las células endoteliales, neutrófilos y macrófagos tisulares, los nociceptores de fibra C y las células apoptóticas liberan factores de crecimiento, citoquinas, micropartículas y otras moléculas de señalización. Mientras que la >>>

El PRGF como adyuvante en el tratamiento conservador y quirúrgico en terapia regenerativa



Figura 2. El papel que juegan los componentes del PRGF en la regeneración/reparación tisular.

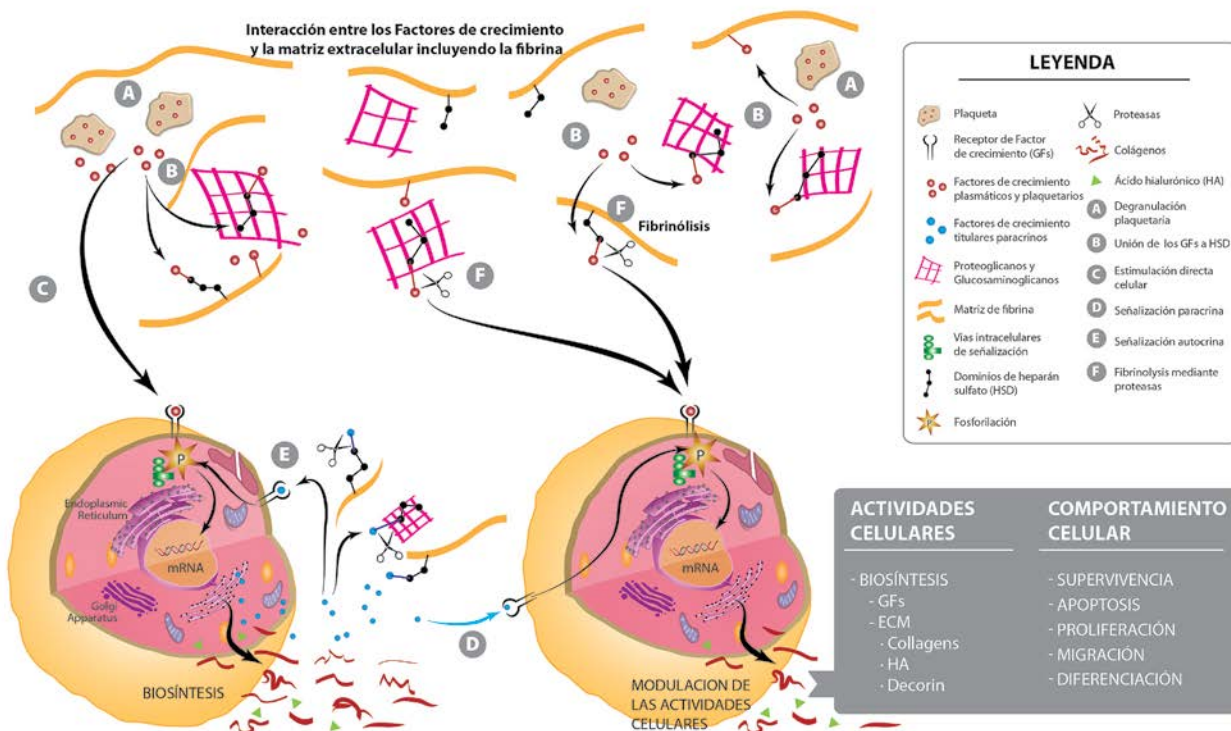


Figura 3. El mecanismo dinámico del PRGF en modular la actividad y comportamiento celular.

>>> formación de un coágulo de fibrina y de un tapón de plaquetas activadas pretende limitar el sangrado y la invasión microbiana, la tormenta local de factores de crecimiento y citoquinas liberadas por las citadas células, así como los péptidos de trombina y la trombina (este último mediado por PAR (receptor activado proteolíticamente) y NPAR (receptor no activado proteolíticamente) impulsan la reparación tisular en los mamíferos. Esta oleada de factores de crecimiento y de citoquinas se atenúa principalmente por la presencia en la matriz de fibrina, así como en la matriz extracelular de dominios de heparán sulfato y de los proteoglicanos de heparán sulfato de la membrana basal tisular (HSPG), en los que los factores de crecimiento se acoplan con una baja afinidad y logran una alta actividad mediante dimerización y agrupamiento, antes de encontrar su receptor análogo en las superficies celulares. (Figuras 3A y 3B). El coágulo de fibrina natural y los proteoglicanos de heparán sulfato (HSPG) de la matriz extracelular, ejercen varias funciones: son el primer entorno que las células encuentran para desempeñar sus funciones en la reparación del tejido dañado, actúan como un depósito de factores de crecimiento, y establecen un gradiente quimiotáctico espacio-temporal que se requiere para instruir el comportamiento celular, incluidas las células madre mesenquimales (MSC) y la migración de macrófagos (M) a la matriz de fibrina. Por su parte, los HSPG de la matriz extracelular,

protegen a los factores de crecimiento de la proteólisis, reteniendo así su bioactividad hasta que se liberan por la degradación gradual del coágulo de fibrina por el sistema fibrinolítico de plasmina/plasminógeno. Este sistema se complementa en los tejidos con las metaloproteinasas liberadas por las células inmunes y mesenquimales que migran hacia la matriz de fibrina. Por último, los HSPG facilitan la endocitosis y la internalización de diversos factores de crecimiento del tipo tirosina-quinasa que determinan la exposición celular a diferentes concentraciones de factores de crecimiento en diferentes momentos, evitando así la respuesta excesiva y la sobreestimulación.

2.3 Factores de crecimiento: sistema de comunicación-información entre las células.

Los factores de crecimiento, citoquinas y morfógenos, actúan como ligandos extracelulares al unirse a los receptores transmembrana situados en la superficie de las células diana, activando así las vías de señalización intracelulares que transmiten la señal al núcleo. Esta maquinaria que une molecularmente el citoplasma con el núcleo incluye los complejos eventos implicados en la fosforilación de proteínas, flujo de iones de calcio, reorganización de actina y el citoesqueleto y cambios en la expresión génica. Estos mecanismos finalmente conducen a un amplio rango de especificaciones celulares durante el desarrollo, la reparación de tejidos, y la inflamación, incluida la supervivencia

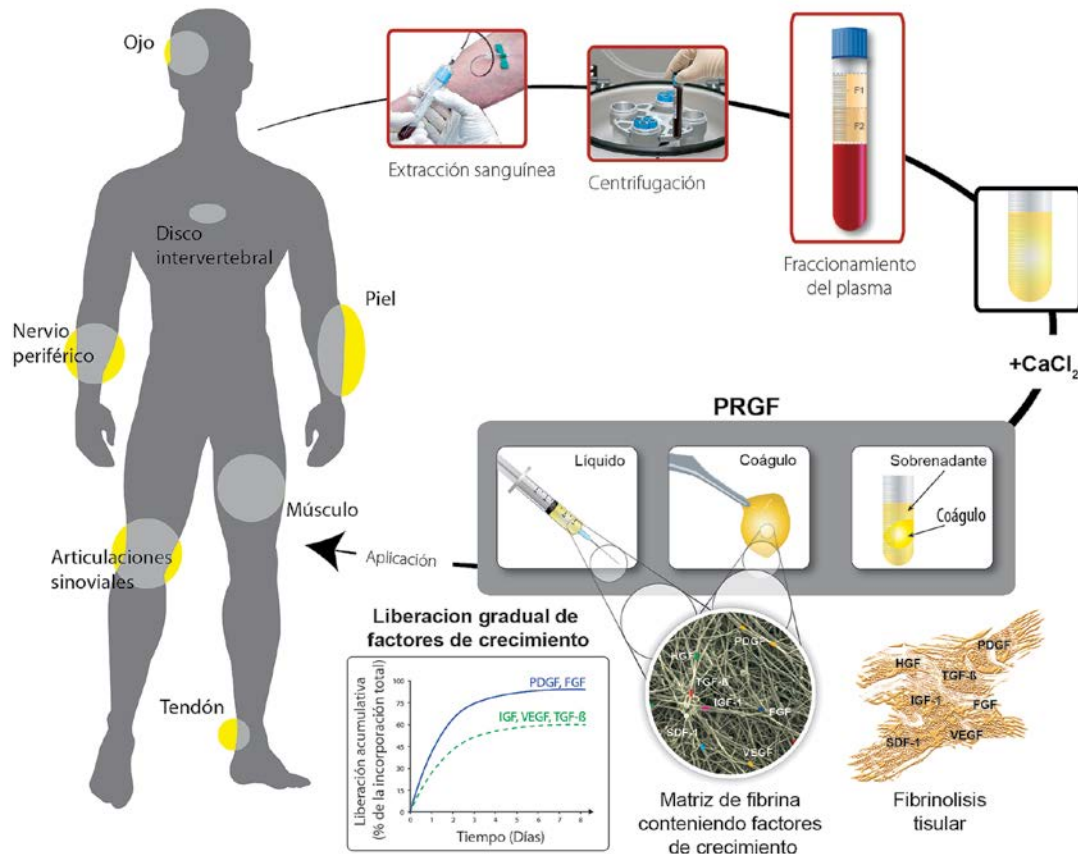


Figura 4. La preparación y aplicación de las diferentes formulaciones del PRGF en la medicina regenerativa.

celular, proliferación, migración, diferenciación, maduración, senescencia y cambios en la síntesis y el metabolismo de proteínas (*Figuras 3C y 3D*). Los factores de crecimiento y las citoquinas inician la inflamación, angiogénesis, activación y polarización de los macrófagos, los destinos celulares y la diferenciación de células madre progenitoras y la fibrogénesis, así como la resolución activa de la inflamación, la angiogénesis y la fibrogénesis. La resolución del período trófico o reparador continúa con una etapa de remodelación siempre y cuando los macrófagos reguladores fagociten a los miofibroblastos. De esa manera se eliminan los estímulos que inducen la expresión de TGF-β1 y otros factores profibróticos (factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), interleucina (IL) -13), moléculas que favorecen un microambiente fibrótico persistente. Sugerimos que el proceso de reparación podría considerarse como un subproducto o epifenómeno de los mecanismos que subyacen al sistema de defensa biológico y la resolución de la inflamación y la fibrogénesis. El resultado estructural del proceso de reparación no se resuelve con un resultado universal, y dependerá de la interacción entre los módulos del sistema de defensa biológico (*Figura 1*). El período hemostático-inflamatorio inicial parece influir fuertemente en el proceso de reparación, donde la cicatrización fibrótica, que es el resultado secundario más infructuoso y no funcional, se debe principalmente a la actividad persistente de miofibroblastos en un microambiente inflamatorio no resuelto con un exceso de TGF-β1.

3. QUÉ ES Y CÓMO SE PREPARA EL PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO

La matriz autóloga de fibrina rica en proteínas derivadas de plaquetas y plasma (ABDPS o PRGF) es un concentrado de plaquetas autólogo dentro de una suspensión de plasma cuya activación con CaCl₂ convierte la solución en una matriz dinámica líquido-gel de fibrina que cuando se inyecta permite una localización espacial y entrega local y bifásica de factores de crecimiento. Se obtiene de una fracción de la sangre activada en unos tubos de recolección a partir de una centrifugación con un protocolo específico (*Figura 4*).

Esta técnica fue descrita por primera vez en el 1999. En este trabajo se describe la preparación del primer plasma rico en plaquetas 100% autólogo, evitando el uso de trombina bovina para la activación plaquetaria. La preparación de esta formulación autóloga es un proceso rápido, de varios pasos y fácilmente reproducible que se basa principalmente en las cascadas intravasculares de la inmunidad innata y las plaquetas.

3.1. ¿Cómo se prepara la matriz de fibrina autóloga?

De forma resumida, podemos decir que el proceso comienza con la extracción de un pequeño volumen de sangre del propio paciente en tubos que contienen 3,8% de citrato trisódico como anticoagulante para >>>

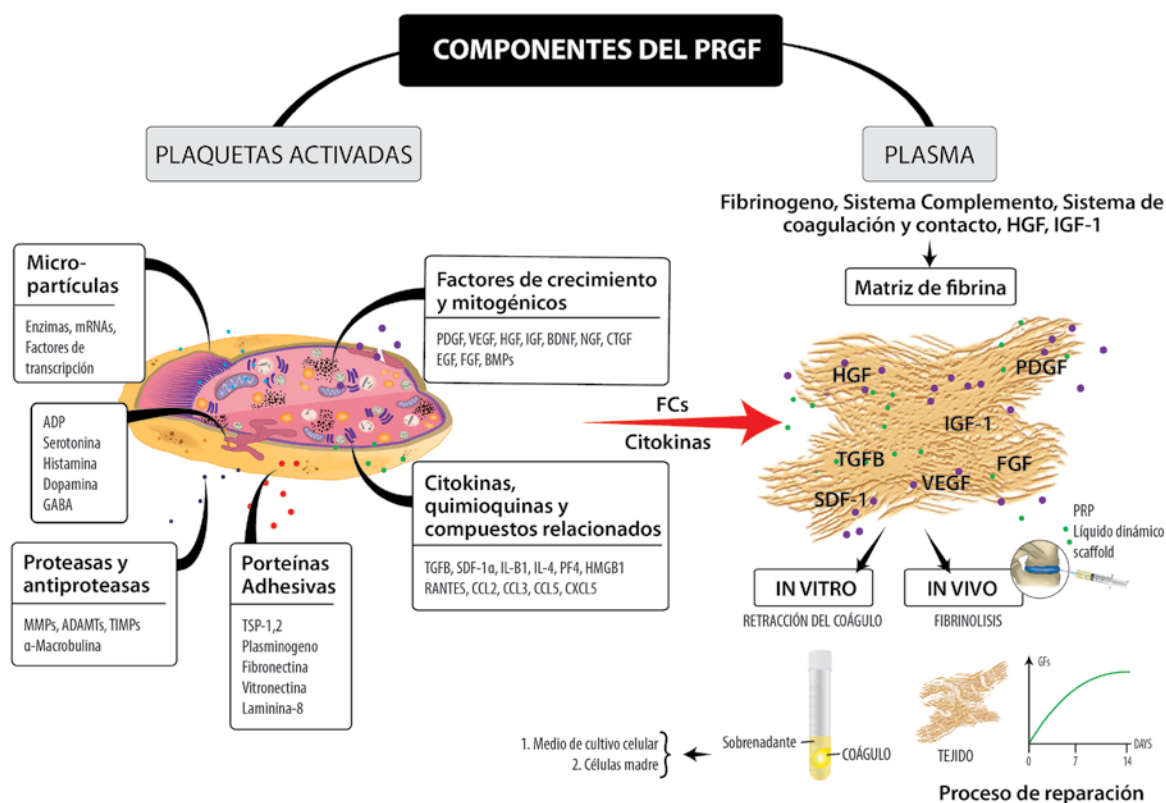


Figura 5. Los componentes del PRGF.

>>> preservar las plaquetas íntegras. Entonces el proceso de centrifugación se realiza siguiendo parámetros específicos (una única centrifugación a temperatura ambiente) para maximizar la producción de plaquetas y mantener el plasma libre de leucocitos. Este proceso básico de deconstrucción de la sangre se fundamenta básicamente en la ley de Stoke, según la cual la velocidad de sedimentación de las células sanguíneas depende de su gravedad específica (SG) o densidad, diámetro y peso. De esta manera, las células sanguíneas rojas (eritrocitos) (aproximadamente 7 μm de diámetro y SG de 1.095–1.101) y glóbulos blancos (WBC) (7–15 μm de diámetro y SG de 1.055–1.095), sedimentarán proporcionalmente más rápido que las plaquetas (aproximadamente 2 μm de diámetro y SG de 1.058), cuando se someten a una fuerza gravitacional. Mientras las plaquetas continúan suspendidas en el plasma sanguíneo, los glóbulos rojos y los glóbulos blancos sedimentarán en la parte inferior del tubo dando como resultado la separación típica de tres capas (Figura 4). En la parte superior, una capa amarillenta de plasma, que presenta un gradiente plaquetario, con concentración máxima de plaquetas por encima de la capa leucocitaria (en la parte de abajo con aumento de plaquetas de 2-3 veces con respecto al valor de la sangre total, en comparación con 1–1.5 veces en la parte superior del plasma); debajo de la capa de plasma, los glóbulos blancos (la capa conocida como el *buffy coat*); y la capa inferior, que contiene principalmente los glóbulos rojos. Tras esta deconstrucción, la fracción plasmática sobre los glóbulos blancos se recolecta y obtenemos un líquido formado por plasma donde se encuentran suspendidas las plaquetas en concentración

supra fisiológica, aproximadamente 2,5 veces el valor de plaquetas en sangre periférica, y poco a poco se distribuye en el líquido. De esta manera, con respecto al plasma, es posible diferenciar entre dos fracciones diferentes, que dependen de su respectiva concentración de plaquetas, la fracción superior (F1) contendrá un número similar de plaquetas al de sangre periférica, mientras que la fracción inferior (F2) contendrá 2–3 veces la concentración de plaquetas en comparación con la sangre periférica. Sin embargo, dependiendo de la aplicación, como en el caso del colirio autólogo derivado de plaquetas y plasma (como se verá más adelante), es posible recoger toda la columna de plasma sin realizar dos fracciones. Por lo tanto, dependiendo de las necesidades clínicas, el fraccionamiento del plasma se puede hacer en una o dos fracciones, logrando un mayor volumen y menor concentración de plaquetas (una sola fracción), o menor volumen y mayor concentración de plaquetas (dos fracciones, F1 y F2).

3.2. Versatilidad de diferentes formulaciones de PRGF

Para obtener una formulación terapéutica, las fracciones F1 y F2 se activan agregando una solución de CaCl_2 al 10%, que induce la generación de trombina autóloga nativa, un poderoso mitógeno, dando como resultado la polimerización simultánea de fibrinógeno plasmático en una matriz de fibrina insoluble y la activación y degranulación de las plaquetas. Las plaquetas liberan miles de biomoléculas que incluyen pero que no se limitan a factores de crecimiento, citocinas, quimiocinas, proteínas adhesivas y micropartículas (Figura 5).

Al hacerlo, evitamos el uso de trombina bovina exógena como activador, una fuente de posibles reacciones inmunológicas, y generamos un biomaterial versátil y autólogo que al aplicarse o inyectarse en la lesión, recapitula los principales eventos comúnmente asociados con el microambiente curativo nativo. Además, el ABDPS-PRGF actúa como un producto antimicrobiano directo, que se debe principalmente al secretoma plaquetario, a la fibrina y al sistema complemento.

La concentración de diferentes FC liberados por las matrices de fibrina autólogas derivadas de las plaquetas y del plasma presentan diferencias interindividuales que dependen del recuento de plaquetas del paciente, edad, contenido variable de FC en los gránulos α de las plaquetas y en el plasma. La *Tabla 1* muestra un rango de dosis de la concentración de FC en 1 ml de la fracción 2 del PRGF, la más utilizada terapéuticamente, mientras que en la *tabla 2* se presenta la cantidad total de FC administrados cuando se aplica ABDPS-PRGF en la osteoartritis de rodilla, tendinopatías, lesiones musculares, neuropatías por compresión, úlceras cutáneas y quemaduras.

4. ¿Cómo funciona la matriz proteica líquido-dinámica de fibrina autóloga?

Los factores de crecimiento derivados de la sangre, provenientes tanto de las plaquetas como del propio plasma, son candidatos en la acción de la reparación tisular en los

mamíferos. Varias líneas de evidencia derivadas de las terapias de nicho de células madre tanto a nivel sistémico como local, y de los trastornos plaquetarios congénitos, representados por experimentos de parabiosis, microfracturas subcondrales, infiltraciones intraóseas, escarificaciones de tendones y por el síndrome de plaquetas grises, respectivamente, fundamentan el concepto.

4.1. Imitando la reparación natural.

Se ha observado que las matrices de fibrina derivadas de plaquetas y plasma autólogo imitan lo que sucede después de una lesión en los tejidos vasculares, incluyendo piel, intestinos, tendones y ligamentos, músculos, huesos, tejidos de articulaciones sinoviales y otros tejidos musculoesqueléticos en los mamíferos. Estas matrices potencian principalmente el proceso de reparación endógeno, pero no exclusivamente, en lesiones inflamatorias estériles (artrosis, tendinopatías, lesiones de cartílago, neuropatías periféricas, quemaduras y úlceras en la piel, úlceras corneales y síndrome de ojo seco, entre otros).

La funcionalidad y versatilidad de la fibrina autóloga se basa en los componentes biológicos seleccionados durante la evolución, que combinan, por un lado, la liberación de factores de crecimiento, citoquinas y quininas procedentes de plaquetas activadas y del plasma y la formación de un coágulo de fibrina por otro. Muchos de estos factores de crecimiento son atrapados en la matriz y ésta actúa como un sistema de liberación de proteínas, así como de barrera antimicrobiana en el área dañada, entre otras funciones.

>>>

Tabla 1

Valor medio y el rango de concentración de factores de crecimiento del PRGF-Endoret (ng / ml) (la fracción F2 es la fracción plasmática habitual para uso terapéutico). Estos valores fueron obtenidos de diferentes referencias y son consistentes con los datos publicados por otros autores.

TGFB-1	PDGF-AB	VEGF	IGF-1	HGF	FGF	EGF	NGF**
40-80	8-20	0.15-0.40	90-120	0.5-0.7	0.012-0.02	0.4-0.6	0.06-0.09

* Valores obtenidos por Sanchez et al 2007 (n=7), Anitua et al 2016 (n=8), Anitua et al 2016 (n=30) y Anitua et al 2017 (n=19)

**Valores tomados de Anitua et al 2013 y Anitua et al 2015

***Las unidades de factores de crecimiento están en ng/ml

Tabla 2

Cantidad total (ng) de factores de crecimiento administrada cuando se aplica PRGF como tratamiento en diferentes patologías humanas. El valor promedio de cada FC fue tomado de la *tabla 1*.

		TGF- β 1	VEGF	PDGF-AB	HGF	IGF-1	bFGF	NGF
Artrosis de rodilla	3 inf x 8ml	1440	4.8	384	14.4	2520	0.38	1.8
Tendinopatías	2 inf x 5ml	600	2.0	160	6	1050	0.16	0.75
Roturas musculares	2 inf x 8ml	960	3.2	256	9.6	1760	0.25	1.2
Neuropatía	3 inf x 7ml	1260	4.2	336	12.6	2205	0.33	1.57
Úlceras cutaneas	5 inf x 8ml	2400	8	640	24	4200	0.64	3

*El valor medio de cada uno de los factores de crecimiento (ng/ml) está tomado de la tabla 1: TGF- β 1(60), VEGF(0.2), PDGF (16), IGF-1 (110), HGF(0.6), FGF(0.016), NGF(0.075).

** Las unidades de FC estan en ng/ml.

>>> 4.2 Factores de crecimiento que interactúan con la fibrina, las células y la matriz extracelular.

Al agregar CaCl_2 , el proceso de activación de la fracción de plasma superior (F1) o inferior (F2) (Figura 4) nos permite obtener el producto terapéutico conocido como matriz de fibrina derivada de plaquetas y plasma autólogo (PRGF) en sus dos formulaciones, líquida (matriz polimerizable *in situ*), o membrana (matriz formada *in vitro* y aplicada posteriormente). Durante la producción de PRGF, la compleja estructura de la matriz de fibrina conecta varias proteínas adhesivas tales como la fibronectina (Fn), vitronectina (Vn) y trombospondina (TSP-1), y esta reacción de entrecruzamiento funcionaliza la fibrina durante la polimerización del fibrinógeno exponiendo múltiples moléculas de señalización celular y receptores. De hecho, ya sea como una membrana o como una matriz extracelular

LOS EFECTOS TERAPÉUTICOS del PRGF surgen de una acción combinatoria, sinérgica y multidireccional de sus componentes autólogos, incluidos, pero no limitados a los factores de crecimiento y las citoquinas en lugar de por un sólo efecto unidireccional.

provisional, la nanomatriz de fibrina tridimensional recién formada, atraparé primero micropartículas de plaquetas y en un modo de no difusión, se unirá a través de dominios de proteoglicanos heparán sulfato a proteínas adhesivas, tales como el fibrinógeno, Fn, Vn y TSP-1, y varios factores de crecimiento derivados del plasma y las plaquetas antes de que estos FC se unan a su receptor (Figuras 3B y 3C). Nuestro grupo de investigación llevó a cabo una caracterización de una matriz de fibrina mediante proteómica de alto rendimiento en la que se catalogó el contenido molecular de PRGF, y se observó una presencia significativa de proteínas de adhesión e implicadas en la adhesión celular, migración y en la diferenciación, incluyendo Fn, Vn, TSP-1 y una fuerte red de proteínas interconectadas vinculadas a la vía del factor nuclear- KB (NF- KB) así como la presencia del sistema proteico del complemento y sistema de contacto. De acuerdo con esto, se ha observado que la infiltración de plasma rico en plaquetas (PRP) líquido en caballos y en pacientes con artrosis de rodilla no modificaba la concentración del factor de crecimiento fibroblástico (FGF-b), HGF, PDGF-AB / BB y TGF- β 1 en el líquido sinovial, sugiriendo una absorción y unión *in vivo* de FGF-b, HGF, PDGF-AB / BB y TGF- β 1 a los dominios de proteoglicanos

de heparán sulfato de la fibrina y de la membrana sinovial, así como a proteínas de la matriz extracelular como fibrinógeno, colágeno y vitronectina. Sin embargo, algunos factores de crecimiento y citoquinas liberados por parte de las plaquetas y del plasma activado eluden los dominios del proteoglicano heparán sulfato y actúan inmediatamente como ligandos para los receptores de membrana de células endoteliales y pericitos, fibroblastos, células residentes de tejido y células madre mesenquimales, del tejido en el que se inyecta el coágulo de fibrina tridimensional (Figuras 2 y 3). De esta forma, el PRGF puede actuar como una terapia de nicho para las células madre mediante la estimulación de las actividades celulares inmediatamente después de aplicar las matrices de fibrina líquida (Figura 3C). Esto ha sido confirmado por varios estudios en fibroblastos de tendón, piel y tejido gingival de origen humano que, cultivados con sobrenadante o matrices de fibrina, sintetizan importantes cantidades de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y HGF de forma paracrina, independientemente de la baja o alta presencia de TGF- β 1, PDGF y VEGF, pero con una concentración similar de HGF y de IGF-1 (Figuras 3D y 3E).

4.3 Fibrinólisis tisular y comportamiento bifásico de las matrices de fibrina autóloga.

La biodegradación del coágulo de fibrina está mediada por una proteasa de serina, la plasmina, que se produce a través de la activación del plasminógeno. La preparación autóloga rica en factores de crecimiento (PRGF) desempeña el papel de matriz extracelular provisional, al imitar a la matriz de fibrina y a la matriz extracelular de una forma natural, ya que los HSPG interactúan con los factores de crecimiento durante la reparación del tejido, degradándose gradualmente a través de la activación de la fibrinólisis por la plasmina tisular y por las células inmunes que migrarán al coágulo, equiparando la degradación a la velocidad de reparación del tejido. Simultáneamente, la fibrinólisis de la matriz autóloga de fibrina dará lugar a la liberación de factores de crecimiento y citoquinas de forma gradual y sostenida, actuando como un depósito de morfógenos, además de atenuar los niveles supra fisiológicos de los factores de crecimiento liberados inicialmente por plaquetas y otras células residentes en el tejido dañado, como los macrófagos que se encuentran en la lesión (Figura 3F). La cinética de degradación de la fibrina es altamente compleja y está sujeta a múltiples factores que incluyen la tasa de metabolismo y la vascularización del tejido, su profundidad, la presencia de células y la concentración de fibrinógeno utilizada para producir el coágulo. Varios estudios *in vitro* han descrito que la

cinética de liberación de factores de crecimiento de los coágulos de fibrina puede durar entre una y dos semanas, dependiendo de la presencia o ausencia de células, así como de la vascularización. Varios investigadores observaron que la cinética de degradación del coágulo de fibrina se extendió aproximadamente cinco días cuando se inyectó en el gastrocnemio de ratones, mientras que cuando se implantó por vía subcutánea, la duración fue de aproximadamente 16 días. En otros estudios en los que se implantaron matrices de fibrina *in vivo* con factores de crecimiento en la médula espinal y en el nervio periférico de ratones, se observó que la fibrina se mantuvo 2 y 6 semanas después de la inyección, respectivamente. Por lo tanto, liberando factores de crecimiento, tanto de forma inmediata como de manera gradual y retardada, las matrices de fibrina autóloga se consideran como sistemas de administración biomiméticos bifásicos de factores de crecimiento (Figuras 2 y 3). Las matrices autólogas de fibrina derivadas de la sangre (ABDPS-PRGF) modulan los gradientes quimiotácticos espaciotemporales de los factores de crecimiento necesarios para inducir la supervivencia, migración, proliferación, diferenciación, maduración y la correcta orientación de las células en el tejido naciente. Se ha observado que la fibrina del PRGF, protege a los factores de crecimiento de la proteólisis para que conserven su bioactividad hasta que puedan liberarse por la degradación de las cadenas de heparan sulfato y la fibrinólisis (Figura 3F). Además, el fragmento E, un producto de degradación de la fibrina, estimula la angiogénesis uniéndose a la integrina $\alpha 5\beta 3$ e induciendo la secreción de VEGF lo que, a su vez, promueve la cicatrización de heridas.

Esta matriz de fibrina biológicamente funcionalizada es anisotrópica, sirve como vía para que la energía mecánica transite del entorno a la célula y proporciona soporte mecánico y rigidez plástica-elástica, que tiene un drástico impacto en los destinos de diversos tipos celulares, tales como el músculo y las células madre mesenquimales. Con esto, los PRPs no sólo cumplen el requisito de reparar los tejidos vinculando los eventos moleculares y celulares con síntomas clínicos como el dolor e inflamación y eventos modificadores de la estructura tisular (angiogénesis, crecimiento axonal y neurogénesis, miogénesis, osteogénesis, reepitelización de la piel y la córnea, ó la síntesis de tejido similar al cartílago), sino que también, esta matriz dinámica que se transforma de líquido a gel, confiere al tejido recién formado una nueva

propiedad emergente fundamental, como es la restitución de la función.

5. CONSIDERACIONES FINALES

Las matrices de fibrina de proteínas derivadas de plaquetas y plasma (PRGF) son productos biológicos complejos, pero bien caracterizados que combinan factores de crecimiento, células como las plaquetas y biomateriales como la fibrina, y cuyo uso terapéutico se encuentra en sus comienzos. Los efectos terapéuticos del PRGF surgen de una acción combinatoria, sinérgica y multidireccional de sus componentes autólogos, incluidos, pero no limitados a los factores de crecimiento y las citoquinas, en lugar de por un sólo efecto unidireccional. Además del desafío de caracterizar y estandarizar completamente los PRPs de una manera farmacológica clásica, la falta de una guía unificada y específica sobre cómo aplicarlos para cada patología, hace que su uso sea controvertido. Sin embargo, las inconsistencias en su preparación y aplicación no deben obstaculizar su incorporación en la ingeniería de tejidos y la medicina regenerativa. Existe amplia evidencia que indica que tienen un enorme potencial de reparación y regeneración que debería aprovecharse combinándolos con productos de ingeniería tisular. Además, podrían inspirar a la ingeniería de tejidos para diseñar nuevos elementos terapéuticos de ingeniería humana en el campo de la curación y regeneración de tejidos. ■

PARA LEER MÁS

- Burnouf T, Goubran HA, Chen TM, Ou KL, El-Ekiaby M, Radosevic M. Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine. *Blood Rev* 27(2),77-89 (2013).
- Martino MM, Briquez PS, Guc E *et al.* Growth factors engineered for super-affinity to the extracellular matrix enhance tissue healing. *Science* 343 (6173), 885-888 (2014).
- Anitua E, Nurden P, Prado R, Nurden AT, Padilla S. Autologous fibrin scaffolds: When platelet- and plasma-derived biomolecules meet fibrin. *Biomaterials* 192, 440-60 (2019).
- Anitua E, Orive G. Endogenous regenerative technology using plasma- and platelet-derived growth factors. *J Control Release* 157(3), 317-20 (2012).
- Nurden AT, Nurden P, Sanchez M, Andia I, Anitua E. Platelets and wound healing. *Front Biosci* 13, 3532-48 (2008).
- Rice JJ, Martino MM, De Laporte L, Tortelli F, Briquez PS, Hubbell JA. Engineering the regenerative microenvironment with biomaterials. *Adv Healthc Mater* 2(1), 57-71 (2013).