

Ensayo Clínico Para Determinar la Eficacia y Seguridad de la Fibrina Rica en Plaquetas en la Cirugía de Onicocriptosis mediante la Técnica del Fenol 88%.

Autor/a: Xavier Garrido Castells

Tesis doctoral UDC / 2020

Director/a: Prof. Dr. Daniel López López

Prof. Dr. César Calvo Lobo

Programa de Doctorado en Salud y Motricidad Humana



UNIVERSIDADE DA CORUÑA



D. César Calvo Lobo, Profesor Axudante Doutor, pertencente ao Departamento de Enfermaría da Universidad Complutense de Madrid, con docencia na Facultad de Enfermería, Fisioterapia y Podología e **D. Daniel López López**, Profesor Contratado Doutor, pertencente ao Departamento de Ciencias da Saúde da Universidade da Coruña, con docencia na Facultade de Enfermaría e Podoloxía.

Fan Constar que o presente proxecto de doutoramento, titulado "**Ensayo Clínico Para Determinar la Eficacia y Seguridad de la Fibrina Rica en Plaquetas en la Cirugía de Onicocriptosis mediante la Técnica del Fenol 88%**", que presenta o alumno Xavier Garrido Castells para optar ao título de Doutor/a, foi elaborada baixo a nosa dirección no programa de doutoramento Saúde e Motricidade Humana e reúne os requisitos de idoneidade e calidade científica necesarios para obter un informe FAVORABLE.

E para que así conste aos efectos da súa presentación, asinamos a presente certificación.

O/A/s Director/a/s da tese de doutoramento

Prof. Dr. César Calvo Lobo

Prof. Dr. Daniel López López

“A la meua família, i la meua companya de viatge, “por aguantar mis malos ratos y manías”, per animarme en tot moment i patir els meus constants sofocos i ansietats sense fi durant tot aquest temps que no ha estat curt... “

Per Sempre Agraït... Moltíssimes Gràcies!!!

ÍNDICE

ÍNDICE.....	4-9
FIGURAS Y TABLAS.....	10-12
1. AGRADECIMIENTOS.....	13-15
2. RESÚMENES.....	16-19
2.1. Resumen.....	17
2.2. Resumen.....	18
2.3. Abstract.....	19
3. ANATOMÍA DE LA UNIDAD FUNCIONAL UNGUEAL.....	20-30
3.1. Anatomía macroscópica de la unidad ungueal.....	22-27
3.2. Biología y fisiología de la unidad ungueal.....	27-30
4. ONICOCRIPTOSIS.....	31-45
4.1. Definición.....	32
4.2. Epidemiología.....	33
4.3. Etiopatogenia.....	33-36
4.4. Estadios de la onicocriptosis.....	37-38
4.5. Tratamientos onicocriptosis. Tratamiento quirúrgico. Técnica Fenol.....	38-40
4.5.1. Características del Fenol.....	41
4.5.2. Riesgos del Fenol.....	41
4.5.3. Efectos del Fenol.....	42

4.6. Técnica de Fenol-Alcohol.....	42-45
5. EL PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP).....	46-113
5.1. Cicatrización y factores de crecimiento intervinientes en ella.....	47-52
5.1.1. Tipos de Cicatrización de Heridas.....	48
5.1.2. Fases de la Cicatrización.....	48-49
5.1.2.1. Fase inflamatoria.....	49
5.1.2.2. Fase proliferativa.....	49-50
5.1.2.3. Fase de remodelación.....	50-52
5.1.3. Factores de Crecimiento Intervinientes – Citoquinas locales...52-54	
5.1.4. Optimización de Heridas.....	55-57
5.1.4.1. Perfusión.....	55
5.1.4.2. Infección.....	55-56
5.1.4.3. Nutrición.....	56
5.1.4.4. Esteroides.....	56-57
5.2. Fisiología de las plaquetas.....	57-58
5.3. Historia del plasma rico en plaquetas (PRP) y formas de PRP.....	59-68
5.3.1. Historia del PRP.....	59-61
5.3.2. Definición de PRP.....	62
5.3.3. Formas de Obtener PRP.....	63-65

5.3.4. Clasificación PRP.....	65-68
5.4. Composición y Aplicaciones del PRP.....	68-97
5.4.1. Factores de Crecimiento en el PRP.....	71-73
5.4.2. Aplicaciones Clínicas del PRP.....	73-97
5.4.2.1. Lesiones óseas.....	73-76
5.4.2.2. Lesiones cartilaginosas.....	77-80
5.4.2.3. Lesiones musculares.....	80-82
5.4.2.4. Lesiones tendinosas.....	83-88
5.4.2.5. Cura de heridas.....	88-97
5.5. La fibrina rica en plaquetas y leucocitos (FRPL).....	97-113
5.5.1. Concentrados de plaquetas: del PRP a la FRPL.....	97-101
5.5.2. Estudios in vitro que evalúan la FRPL.....	101-106
5.5.2.1. Efectos de la FRPL sobre el comportamiento celular de los fibroblastos en la cicatrización de heridas.....	101-102
5.5.2.2. Efectos del a FRPL sobre el comportamiento de las células endoteliales.....	102-103
5.5.2.3. Efectos de la FRPL sobre la liberación de factores de crecimiento.....	103-106
5.5.3. Estudios in vivo que evalúan los efectos de la FRPL en la regeneración de tejidos blandos y la cicatrización.....	106-110

5.5.3.1. Efectos de la FRPL sobre la cicatrización de heridas y la angiogénesis in vivo.....	107-108
5.5.3.2. Efectos de la FRPL para fines plásticos y reconstructivos en la aurícula del oído in vivo.....	108-109
5.5.3.3. Efectos de la FRPL en la reparación uretral in vivo.....	109
5.5.3.4. Efectos de la FRPL en la reparación de la isquemia miocárdica y remodelación ventricular in vivo.....	109-110
5.5.4. Estudios clínicos que evalúan los efectos de la FRPL sobre la regeneración de tejidos blandos y/o la cicatrización de heridas.....	110-113
6. JUSTIFICACIÓN ENSAYO CLÍNICO.....	114-118
7. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	119-120
8. HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN.....	121-122
9. OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	123-124
9.1. Objetivo principal.....	124
9.2. Objetivos secundarios.....	124
10. MATERIAL Y MÉTODOS.....	125
10.1. Diseño de la investigación.....	126
10.1.1. Aleatorización.....	126
10.1.2. Protocolo.....	126-131
10.1.2.1. Técnica Anestésica.....	126

10.1.2.2. Técnica de Fenol al 88%.....	127-128
10.1.2.3. Técnica de Obtención y Aplicación de FRPL.....	128-130
10.1.2.4. Procedimiento de Curas.....	131
10.1.3. Mediciones.....	131-134
10.2. Población a estudio.....	134
10.3. Criterios de inclusión.....	134
10.4. Criterios de exclusión.....	134-135
10.5. Cálculo del tamaño muestral.....	135
10.6. Análisis estadístico.....	136
10.7. Aspectos éticos.....	137-138
11. RESULTADOS.....	139-153
11.2. Evolución de un dedo control en días.....	148
11.2. Evolución de un dedo experimental en días.....	149
12. DISCUSIÓN.....	154-167
12.1. Limitaciones.....	167
12.2. Futuras líneas de investigación.....	167
13. CONCLUSIONES.....	168-169
14. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA.....	169-170
15. BIBLIOGRAFÍA.....	171-202

FIGURAS Y TABLAS

- Figura 1: Técnica de Fenol al 88% - Despegado de la lámina ungueal.
- Figura 2: Técnica de Fenol al 88%. Corte de la lámina ungueal.
- Figura 3: Técnica de Fenol al 88%. Fenolización de la matriz.
- Figura 4: Técnica de Fenol al 88%. Vendaje del dedo.
- Figura 5: Proceso de obtención y aplicación de la FRPL. Extracción Sangre.
- Figura 6: Proceso de obtención y aplicación de la FRPL. Centrifugación.
- Figura 7: Proceso de obtención y aplicación de la FRPL. Corte de la uña.
- Figura 8: Proceso de obtención y aplicación de la FRPL. Fenolización.
- Figura 9: Proceso de obtención y aplicación de la FRPL. Extracción del coagulo.
- Figura 10: Proceso de obtención y aplicación de la FRPL. Preparación del coagulo.
- Figura 11: Proceso de obtención y aplicación de la FRPL. Colocación del coagulo.
- Figura 12: Prequirúrgico grupo control.
- Figura 13: Cura 7º día grupo control.
- Figura 14: Última cura grupo control.
- Figura 15: Prequirúrgico grupo experimental.
- Figura 16: Cura 7º día grupo experimental.
- Figura 17: Última cura grupo experimental.

- Tabla 1: Normalidad de las variables estudiadas para grupo control y experimental.
- Tabla 2: Características sociodemográficas de la población de estudio, atendiendo al sexo.
- Tabla 3: Resultados de las variables cuantitativas a estudio atendiendo al tipo de tratamiento en cada grupo.
- Tabla 4: Resultados de las variables cualitativas a estudio atendiendo al tipo de tratamiento en cada grupo.

1. AGRADECIMIENTOS

En este momento de la vida donde las cosas están tan complicadas para todos, la incomprensión reina por doquier y la generosidad, empatía y solidaridad brillan por su ausencia, no puedo dejar de agradecer a todos aquellos que han hecho este proyecto posible.

En primer lugar, agradecer a mis directores de tesis Daniel López López y César Calvo Lobo por su paciencia y sus ánimos en todo momento, su dedicación y su buen hacer para conmigo y mi objetivo de realizar la tesis.

A mis precursores en este viaje, mis compañeros y amigos Ricardo Becerro y Marta Losa, por sus ánimos desde el inicio y su incansable apoyo y ayuda, sin ellos hubiese tirado la toalla en más de una ocasión, y a la introducción me remito.

No cabe duda, que mis tres pilares en la vida deben estar aquí reflejados, mi padre José Ramón, mi madre Ester, y mi compañera de viaje: Roser, cuanto habéis aguantado..., he pasado por momentos felices durante el transcurso de todo este camino, pero cuantos días de cansancio, agobio porque no llegaba a todo, cuanto mal humor y cuanta ausencia durante horas, días o noches... En definitiva, sin ellos tampoco podría haber llegado aquí, su apoyo incondicional rebasa todos los límites, han aguantado más de lo que seguramente merezco, muchísimas gracias.

También hacer mención a mi familia en general, tíos, primos, abuelo, iaia allá donde estés... que han padecido mi ausencia en las reuniones familiares, días señalados, etc... no cabe duda que me habéis comprendido perfectamente, y aunque no haya estado ahí físicamente, siempre he estado de alguna manera... igualmente gracias por vuestro apoyo...

A mis amigos, ídem de lo mismo, mis faltas, mis ausencias, mi mal humor, mis cabreos innecesarios, también agradecerles a ellos no haberme juzgado más de la cuenta... muchísimas gracias por todo y por siempre...

Y por último, pero no menos importante, mis compañeros de clínica, Noelia, Fernando, David, Elena (Clínicas Medinensis) por vuestro apoyo también incondicional, ha sido muy importante para mí que estuvierais conmigo a las buenas y a las no tan buenas... Y mis otros compañeros de Clínica Mon Salut, sin vosotros no podría haber pasado esto tampoco, gracias a todos por vuestro buen hacer y vuestra generosidad, empatía y solidaridad conmigo... muchísimas gracias...

Tota la vida es ara!!! Moltes gràcies!!!

2. RESÚMENES

2.1 Resumen

Introducción: La fibrina rica en plaquetas y leucocitos (FRPL) se considera un biomaterial que puede desempeñar un papel importante en la cura de heridas y reparación/regeneración de los tejidos. **Objetivo:** Este estudio se centró en confirmar la efectividad de la FRPL en comparación con las curas estándar con pomada de nitrofurazona sobre la hemorragia postquirúrgica, intensidad del dolor postquirúrgico, la inflamación, la infección, la ingesta de analgésicos y el período de cicatrización de la herida postquirúrgica, en pacientes con onicocriptosis bilateral tratados con matricectomías químicas con fenol al 88%. **Metodología:** Se seleccionaron 20 pacientes sanos entre 18 y 65 años con onicocriptosis bilateral ($n = 40$) y recibieron bilateralmente ambas curas, una en cada Hallux del paciente. Las intervenciones se realizaron en una clínica especializada en cirugía de pie y tobillo. Los dos tipos de curas se asignaron al azar a cada Hallux del paciente y así se establecieron 20 Hallux con curas con FRPL (grupo experimental) y 20 Hallux con curas con pomada de nitrofurazona (grupo control), de forma que cada paciente había recibido los dos tipos de cura. Los pacientes fueron cegados, de manera que no sabían que Hallux había recibido la diferente cura. **Resultados:** Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$) entre ambos grupos en la hemorragia postquirúrgica y en el periodo de cicatrización de la herida, mostrando una reducción en el sangrado y los días respectivamente con las curas con FRPL comparado con la cura con pomada de nitrofurazona. El resto de las variables no mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). **Conclusiones:** La FRPL redujo el período de cicatrización de la herida y el sangrado después de la cirugía ungueal comparada con la cura estándar. Por lo tanto, la FRPL puede considerarse un tratamiento coadyuvante de primera línea para pacientes con problemas ungueales que requieran procedimientos quirúrgicos.

2.2 Resumo

Fondo: A fibrina de leucocitos rica en plaquetas (FRPL) é considerada un biomaterial que pode desempeñar un papel importante na curación de feridas e na reparación / rexeneración de tecidos. **Obxectivo:** Deste estudo centrouse en confirmar a eficacia da FRPL en comparación con curas estándar con pomada de nitrofurazono sobre hemorraxia postquirúrxica, intensidade de dor postquirúrxico, inflamación, infección, inxestión analxésica e período de curación de a ferida postoperatoria, en pacientes con onicocriptose bilateral tratados con matricectomías químicas cun 88% de fenol.

Metodoloxía: Unha vintena de pacientes sans entre 18 e 65 anos foron seleccionados con onicocriptose bilateral (n = 40) e recibiron ambas as curas bilateralmente, unha en cada Hallux do paciente. As intervencións realizáronse nunha clínica especializada en cirurxía do pé e nocello. Os dous tipos de curas foron aleatorizados a cada Hallux do paciente e así se estableceron 20 Hallux con curas con FRPL (grupo experimental) e 20 Hallux con curas con pomada nitrofurazona (grupo control), de xeito que cada paciente recibira o Dous tipos de cura. Os pacientes estaban cegados, polo que non sabían que Hallux recibira a cura diferente. **Resultados:** atopáronse diferenzas estatisticamente significativas ($p < 0,001$) entre ambos grupos no período de curación da hemorraxia e cirúrxica da ferida postquirúrxica, mostrando unha redución da hemorraxia e dos días respectivamente cos curas con FRPL en comparación coa cura de pomada de nitrofurazono. O resto das variables non mostraron diferenzas estatisticamente significativas ($p > 0,05$).

Conclusións: o FRPL reduciu o período de curación de feridas e hemorraxias despois da cirurxía das uñas en comparación coa cura estándar. Polo tanto, FRPL pode considerarse un tratamento adxuvante de primeira liña para pacientes con problemas de uñas que precisan procedementos cirúrxicos.

2.3. Abstract

Background: Leukocyte and platelet rich fibrin (L-PRF) is considered a biomaterial that can play an important role in wound healing and tissue repair / regeneration. **Objective:** This study focused on confirming the effectiveness of (L-PRF) compared to standard cures with nitrofurazone ointment on post-surgical bleeding, intensity of post-surgical pain, inflammation, infection, analgesic intake and healing period of the postoperative wound, in patients with bilateral onychocriptosis treated with chemical matricectomies with 88% phenol. **Method:** Twenty healthy patients between 18 and 65 years of age who presented bilateral onychocriptosis (n = 40) were selected and received both cures bilaterally, one in each Hallux of the patient. The interventions were performed in a clinic specialized in foot and ankle surgery. The two types of cures were randomized to each Hallux of the patient and thus 20 Hallux were established with cures with (L-PRF) (experimental group) and 20 Hallux with cures with nitrofurazone ointment (control group), so that each patient had received the Two types of cure. The patients were blinded, so they did not know that Hallux had received the different cure. **Results:** Statistically significant differences (p <0.001) were found between both groups in the postsurgical hemorrhage and in the wound healing period, showing a reduction in bleeding and days respectively with the priests with (L-PRF) compared with the nitrofurazone ointment cure. The rest of the variables did not show statistically significant differences (p> 0.05). **Conclusions:** (L-PRF) compared to standard cures with nitrofurazone poamada in chemical matricectomies with 88% phenol reduced the period of wound healing and bleeding after nail surgery. Therefore, FRPL can be considered a first-line adjuvant treatment for patients with nail problems that require surgical procedures.

3. ANATOMÍA DE LA UNIDAD FUNCIONAL UNGUEAL

La unidad ungueal representa una parte de la integridad de la punta de los dedos, protege el aspecto dorsal de los dedos en su parte más distal, y es una herramienta muy versátil para la defensa, la habilidad digital y del conjunto corporal del ser humano. Por otro lado, las yemas de los dedos son órganos sensoriales muy importantes, y la uña mejora esta función (1).

La unidad ungueal consta de 4 componentes ectodérmicos y mesenquimatosos diferentes: la matriz, el lecho ungueal, la lámina ungueal y los pliegues ungueales; los cambios en la unidad ungueal a menudo se tratan quirúrgicamente, y un conocimiento profundo de la anatomía, la fisiología y las características es esencial para el tratamiento de la misma (1).

El desarrollo de la unidad ungueal de los dedos se puede diferenciar en la octava semana gestacional, a partir de la novena semana, la uña empieza a desarrollarse en la punta del dedo. Un conjunto de proteínas de señalización induce una densificación de la epidermis llamada “placode”. A partir de aquí, una lámina epitelial crece en dirección proximal, en la 13ª semana, se puede identificar una incipiente uña, y solo una semana después, la primera parte de la lámina ungueal es visible. La mayor parte del lecho ungueal está cubierto con una delgada lámina en la 17ª semana. La falange distal y la uña crecen juntas desde la semana 20 en adelante, y en este momento, la uña también está histológicamente diferenciada (2).

Aunque el desarrollo del cabello y las uñas tienen mucho en común, se requieren factores especiales de crecimiento y señalización para la correcta localización dorsal del órgano de la uña, y el hueso subyacente es necesario para la formación del ángulo de la uña (3).

3.1. Anatomía macroscópica de la unidad ungueal.

La unidad ungueal está compuesta por compartimentos epiteliales y de tejido conectivo que forman una unidad funcional con toda la zona distal digital o punta digital, y contiene el hueso de la falange distal, la articulación interfalángica distal con sus tendones y ligamentos, dos compartimentos de tejido adiposo en el pulpejo de los dedos, innumerables nervios, órganos nerviosos sensoriales altamente especializados y abundantes vasos sanguíneos y linfáticos (4).

La unidad ungueal se compone de: la matriz ungueal, que es la estructura responsable de producir la lámina ungueal y que está casi completamente cubierta por el pliegue ungueal proximal; el epitelio del lecho ungueal responsable de la fijación firme a la dermis del lecho ungueal; el hiponiquio, que marca el extremo distal del lecho ungueal y sella el espacio subungueal; el pliegue ungueal proximal, cuya superficie inferior es el eponiquio firmemente unido a la lámina ungueal subyacente y formando la cutícula en su extremo libre, este último sella el bolsillo de la uña; los pliegues laterales de la uña enmarcan la lámina ungueal y dan soporte; y la dermis de la matriz de la uña y el lecho que se encuentran directamente sobre el periostio del hueso, excepto en la matriz proximal donde se pueden encontrar algunas células grasas debajo de la dermis (4).

La lámina ungueal es lo que se conoce popularmente como uña, y esta es producto de la matriz, constituye aproximadamente entre un cuarto y un tercio de la longitud total de la unidad ungueal, y está oculta debajo del pliegue ungueal proximal y libre en su porción más distal, donde puede verse la lúnula blanquecina normalmente en el pulgar, índice, y dedos medios, así como el dedo gordo de los pies (5). El borde distal de la lúnula es convexo y discurre paralelo a la matriz más proximal (6).

Haneke et al. (2006) describe la matriz ungueal y se refiere a ella como una banda paralela que llega proximalmente a sus partes laterales dando lugar a los cuernos de la matriz y tiene una longitud que se correlaciona con el grosor de la lámina ungueal. La matriz proximal forma las capas más superficiales de la placa ungueal que se caracterizan por ser células aplanadas química y físicamente muy resistentes. La matriz media es responsable de la capa media de la lámina ungueal y la matriz distal produce las células de sus capas profundas las cuales son más altas en sus capas más profundas, de esta manera un daño a la matriz proximal se verá como alteraciones de la superficie de la uña, mientras que las de la matriz media y distal se encontrarán en la lámina ungueal y pueden alterar la coherencia óptica de la uña. Sobre el epitelio de la matriz refiere que consta de un compartimento basal y uno superficial. El compartimento basal consiste en células basofílicas y suprabasales basófilas relativamente pequeñas. El compartimento superficial consiste en una multitud de células eosinofílicas de las zonas prequeratógenas y queratógenas con núcleos condensados. En el momento de la onicotización, estas células pierden sus núcleos y se transforman abruptamente en onicocitos. La zona de transición entre los compartimientos basal y suprabasal es aparentemente un área débil, ya que cuando se realiza una avulsión ungueal el compartimento superficial permanece unido a la lámina ungueal (7).

La matriz contiene melanocitos que están inactivos en individuos de piel clara, y pueden activarse por traumas crónicos repetidos como fricción, fotoquimioterapia con psoralenos, drogas y toxinas, hormonas y enfermedades cutáneas, regionales y sistémicas, en personas de piel oscura, la pigmentación de las uñas es fisiológica (6).

En cuanto a los melanocitos, en las secciones histológicas de las uñas normales, la mayoría en la matriz están en posición suprabasal, y los de la matriz distal son más activos que los de la matriz proximal, en cambio los melanocitos en el lecho ungueal son aproximadamente cuatro veces menos frecuentes y generalmente permanecen inactivos (8).

La unidad ungueal tiene un sistema inmune privilegiado que la protege por un lado contra una variedad de reacciones inflamatorias, pero también debilita una serie de reacciones de defensa (9). Las células de Merkel también se encuentran en la matriz ungueal, pero los resultados son diferentes entre grupos de investigación (10,11).

El lecho ungueal es tan importante para una uña normal como la matriz; cuando la lámina está firmemente unida a ella, la lámina muestra su transparencia normal con el color rosado del lecho ungueal. El epitelio del lecho es relativamente delgado y sus células aumentan de tamaño conforme migran hacia arriba. Las células superiores son similares a las de la vaina interna del cabello y producen ortoqueratina sin una capa granular intermedia; por lo que cualquier capa granular es un signo de alteración de su maduración. La capa de queratina es muy delgada y permite que la lámina ungueal se deslice sobre el lecho sin perder su conexión con el mismo. Finalmente, en la transición al hiponiquio aparece una capa granular en el lecho ungueal distal que en la actualidad se llama istmo de las uñas (12).

El epitelio del lecho ungueal forma crestas que corren paralelas y muestran de 4 a 6 capas de capilares que se extienden longitudinalmente, uno encima del otro y cuando existe una trombosis, se forman las llamadas hemorragias en astillas(12).

El hiponiquio es la estructura especializada responsable de la separación fisiológica de la lámina ungueal del lecho ungueal, forma el surco distal y está fuertemente queratinizado, evitando que sustancias extrañas entren debajo de la lámina ungueal. La epidermis pulpar es distal al hiponiquio y muestra un patrón de piel estriada con una capa granular marcada, un estrato lúcido y una capa córnea gruesa (12).

El pliegue ungueal proximal es una porción estrecha de tejido cubierto con epidermis en sus superficies dorsales y ventrales, y no posee glándulas sebáceas ni folículos pilosos. Su margen libre forma un ángulo agudo que alberga la cutícula, esta estructura de queratina se deriva principalmente del estrato córneo de la superficie ventral, que se une a la lámina ungueal y sale con la uña en crecimiento. Es una estructura protectora importante ya que sella el bolsillo de la uña. La cutícula se pierde espontáneamente cuando el margen libre del pliegue ungueal proximal se engrosa (por ejemplo, debido a una inflamación) o cuando la uña deja de crecer por cualquier causa. Inmediatamente proximal a la cutícula, se observan capilares que corren horizontalmente y que se dice que muestran cambios característicos en una variedad de enfermedades relacionadas con el colágeno. La superficie inferior del pliegue ungueal presenta una epidermis plana sin relieve, pero con una capa granular y ortoqueratosis, se encuentra en la uña y se llama eponiquio. En lo profundo del bolsillo de la uña se encuentran las células madre de la unidad ungueal y es donde comienza la matriz proximal (12).

Los pliegues ungueales laterales son protuberancias de tejido conectivo que provienen de los aspectos laterales del pliegue ungueal proximal y se aplanan distalmente, dan soporte a la lámina ungueal y, por lo tanto, no deben sacrificarse sin motivo en el tratamiento de las uñas encarnadas. Por otro lado el perioniquio comprende todo el tejido conectivo de la unidad ungueal (13).

La dermis de la matriz y el lecho ungueal están íntimamente conectados con la falange subyacente y se llama onicodermis (14) y es responsable de la neogénesis del epitelio de la matriz y del lecho ungueal (15). Se observan algunas células grasas entre el colágeno dérmico y el hueso, su número depende en gran medida del área de corte observado y probablemente funcionan como un colchón para la matriz proximal (16).

Por otro lado, el suministro de sangre de la unidad ungueal es rico, y es aportado por las arterias digitales plantares y dorsales que se fusionan a nivel de la articulación interfalángica distal. A partir de aquí, se dividen nuevamente dando lugar a arcadas que abastecen el pliegue ungueal proximal, la matriz y el lecho ungueal. Estas arteriolas discurren alrededor de la circunferencia del hueso y están protegidos lateralmente por los ligamentos interóseos, que son estructuras únicas que se extienden a ambos lados desde el cóndilo en la base de la falange distal hasta la extensión lateral de la falange y corona unguicular. Entre estas arcadas, muchas arterias pequeñas dispuestas longitudinalmente corren paralelas y la disposición longitudinal de los capilares a lo largo de las estrías del lecho ungueal y de estas arterias son la razón por la cual las biopsias del lecho ungueal deberían, si es posible, estar siempre orientadas longitudinalmente. El drenaje venoso es mucho menos complejo y todavía faltan estudios que examinen el sistema de vasos linfáticos, pero existen cientos de cuerpos glómicos en la matriz y el lecho ungueal que sirven como órganos para la termorregulación, se componen de vasos aferentes y eferentes con una luz vascular en el medio, esta última rodeada por células glómicas ricamente inervadas con una función mioepitelial. Se cree que son el origen de los tumores glómicos y se caracterizan por una sintomatología única del dolor. Además, en muchas secciones de la matriz y el lecho ungueal, se encuentran vasos que muestran un colchón asimétrico de células de músculo liso empaquetadas pero su función no se conoce exactamente (16).

La articulación interfalángica distal es una estructura que se encuentra cerca de la matriz proximal, es una articulación que se estabiliza mediante los tendones de los músculos extensor y flexor de los dedos más los ligamentos laterales que se fusionan tanto en sentido plantar como dorsalmente para formar las aponeurosis plantares y dorsales. Las fibras del tendón extensor se dirigen hacia el pliegue ungueal proximal formando una especie de funda para la matriz (17).

La inserción de los tendones flexores y extensores no solo se encuentran en el margen proximal de la falange distal, sino que se extienden sobre el tercio proximal, de esta forma las íntimas relaciones anatómicas y funcionales de la uña con los tendones, ligamentos y articulaciones han llevado algunos autores a considerar a la uña como un apéndice musculo-esquelético (18).

El hueso de las falanges distales tiene cóndilos laterales, desde los cuales el ligamento interóseo une el espacio con las extensiones laterales de la corona unguicular. Los arcos arteriales y venosos circunferenciales que proporcionan la matriz ungueal y el lecho están protegidos de la compresión por estos ligamentos. Por otro lado, el ángulo del hueso de la falange distal es necesario para la estabilidad de la unidad ungueal, y el tamaño y la forma del hueso definirán el tamaño y la forma de la uña suprayacente (19).

3.2. Biología y fisiología de la unidad ungueal.

Aunque la lámina ungueal y el tallo del cabello son bioquímicamente idénticos, existe una profunda diferencia anatómica y fisiológica. A diferencia del cabello, el crecimiento de las uñas permanece continuo durante toda la vida y no es cíclico. La uña no depende de las hormonas, y no hay un proceso comparable a la alopecia androgenética, aunque la tasa de crecimiento de la uña disminuye proporcionalmente con la edad (20).

La uña, además, no pierde su pigmento con la edad como el cabello; en cambio, las uñas en individuos con pigmentación oscura tienden a volverse más pigmentadas y las células de la lámina ungueal aumentan de tamaño con la edad (20).

Las uñas de la manos crecen aproximadamente 3 veces más rápido que las uñas de los pies, curiosamente la uña del dedo medio de la mano dominante es la uña de más rápido crecimiento, que crece aproximadamente 0,1 mm por día o 3 a 4 mm por mes. Se puede decir que cuanto más corto es el dedo, más lenta crece la uña (1).

En el pie, la uña del dedo gordo crece aproximadamente 0,03 mm/día, que es aproximadamente 1 mm por mes, mientras que una uña de la mano tarda unos 160 días en crecer, la uña del pie puede tardar hasta 18 meses. Además, las temperaturas cálidas y la actividad física aceleran el crecimiento de las uñas; mientras que el clima frío, la gran altitud, la edad y la inactividad desaceleran el crecimiento de las uñas (1).

Por otro lado, algunos medicamentos antimicóticos azoles (es decir, itraconazol y fluconazol) y, en menor medida, los retinoides aceleran el crecimiento de las uñas, en cambio los fármacos citotóxicos conducen a un crecimiento más lento de las uñas. Queda por probar si la biotina (a menudo llamada vitamina para el cabello y las uñas), el zinc, el hierro y muchos otros elementos esenciales pueden mejorar el crecimiento y la calidad de las uñas. Para que la biotina sea efectiva en algún aspecto, es necesaria una dosis diaria de 5 a 10 mg. No está claro si el efecto se debe a su carácter vitamínico o a una acción farmacológica (1).

La estructura química de la queratina de las uñas está genéticamente regulada, por ejemplo la dieta no puede influirla, como lo demuestra la excelente calidad del cabello y las uñas en personas que provienen de las regiones más pobres del mundo. Esta consiste en fibras de queratina incrustadas en una matriz rica en azufre, por lo tanto la falta o deficiencia de aminoácidos que contienen azufre se verían primero en el cabello, que crece hasta 10 veces más rápido que las uñas (1).

Por otro lado, casi no hay prolina en la uña, que es la razón por la cual es inútil administrar colágeno para las uñas quebradizas, tampoco hay mucho calcio en la uña, y el calcio en la uña está principalmente en forma de hidroxilapatita, que se une intracelularmente a las lipoproteínas, y no aumenta la estabilidad de la lámina ungueal (21).

La uña crece lentamente y pueden depositarse muchas sustancias del medio ambiente que a menudo se pueden mostrar en la uña durante muchos meses. Las influencias alcalinas y ácidas, así como las ambientales, pueden cambiar la cantidad de enlaces disulfuro y disminuir el contenido de azufre (22). Así pues los análisis de ciertos elementos pueden dar información sobre la salud del individuo (23). Sin embargo, estos métodos no pueden distinguir entre impurezas exógenas y sustancias endógenas, al igual que los análisis del cabello, los de las uñas pueden brindar información sobre la absorción o exposición de materiales extraños y metabolitos anormales. Por ejemplo, se pueden observar concentraciones más altas de D-aminoácidos en la diabetes mellitus (24), pero también exposiciones a varios medicamentos, sustancias ilegales de dopaje, elementos esenciales, metales pesados y venenos durante muchos meses hasta un año o más (25–27). Además se puede descubrir una intoxicación por arsénico ingerido con agua potable (28).

Sin embargo, el contenido de calcio o magnesio de la uña no refleja el grado de mineralización de los huesos (29). Algunos medicamentos como los antifúngicos azólicos son queratinofílicos y se concentran en la uña durante un largo período de tiempo (30,31). Y por último el ADN de las uñas y los restos de las uñas permite la identificación de un cadáver y, a menudo, incluso de un posible agresor (32,33). Las muestras de ADN permanecen estables en el aire pero se degradan en un mes en un ambiente húmedo (34).

4. ONICOCRIPTOSIS

4.1. Definición.

El término de Onicocriptosis proviene del griego uñas ónix y kryptos ocultos, nombrado habitualmente como uña encarnada, o Unguis Incarnatus (35).

Haneke et al. (2012) refiere que la onicocriptosis es una afección común de la uña caracterizada por dolor, secreción e hinchazón del pliegue ungueal. La mayoría de los médicos llaman a esta afección uña encarnada (unguis incarnatus) ya que se cree que el crecimiento de la placa ungueal se realiza sobre el pliegue ungueal, mientras que otros insisten en que se denomine onicocriptosis porque la placa ungueal normal está incrustada en el pliegue ungueal lateral hipertrófico (36).

Por otro lado, Blatière et al. (2014) concluye que las uñas encarnadas se reducen a un conflicto entre la placa o lámina ungueal y el tejido periungueal, causando dolor, morbilidad y deterioro. Las uñas de los pies se ven más afectadas que las uñas de las manos y los tratamientos son numerosos tanto a nivel conservador como quirúrgico. En el caso de los tratamientos quirúrgicos, las técnicas tienen dos enfoques: las técnicas enfocadas a la piel periungueal y las destinadas a la placa o lámina ungueal. Entre estos últimos, la avulsión parcial de las uñas seguida de la fenolización parcial de la matriz, conocida como "Técnica de Boll o Fenol-Alcohol", sigue siendo muy apreciada y utilizada entre los clínicos (35).

4.2. Epidemiología.

La onicocriptosis es una patología común que provoca dolor, inflamación, y limitación funcional que afecta principalmente al Hallux, aunque también puede suceder en los dedos pequeños, es más frecuente en los hombres (62%) que en las mujeres (38%) y aunque en todas las edades se evidencia, la mayoría de los pacientes son adolescentes en la primera y segunda décadas de vida (37).

Levy et al. (1990) publicaba que la prevalencia conocida era de hasta 2.5 a 5% de la población de Estados Unidos (38). En otro estudio a nivel nacional en Corea del Sur de 2004 a 2013, se encontró que la incidencia general de uñas encarnadas fue de 307.5/100,000 personas por año en una distribución bimodal de la edad, es decir, la incidencia mostraba picos en los adolescentes y entre los participantes de cerca de los 50 años, la mayor incidencia se observaba en la segunda y tercera década con una relación hombre/mujer de 2/1.5 (39). En España se estima que la prevalencia se encuentra en 20 por cada 100.000 personas que acuden cada año a atención primaria (40).

4.3. Etiopatogenia.

Se han planteado varios estudios sobre la etiología de la onicocriptosis, variantes como la biomecánica de cada individuo, su higiene personal, traumatismos, factores hereditarios, morfología de la lámina ungueal, la edad, los factores adquiridos, enfermedades adyacentes como la diabetes, la obesidad, etc... son unos de los más comunes factores etiológicos de la onicocriptosis (35,41–46).

En este sentido Cologlu et al. (2005) plantearon una clasificación acerca de los factores etiológicos que producen la onicocriptosis de forma simple, y para ello establecieron tres grupos observando las características del pie y de los dedos, características relacionadas con el paciente y factores externos (47).

1. **Factores relacionados con el dedo y los pies:** Hallux valgus, Hallux rígido, metatarsalgia, sesamoiditis, pie griego y pie cuadrado, anomalías en la forma de la lámina ungueal, hipertrofia del pliegue ungueal, incremento del grosor de la lámina ungueal, Incremento de la anchura de la cabeza de la falange.
2. **Hereditarios:** Diabetes, hiperhidrosis, neoformación subungueal, obesidad.
3. **Factores externos:** Corte incorrecto de las uñas, mala elección de zapatos, mala higiene del pie y traumatismos.

Por otro lado, y atendiendo la apariencia de la unidad ungueal el Colegio Americano de Cirujanos del Pie desarrolló una catalogación de la morfología ungueal con las siguientes clases (48):

1. **Morfología ungueal normal:** Lámina ungueal firme y rígida siendo el eje longitudinal mayor que el transversal y con una curvatura gradual en el plano frontal. No existe hipertrofia de los tejidos blandos.
2. **Morfología ungueal congénita tipo I:** Lámina flexible y delgada y con presencia de inflamación periungueal. Habitualmente es propensa a tratamientos conservadores.
3. **Morfología ungueal congénita tipo II:** Lámina delgada y curvada. Existe hipertrofia de tejidos blandos y una superposición de la piel en el extremo distal de la uña.

4. **Morfología ungueal adquirida tipo I:** Lámina normal con supuración en los surcos ungueales, secundaria a traumatismos que producen que la lámina se enquistó en la piel. La mayoría de las veces es alterable a tratamientos conservadores.
5. **Morfología adquirida tipo II:** Lámina angulada a 90° a nivel del surco ungueal en el plano frontal, realizando presión máxima sobre los pliegues. Es imprescindible un procedimiento quirúrgico con matricectomía para su resolución.
6. **Morfología adquirida tipo III:** Onicocriptosis secundaria a hipertrofia de los pliegues ungueales con sobreposición sobre la lámina ungueal. El tratamiento necesariamente tiene que ir acompañado de matricectomía y resección del tejido hipertrofiado.
7. **Morfología adquirida tipo IV:** Lámina desmesuradamente incurvada en el plano frontal que es acompañada habitualmente de patología ósea subyacente. Es designada como uña en pinza o en tenaza. Necesita tratamiento quirúrgico con matricectomía y exostectomía.

En la década de los 80, Langford et al. (1989) describió los factores de riesgo de la onicocriptosis refiriendo que esta patología afecta los pliegues ungueales medial y lateral de las uñas del dedo gordo del pie en mayor medida, el calzado apretado provoca una compresión extrínseca que hace que las espículas de las uñas perforan el pliegue ungueal y en individuos mayores, las uñas gruesas y el cuidado deficiente de las uñas causan más presión sobre el pliegue de la uña que conduce a esta afección, además la anatomía es importante existiendo una relación entre anchura de la uña y pliegue ungueal más grueso, rotación medial del dedo y aumento de la curvatura (uñas en pinza), y una disminución del grosor de la uña con los laterales de las uñas, siendo posibles factores de riesgo (49).

También refirió que un corte inadecuado de las uñas de los pies, es decir, demasiado cortas o redondeadas, también predisponen a la onicocriptosis y esto conducía a un enclavamiento en los bordes laterales de la uña, causando inflamación y necrosis por presión (49).

En otro estudio en 1997, se afirmaba que una mala alineación congénita de la uña también puede conducir a la onicocriptosis, aunque en realidad es muy rara la causa de las uñas encarnadas, sin embargo, se había observado una predisposición genética en algunos casos familiares (50).

En 2009 Heidelbaugh et al., refería que varias comorbilidades, como diabetes, obesidad, enfermedades cardíacas y renales, se han asociado indirectamente con mayores tasas de uñas encarnadas, particularmente en pacientes de edad avanzada debido a la hinchazón de las extremidades inferiores, son enfermedades que causan una presión excesiva sobre el aparato ungueal (51).

También en varios estudios se afirma que ciertos medicamentos, como indinavir y ritonavir (52), docetaxel (53), ciclosporina (54), isotretinoína (55), y antifúngicos orales (56), también se han implicado en las uñas encarnadas. Los antifúngicos orales pueden causar uñas encarnadas, ya que pueden normalizar el ancho de la uña distalmente, lo que causa el enclavamiento de las esquinas en los pliegues laterales distales de las uñas que se habían estrechado debido a la contracción transversal del lecho ungueal distal (56).

Por último, Rauch et al. (2014), concluyen y demuestran mediante formulaciones físicas y matemáticas que la curvatura de la uña se ve afectada por las diferentes condiciones y evoluciones normales de la vida de las personas y que estas se tienen que tener en cuenta, siendo uno de los factores más importantes de onicocriptosis, esta misma curvatura ungueal respecto al dedo en cada etapa de la vida (57).

4.4. Estadios de la Onicocriptosis

A lo largo de los años de los años se han realizado varias las clasificaciones para determinar en qué periodo se encuentra la onicocriptosis, Heifetz (1937) plantea tres estadios, en la que ordena la clasificación según la gravedad de los signos y síntomas (45). Posteriormente, Mozena et al. (2002) realizan una puntualización y adaptación de la citada clasificación, llegando incluso a relacionar el estadio con el tratamiento que se valora más apropiado en cada uno de ellos, y conociendo el grado de profundidad del canal ungueal en su fragmento central decreta que existe una correlación entre la severidad del cuadro y la profundidad del surco (58).

Esta clasificación vuelve a ser revisada y rectificada por Martínez-Nova et al. (2007) que incluye otro estadio y queda clasificado de la siguiente forma (37):

- **Estadio I** o inflamatorio: En esta fase encontraremos principalmente la existencia de dolor a la presión sobre el rodete lateral, edema leve y eritema. El pliegue no sobrepasa los límites de la lámina. Aunque en principio se aconseja el tratamiento conservador, en el caso de tener recidivas se debe contemplar la cirugía.
- **Estadio II** o de absceso: Conformado por dos estadios:
 - **Estadio IIa:** Aumenta el dolor. No se puede descartar en este estadio que exista presencia de infección en algún caso, podremos encontrar también eritema, hiperestesia, edema, e incluso drenaje seroso. El pliegue sobrepasa la lámina pero menos de 3 milímetros.
 - **Estadio IIb:** En esta fase el tratamiento que se va a establecer es la cirugía. La diferencia respecto el estadio anterior es que el pliegue es sobrepasa el límite de la lámina más de 3 milímetros.

- **Estadío III:** En esta fase existirá un aumento de los síntomas anteriores, observándose que la lámina se encuentra ampliamente cubierta por tejido de granulación y existe hipertrofia crónica del pliegue ungueal, aconsejándose el tratamiento quirúrgico dirigido a la matricectomía y la reducción de la hipertrofia.
- **Estadío IV:** La evolución de la fase IV desemboca en este estadio. Se caracteriza por presentar una degeneración grave de la lámina ungueal y que perdura en el tiempo, además presenta mamelones periungueales, y la uña se deforma gravemente y de forma permanente, tanto en la zona de los rodets periungueales como en el rodete distal. En estos dos últimos estadios el tratamiento idóneo es quirúrgico.

4.5 Tratamientos onicocriptosis: Tratamiento quirúrgico: Técnica de Fenol.

Martínez-Nova et al. (2006) refiere que cuando la onicocriptosis se localiza en alguno de estos dos estadios (I, IIa) el empleo del tratamiento conservador se sopesa como un tratamiento de primera elección para aminorar el proceso doloroso (59).

Hay posibilidad de aplicar tratamientos paliativos tales como:

- La extirpación de la parte de la lámina ungueal que origina la onicocriptosis.
- En los estadios IIb y III, se puede suministrar agua de burow para que actúe como antiinflamatorio, rebajando la inflamación de los rodets.
- En estadios IIb y III puede acompañarse el agua de burow con alumbre calcinado con el fin de aumentar el efecto sinérgicamente y de esta forma secar y reducir el rodete hipertrófico.

- La obstrucción con gasa aplicando una mecha con gasa entre el canal ungueal y la lámina ungueal, impidiendo así el contacto entre la lámina ungueal y el pliegue ungueal.
- La ortonixia metálica de hilo de acero inoxidable que se aplica en la lámina para decrecer la curvatura y así normalizar el borde ungueal.
- La ortonixia plástica que se coloca horizontalmente y adherida a la superficie de la lámina con el objetivo de modificar la trayectoria de la misma.

Otra opción para la onicocriptosis es la quirúrgica, que según Martínez-Nova et al. (2006) se realizará en los siguientes casos (59):

- Atendiendo a la morfología de la unidad ungueal.
- Cuando se presente infección de forma habitual.
- Casos donde la onicocriptosis es recurrente.
- Estado vascular.
- Si existe presencia de enfermedad sistémica con riesgo potencial.
- Cuando exista dolor e incapacidad funcional.
- Cuando el paciente de su conformidad.
- En casos donde los tratamientos conservadores hayan fracasado.
- Yatrogenias o recidivas quirúrgicas.
- Si existe una distrofia que cursa con dolor de la lámina ungueal.
- Teniendo en cuenta el nivel de actividad u ocupación del paciente.
- En casos donde la onicocriptosis es recurrente.
- Edad del paciente.

Los tratamientos de cirugía que más se utilizan hoy en día promueven una solución al problema de forma definitiva y normalmente se acompaña de la exéresis parcial de la matriz ungueal, conservando parte de la uña, y así preservando la estética y funcionalidad del dedo afectado, o la eliminación total de la matriz con pérdida de la lámina ungueal definitiva de forma definitiva (37).

La elección de las distintas técnicas la determinan factores tales como la morfología ungueal, la presencia o no de infección tras haber practicado un tratamiento conservador, y las finalidades que buscamos con el tratamiento quirúrgico, y las características que podemos considerar en la técnica ideal, son las siguientes (37):

- Corregir deformidades estructurales de la lámina ungueal.
- Contribuir a la funcionalidad de la unidad ungueal.
- Recuperar la geometría y fisiología normales de los rodetes ungueales.
- Eliminar o aliviar la sintomatología dolorosa.
- Devolver al paciente a su rutina diaria en el menor tiempo posible.
- Disminuir el periodo de recurrencias.
- Aumentar la satisfacción estética.

En este aspecto, la técnica del fenol-alcohol es una de las técnicas de elección para cumplir estos requisitos (35).

4.5.1. Características del fenol

El fenol es utilizado por vez primera para su uso médico en el año 1867 por cirujano británico Joseph Lister, que lo utilizó para la esterilización de heridas, instrumental y vendajes, los fenoles son derivados hidroxilados de los hidrocarburos en los que los grupos hidroxilo están unidos directamente a un núcleo aromático, C_6H_5OH es la fórmula del denominado fenol, y debe almacenarse en un envase que no reciba luz, pues es un cristal incoloro que es inactivado por el aire, la luz, el alcohol y por la sangre. El fenol cuando se combina con el alcohol genera un proceso de oxidación suave, el fenol es parcialmente soluble a temperatura ambiente (60).

4.5.2. Riesgos del fenol

En el momento que se aplica el fenol sobre la piel genera una quemadura química produciendo una absorción de agua, destrucción de la estructura química y coagulación de proteínas (60).

Presenta la particularidad de ser lipófilo e hidrófilo, también su solubilidad es alta en solventes de carácter orgánico y no polar, como por ejemplo el alcohol generando como consecuencia el que sea utilizado como medio eficaz para tratar las quemaduras en la piel que genera el fenol, es decir neutralizando su efecto (61).

4.5.3. Efectos del fenol

El fenol tiene 4 efectos que son los que nos interesan en esta técnica del fenol-alcohol (62):

- Posee acción cáustica
- Actúa contra microorganismos mediante acción germicida
- Actúa como anestésico local
- Posee acción antipruriginosa

4.6 Técnica de Fenol-Alcohol

El uso de la matricectomía química para las uñas encarnadas es uno de los procedimientos quirúrgicos más comunes realizados en el pie. El procedimiento fue descrito por primera vez por Otto Boll, dicha técnica muestra un elevado número de éxitos concretamente en un 98% frente a una tasa de morbilidad baja. Boll planteó el uso del fenol para corregir las uñas encarnadas y en 1945 describió una ablación química con fenol, realizando un curetaje de la matriz y su posterior fenolización aplicando fenol puro mediante un cuentagotas durante 30 segundos y posteriormente para neutralizar el fenol realizaba un lavado con alcohol (63).

Desde entonces hasta hoy en los siguientes años han sido descritas muchas variaciones de la técnica y el método.

En 1953 Gottlieb describe la avulsión completa de la lámina ungueal, haciendo hincapié en eliminar todo el tejido necrótico, a continuación cauterizaba la zona germinativa mediante dos aplicaciones de 30 segundos de fenol seguidas de dos aplicaciones de alcohol para neutralizarlo (64).

Nyman en el año 1956 introduce una modificación consistente en el uso de dos aplicaciones directas de fenol de 30 segundos la primera y 40 segundos la segunda ejerciendo presión y las intercaló con un lavado de alcohol entre las aplicaciones, Nyman observó que el fenol actuaba precipitando a las proteínas debido al cambio del solvente y no por una combinación química con las sustancias protoplasmáticas. Esta afirmación fue incorrecta pues se demostró con posterioridad que la acción química está limitada por la destrucción celular, no por causa de un cambio de disolvente (65).

Suppan y Ritchlin realizan en el 1962 un estudio sobre 132 pacientes y 240 procedimientos en el que aplican fenol al 88% realizando 1 aplicación de fenol durante 2 minutos y otra aplicación de fenol de 3 minutos intercalando una aplicación de alcohol entre las anteriores obteniendo éxito en un porcentaje del 98.7% (66).

En el año 1964 Greene recomendó que no se aplicase alcohol seguidamente a la aplicación del fenol pues la aplicación de alcohol no producía la neutralización del fenol sino que lo diluía, proponiendo la aplicación de fenol durante 2 minutos retirando el exceso de fenol con una gasa seca y aplicando una pomada en la misma cavidad producida. En este caso no hubieron estadísticas sobre el estudio (67).

En 1965, Cooper comparó los métodos de Boll, Nyman, Suppan, Ritchlin, y Greene. En esta ocasión dijo que en el postoperatorio el lavado de alcohol fue doloroso para los pacientes (68).

Entre 1965 y 1969, Dagnall sugirió no utilizar un tiempo establecido para la aplicación del fenol dejando que la aplicación dependiese de los cambios en el tejido de la matriz, indicando que era mejor sobre tratar la matriz que infra-tratarla (69).

En el año 1978, McGlamry escribió una serie de artículos de revisión de la matricectomía química del fenol y se centró en la extracción de la lámina ungueal y en el adelgazamiento de la lámina ungueal antes de su eliminación. Él indicó que el fenol debe ser adecuadamente almacenado para evitar la contaminación, pero no hizo ningún comentario en el método o la duración del tiempo de aplicación del fenol (70).

Un año después, Greenwald y Robbins plantean que el fenol no es neutralizado con el alcohol, pero si sería soluble en alcohol isopropílico a la temperatura del medio ambiente. El fenol no se neutraliza por el alcohol, pero es parcialmente soluble en alcohol en alcohol isopropílico a temperatura ambiente. Plantean que el uso del alcohol es para diluir el fenol (71).

En el año 2002 Boberg et al, realizan un estudio donde proponen que el tiempo de aplicación del fenol debe ser de 1 minuto y la concentración del fenol del 89% ya que tras un análisis se comprueba que si estos parámetros se superan se produciría necrosis en el epitelio (72).

En la actualidad, la literatura médica coincide mayoritariamente en recomendar la matricectomía química con fenol antes que matricectomías incisionales, los estudios realizados para comprobar la eficacia del uso de la técnica del fenol, como por ejemplo, Bostanci et al. (2001) en un estudio con 172 pacientes con una media de 25 años de edad, obtuvo unos resultados con un porcentaje de éxito del 98'8% aplicando la técnica del fenol al 88%, siendo solo 2 los casos de recidiva (73). Y Islam et al. (2005), en un estudio practicado sobre 100 niños con 142 intervenciones y comparando las técnicas de winograd, reducción plástica, lapidus y fenol-alcohol, comprueba que el índice de recurrencias disminuye con el uso del fenol (74).

Finalmente, Becerro de Bengoa et al. (2012) realizaron un estudio para determinar el tiempo de aplicación con fenol en un porcentaje del 88% para conseguir la desnaturalización completa de la matriz, es decir identificar el tiempo óptimo requerido para destruir la matriz germinal sin por ello causar daño a los tejidos blandos (75). Para llevar a cabo la realización de este estudio, se tomaron treinta dedos de cadáveres para la realización de la técnica del fenol al 88%, las aplicaciones fueron de 1 a 6 minutos utilizando 10 laterales por cada minuto de tiempo y se analizaron por tinción con hematoxilina-eosina para determinar la presencia o la eliminación de la capa basal o germinal del lecho de la uña, obteniendo los siguientes resultados:

Después de una aplicación de 1 minuto de solución de fenol al 88%, se observó solamente un daño superficial del lecho, con la capa basal principalmente intacta. Después de una aplicación de 2 minutos, observó una delgada capa basal. Con una aplicación de 3 minutos, se apreció necrosis de todo el espesor del lecho ungueal concretamente se apreció en 6 de los 10 sujetos. Después de las aplicaciones de 4, 5, y 6 minutos, se pudo observar la necrosis de todo el espesor del lecho ungueal quedando la capa basal destruida por completo en las 30 muestras. Por lo que se concluye que la aplicación del fenol al 88% debe de ser de 4 minutos para asegurar que se obtenga una destrucción completa de la matriz ungueal (75).

En dos estudios actuales se establece como cura estándar para la cicatrización postquirúrgica del tejido en el tratamiento en cirugías por onicocriptosis es la nitrofurazona en pomada (76,77).

5. EL PLASMA RICO EN PLAQUETAS

5.1. Cicatrización y factores de crecimiento intervinientes en ella.

Los factores de crecimiento se conocen desde que en 1956 Cohen y Levi-Montalcini, después de extraer el veneno de las serpientes, aislaron factores que podrían estimular el crecimiento de la fibra nerviosa (78). Este estudio junto con la descripción de los factores de crecimiento epidérmico por Cohen et al. (1962), se consideran los antecedentes pioneros para el desarrollo de los tratamientos con factores de crecimiento (79). Sin embargo, fue en 1982 cuando los factores de crecimiento derivados de las plaquetas se describieron de forma detallada (80,81).

Se han hecho muchos avances en el estudio y comprensión de los procesos de cicatrización de heridas. Se han determinado los tipos de células y el orden en que aparecen en la herida; y la mayor parte de los factores de crecimiento y sus funciones se aclarado (82). A pesar de los avances en el estudio y entendimiento de la cicatrización de heridas, todavía no se han descubierto y aclarado muchos pasos. El límite en este campo se encuentra en la prevención de la formación de cicatrices hipertróficas y queloides, y en la visualización y/o estética de cualquier remanente de la herida (82).

Cualquier herida creada por un bisturí, una lesión por una bala o una necrosis tisular causada por un infarto de miocardio se someten a un proceso de cicatrización/reparación similar y predecible. Comprender cómo el cuerpo repara el tejido dañado y qué factores influyen en el proceso de cicatrización de la herida puede capacitar al sanitario a asegurar un resultado mejorado de la cirugía. Y aunque aparentemente el proceso es básico, los avances han permitido que la medicina moderna obtenga una apreciación más real de la compleja interacción entre las células intervinientes en las fases de la cicatrización de heridas.

A medida que se sepa más y se adquiera una mayor comprensión de los factores de crecimiento involucrados en la cicatrización, puede que en un futuro se pueda incluir la cicatrización de heridas sin cicatrices y el trasplante de tejidos u órganos producidos a partir de células madre progenitoras (82).

5.1.1. Tipos de Cicatrización de Heridas (83).

Las 3 categorías de cicatrización de heridas son: primera intención, segunda intención y tercera intención:

La curación primaria implica el cierre de una herida a las pocas horas de su creación. La curación por segunda intención no implica el cierre directo de la herida; sino que esta se aproxima espontáneamente por contracción y reepitelización. El cierre terciario de una herida, también conocido como cierre primario retrasado, incluye el desbridamiento inicial de la herida durante un largo período y después el cierre directo con sutura o con otro procedimiento de aproximación.

5.1.2. Fases de Cicatrización de Heridas (83).

El conocimiento de las fases de cicatrización permite a los profesionales de la sanidad aconsejar a los pacientes con más efectividad y tratar las heridas de una manera más adecuada. Una herida común, después de un cierre primario, puede tardar alrededor o un periodo mayor a un año en remodelarse completamente; la apariencia de la cicatriz puede cambiar drásticamente durante este tiempo. Por lo tanto, todas las heridas se deben revisar cuando al menos tengan 1 año de proceso de cicatrización antes de considerar cualquier otro tratamiento sobre ellas.

El proceso de cicatrización de heridas tiene 3 fases. La fase inflamatoria, la fase proliferativa y la fase de remodelación.

En la fase inflamatoria prevalece la hemostasia e inflamación. La exposición del colágeno durante la formación de la herida pone en marcha la cascada de la coagulación, tanto de la vía intrínseca como de la extrínseca, desembocando en la fase inflamatoria. Después de producirse una lesión en un tejido, las membranas celulares lesionadas por la aparición de la herida, liberan tromboxano A₂ y prostaglandina 2-alfa, que son vasoconstrictores potentes que en su acción inicial ayuda a disminuir la hemorragia. Después de poco tiempo, se activa la vasodilatación capilar secundariamente a la liberación local de histamina, y las células inflamatorias pueden migrar al lugar de la herida. La cantidad de tiempo para la migración celular en el proceso de curación de heridas es predecible.

5.1.2.1. Fase inflamatoria

La fase inflamatoria empieza en el mismo momento de la lesión y perdura de 2 a 4 días. La fase empieza con la hemostasia y la formación de un tapón de plaquetas. Las plaquetas liberan el factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP) y el factor de crecimiento transformante beta (FCT- β) desde sus gránulos α para atraer a los neutrófilos y los macrófagos. Los neutrófilos señalan bacterias y desechos extraños. Los macrófagos las células mediadoras más importantes en la curación de heridas, emitiendo factores de crecimiento para atraer a fibroblastos y marcar el inicio de la siguiente fase de cicatrización(83).

5.1.2.2. Fase proliferativa

La fase proliferativa empieza aproximadamente al tercer día; se solapa con la fase inflamatoria. La célula más importante es el fibroblasto, célula que alcanza su pico máximo aproximadamente en el séptimo día de la lesión y se caracteriza por iniciar la angiogénesis, la epitelización y la formación de colágeno.

La epitelización surge de la membrana basal siempre y cuando esta permanezca intacta; Por ejemplo, en una quemadura de primer grado, si la membrana basal no está intacta, la epitelización surge desde los bordes de la herida. Los fibroblastos en esta fase son los que producen principalmente colágeno tipo III.

El tejido de granulación, conformado en esta fase, es el proceso más importante en la cicatrización de heridas por segunda intención.

Cuando la síntesis y la desestructuración del colágeno se equiparan, da inicio a la siguiente fase de curación.

5.1.2.3. Fase de remodelación

En esta fase el aumento de la producción de colágeno y la desestructuración del mismo continúan a lo largo de 6 meses a 1 año después de producirse la lesión. El colágeno tipo III del inicio se reemplaza por colágeno tipo I hasta que se alcanza una relación tipo I/tipo II de 4/1, que es igual al de la piel normal.

Además, los fibroblastos se transforman en miofibroblastos, causando la contracción del tejido durante esta fase. El colágeno se reorienta a lo largo de las líneas de tensión y reticulaciones, lo que le da una resistencia mayor. Finalmente la resistencia del tejido no lesionado se acerca al 80%, la vascularización disminuye y se convierte en una herida menos hiperémica y más estética a medida que avanza la fase.

El tiempo de curación de las heridas puede ser bastante variable. Las heridas crónicas pueden pararse en la fase inflamatoria debido a una mala perfusión, mala nutrición o una conjunción de otros factores que causen una acumulación excesiva de desechos o exudados en la zona de la herida.

Estas heridas tienden a permanecer sin cicatrizar a menos que se empleen nuevos medios de tratamiento más activos y/o agresivos para corregir los componentes perpetuantes subyacentes y proporcionar un mejor cuidado de las heridas.

La curación también puede verse exagerada cuando se forman cicatrices queloides e hipertróficas. La formación de colágeno tipo III en exceso en la fase proliferativa provoca un crecimiento aumentado del tejido cicatricial siendo la etiología multifactorial. Por ejemplo, las personas con piel oscura o pigmentada son genéticamente propensas a la formación de queloides y ciertas áreas del cuerpo, como el esternón o el hombro, son más susceptibles de crear cicatrices hipertróficas.

Además Ferguson et al. (2004) refieren que las fases de cicatrización también pueden atenuarse, como en un feto, donde la fase inflamatoria está disminuida y cicatriza sin evidencia visual de cicatrices (84).

Los estudios que han evaluado la curación de heridas en el feto han referido un nivel más alto de FCT- β 3, este factor en adultos se sugiere que es antagonista a los efectos de FCT- β 2 y FCT- β 1 que se encuentran aumentados en queloides y cicatrices hipertróficas. Por lo tanto, una mayor comprensión de los factores de crecimiento en la curación del feto puede desarrollar una nueva terapia para la cicatrización de heridas sin signos visuales de cicatriz y al tratamiento directo sobre cicatrices queloides e hipertróficas. Los ensayos en humanos se encuentran en curso (84).

Los tipos y ubicaciones de colágeno son los siguientes (84):

- Tipo I: ubicado en todo el tejido conectivo, excepto el cartílago hialino y las membranas basales.
- Tipo II: ubicado en el cartílago hialino.
- Tipo III: ubicado en tejido conectivo distensible (vasos sanguíneos).
- Tipo IV: ubicado en las membranas basales.
- Tipo V: ubicado en todos los tejidos.
- Tipo VI: ubicado en todos los tejidos.
- Tipo VII: ubicado en la unión dermoepidérmica.
- Tipo VIII: ubicado en la membrana Descemet.
- Tipo IX: ubicado en el cartílago hialino.
- Tipo X: ubicado en el cartílago hipertrófico y el cartílago hialino.

5.1.3 Factores de Crecimiento Intervinientes - Citoquinas locales.

Los factores de crecimiento emprenden la señalización intercelular que organiza la secuencia compleja de migración celular, división, diferenciación y expresión de proteínas durante la cicatrización de heridas. Las ocho familias principales de factores de crecimiento se enumeran en diferentes niveles a partir de las células intervinientes en la curación(84):

1. Factor de crecimiento epidérmico (FCE), cuya formación se origina en Plaquetas y Macrófagos teniendo como efecto conocido la estimulación de los fibroblastos para la secreción de colagenasa y degradación de la matriz durante la fase de remodelación. Estimula la proliferación de queratinocitos y fibroblastos. Puede reducir el tiempo de cicatrización cuando se aplica de forma tópica.

2. Factor de crecimiento transformante (FCT), cuya formación se origina en Plaquetas, Linfocitos, Macrófagos y Hepatocitos teniendo como efectos conocidos los siguientes según la siguiente clasificación:
 - FCT- α : mitogénico y quimiotáctico para queratinocitos y fibroblastos.
 - FCT- β 1 y FCT- β 2: promueve la angiogénesis, regula la producción de colágeno e inhibe la degradación, promueve la quimioatracción de las células inflamatorias.
 - FCT- β 3 (antagonista de FCT- β 1 y β 2): se ha encontrado en niveles altos en la cicatrización fetal sin evidencia visual de cicatriz y ha promovido la cicatrización sin evidencia cicatrizal en adultos cuando se ha suprimido el FCT- β 1 y FCT- β 2.
3. Factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV), cuya producción se origina en Células Endoteliales y promueve la angiogénesis durante la hipoxia tisular.
4. Factor de crecimiento de fibroblastos (FCF), cuya producción se origina en Macrófagos, Mastocitos y Linfocitos teniendo como efecto conocido la promoción de la angiogénesis, la granulación y la epitelización mediante la migración de células endoteliales, fibroblastos y queratinocitos, respectivamente.
5. Factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), cuya producción se origina en Plaquetas, Macrófagos y Células Endoteliales teniendo como efecto conocido la atracción de macrófagos y fibroblastos a la zona de la lesión. Promueve la síntesis de colágeno y proteoglicanos.

6. Interleuquinas (IL), cuya producción se origina en Macrófagos, Queratinocitos, Células Endoteliales, Linfocitos, Fibroblastos, Osteoblastos, Basófilos y Mastocitos teniendo como efectos conocidos según se refleja en la siguiente clasificación:
 - IL-1: Proinflamatorio, quimiotáctico para neutrófilos, fibroblastos y queratinocitos. Activa neutrófilos
 - IL-4: activa la diferenciación de fibroblastos. Induce colágeno y síntesis de proteoglicanos.
 - IL-8: Quimiotáctico para neutrófilos y fibroblastos.
7. Factores estimuladores de colonias (FEC), cuya producción se origina en Células Estromales, Fibroblastos, Células Endoteliales y Linfocitos teniendo como efectos conocidos determinados según la siguiente clasificación:
 - Factor estimulante de colonias de granulocitos (FECG): estimula la proliferación de granulocitos.
 - Factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos (FECMG): estimula la proliferación de granulocitos y macrófagos.
8. Factor de crecimiento de queratinocitos, cuya producción se origina en los Fibroblastos y tiene como efectos conocidos la estimulación de la migración, diferenciación y proliferación de queratinocitos.

5.1.4. Optimización de heridas

Crear las condiciones ideales para una curación adecuada de la herida puede marcar la diferencia, desde una herida invisible posterior a una cirugía plástica hasta una amputación o incluso la muerte en un paciente con quemaduras o una enfermedad vascular grave. De esta manera, la siguiente lista puede guiar el proceso de pensamiento del médico o podólogo para optimizar las condiciones de curación(85).

5.1.4.1. Perfusión (85): los tejidos no pueden curarse sin la existencia en el lugar de las células, el oxígeno y los nutrientes que proporciona el sistema cardiovascular. Esto es particularmente importante en la curación de heridas de pacientes con diabetes, paraplejia, fumadores y pacientes que han estado expuestos a la radiación. Los pacientes con enfermedad vascular grave pueden presentar una mejor cicatrización de heridas mediante una mayor perfusión después de un bypass vascular o un procedimiento similar. Los pacientes fumadores deben dejar de fumar inmediatamente en caso de cirugía mayor o lesión, la nicotina produce vasoconstricción severa, y las toxinas en el humo del mismo pueden disminuir en gran medida la capacidad reparadora de los tejidos. Los pacientes parapléjicos y diabéticos con neuropatía deberán abstenerse de todo tipo de sustancias y deben recibir educación sanitaria y reforzar la comprensión de la necesidad de disminuir la presión para reducir las úlceras por presión. En caso descubrir un dolor por presión, la retirada absoluta del estímulo de la presión es prioritario para aumentar la perfusión.

5.1.4.2. Infección (85): La infección se establece cuando el recuento bacterianos se cuantifica sobre 10^5 unidades formadoras de colonias por gramo de tejido. Las heridas infectadas no cicatrizan debido a la disminución de la epitelización y al aumento de la desestructuración del colágeno.

Estas heridas deben librarse de la infección adecuadamente mediante drenajes, desbridamiento y administración de antibióticos adecuados.

5.1.4.3. Nutrición (86): Cuando se evalúa el estado nutricional del paciente, ciertos marcadores nutricionales en suero pueden ser útiles.

La albúmina es un buen marcador del estado nutricional general durante el último mes; de forma ideal, debe tener al menos 3,5 g/dL para optimizar la cicatrización de heridas. La pre-albúmina ofrece una idea del estado nutricional más reciente y debe mantenerse por encima de 17 g/dL.

Las necesidades calóricas del paciente con una lesión grave pueden superar los 35 kcal/kg/día y 0,8-2g/kg/día de proteína y deben analizarse y ajustarse de forma continuada de acuerdo con la etapa de curación y tipo de lesión. Esto es particularmente importante en los pacientes quemados que requieren desbridamientos múltiples e injertos.

No se ha demostrado que la suplementación vitamínica aumente la cicatrización de heridas a no ser que exista una deficiencia específica, en este caso la vitamina A es una excepción a esta regla, siendo importante mantener los niveles de la misma de una forma adecuada (87).

5.1.4.4. Esteroides (83): Los corticosteroides pueden disminuir la respuesta de los macrófagos, la célula más importante en la cicatrización de heridas. La vitamina A, el factor de crecimiento similar a la insulina (FCI) y la oxandrolona (esteroide anabólico) pueden administrarse para revertir los efectos de los corticosteroides en el proceso de la cicatrización de heridas.

En este momento, las citocinas tienen un papel limitado en la práctica clínica. El único fármaco actualmente disponible que ha demostrado ser eficaz en los estudios clínicos es el factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP) disponible como FCDP-BB humano recombinante. En múltiples estudios, se ha demostrado que el FCDP-BB humano recombinante reduce el tiempo de curación y mejora la cicatrización completa de heridas en las úlceras en estadio III y IV. Muchas otras citocinas actualmente en estudio *in vitro* evalúan el factor de crecimiento transformante beta (FCT- β) , factor de crecimiento epidérmico (FCE) y factor de crecimiento similar a la insulina (FCI-1) (88).

En la cicatrización de las heridas se necesita una interacción compleja de células y citocinas trabajando en conjunto. En los últimos años, se han identificado más mediadores químicos intervinientes en este proceso. La secuenciación de los pasos y los procesos más específicos aún no se han determinado completamente. A pesar de esto, al examinar una lesión, debemos identificar los pasos principales y conocer los mediadores importantes conocidos (88).

5.2. Fisiología de las Plaquetas

Todas las células sanguíneas derivan de una célula madre pluripotente común, que se diferencia en diferentes familias celulares. Cada una de estas células contienen precursores que pueden dividirse y madurar (89). Las plaquetas son elementos celulares nucleados, con forma discoide, tienen diferentes tamaños, aunque se puede aproximar a 2 μm , y una poseen una densidad muy baja, la más pequeña de todas las células sanguíneas (89). Pueden llamarse también trombocitos y se desarrollan a partir de la médula ósea, derivan de megacariocitos, y no tienen núcleo; por lo tanto, no pueden dividirse (90).

El recuento fisiológico normal de plaquetas que circulan en el torrente sanguíneo puede variar de 150,000 a 400,000 plaquetas por μL y contienen gránulos secretores que son cruciales para la función plaquetaria (89). Hay 3 tipos de gránulos: gránulos densos, gránulos alfa y lisosomas y en cada plaqueta hay aproximadamente 50–80 gránulos (89).

Los alfa-gránulos contienen factores de crecimiento que favorecen la quimiotaxis, la proliferación, la diferenciación celular y la angiogénesis (90). Los gránulos densos transportan los factores necesarios para el proceso de curación de tejidos, como serotonina, dopamina, histamina, adenosina y calcio. Las sustancias contenidas en los gránulos de las plaquetas se secretan durante el proceso de activación de plaquetas, y regulan los aspectos fundamentales de la reparación del tejido (91).

Las plaquetas son las células principales en el proceso de agregación y su función primordial es favorecer la homeostasis a través de tres procesos: adhesión, activación y agregación. De esta manera, en el transcurso de una lesión vascular, las plaquetas se activan y sus gránulos liberan los factores que promueven la coagulación (89).

Anteriormente se pensaba que las plaquetas solo tenían actividad hemostática, pero en los últimos años, la investigación científica y la tecnología han referido una nueva visión sobre las plaquetas y sus funciones. Los estudios han puesto de manifiesto que las plaquetas contienen una gran cantidad de factores de crecimiento y citocinas que pueden influir en la inflamación, la angiogénesis, la migración celular, incluyendo células madre y la proliferación celular (92).

5.3. Historia del Plasma Rico en Plaquetas y Formas de PRP.

El Plasma Rico en Plaquetas o PRP es una fuente natural de sustancias de señalización y, con la activación de las plaquetas contenidas en el PRP, los gránulos P se desestructuran liberando los factores de crecimiento y las citocinas que modificarán el entorno alrededor de las células. Algunos de los factores de crecimiento más importantes liberados por las plaquetas del PRP son los factores de crecimiento endotelial vascular, factores de crecimiento de fibroblastos, factores de crecimiento derivado de plaquetas, factores de crecimiento epidérmico, factores de crecimiento de hepatocitos, factor de crecimiento similar a la insulina I y II, metaloproteinasas de matriz II y IX; y interleuquina VIII (93).

5.3.1. Historia del plasma rico en plaquetas

El plasma rico en plaquetas (PRP) también se conoce como factores de crecimiento de las plaquetas (FC), matriz de fibrina rica en plaquetas (FRP), y concentrado de plaquetas.

El uso racional del PRP en clínica, se basa en la particularidad de poder estimular la producción y, en consecuencia, el aumento en la concentración de factores de crecimiento y secreción de proteínas, que pueden mejorar el proceso de curación, a nivel celular (91).

El uso de PRP acelera la vascularización de los injertos, reduce la morbilidad posquirúrgica, mejora la regeneración tejidos y reduce la formación de cicatrices, ya que acelera la maduración y regeneración del epitelio de la lesión (94). Además, se piensa que el PRP actúa favoreciendo un mayor reclutamiento, mayor proliferación y una diferenciación mejorada de las células intervinientes en la regeneración de tejidos (91).

De esta manera, el PRP es capaz de articular la secreción y reclutamiento de células inflamatorias importantes, como los monocitos y los leucocitos, en el lugar de la lesión. Por lo tanto, la acción terapéutica y el desarrollo de la regeneración de tejidos influido por el PRP se deba probablemente al control de la respuesta inflamatoria local (95,96).

El concepto y la descripción del PRP empezó a pronunciarse principalmente en el ámbito de la hematología (97). Los hematólogos crearon el término PRP en la década de 1970 para definir el plasma con un aumento de plaquetas superior al de la sangre basal, que se usó en su un inicio como tratamiento de transfusión para los pacientes con trombocitopenia (98).

El primer uso clínico descrito en la literatura se remonta al año 1987, cuando Ferrari et al. describió el uso de PRP autólogo como un elemento adicional para la transfusión en cirugías cardíacas, con el fin de evitar el uso de productos homólogos (99)

En la década de los 90, el PRP comenzó a usarse en cirugía maxilofacial como Fibrina Rica en Plaquetas o FRP. La fibrina tenía mejor adherencia y mejores propiedades homeostáticas, y el PRP con sus propiedades antiinflamatorias infería en la proliferación celular (100).

Posteriormente, el PRP se ha utilizado principalmente en el ámbito musculo-esquelético en lesiones deportivas. El uso del mismo en deportistas profesionales, ha contribuido a una atención generalizada de los medios y se ha utilizado ampliamente (101). Otros ámbitos médicos que también usan el PRP son la cirugía cardíaca, la cirugía pediátrica, la ginecología, la urología, la cirugía plástica y la oftalmología (102).

Más actualmente, ha aumentado el interés en la aplicación de PRP en dermatología; es decir, en la regeneración de tejidos, la cicatrización de heridas, la mejora de cicatrices, en las propiedades rejuvenecedoras en la piel y en la alopecia (97,103–111).

Las heridas tienen un ambiente bioquímico proinflamatorio que dificulta la curación de las úlceras crónicas.

Además, se caracterizan por una actividad de proteasa alta, que disminuye la concentración de Factores de Crecimiento (FC), por ello el PRP se usa como un tratamiento coadyuvante y muy interesante para las heridas difíciles de curar, ya que el PRP es una fuente de FC y en consecuencia tiene características que favorecen la mitogénesis, la angiogénesis y la quimiotaxis (109).

En dermatología cosmética, un estudio realizado in vitro demostró que el PRP puede estimular la proliferación de fibroblastos dérmicos humanos y aumentar la síntesis de colágeno tipo I (111). Además, se evidencia histológicamente, que el PRP inyectado en la dermis profunda y la hipodermis inmediata favorece el aumento de tejidos blandos, la activación de fibroblastos y la deposición de colágeno nuevo, la formación de vasos sanguíneos nuevos y de tejido adiposo (110,112).

Otra aplicación del PRP es la mejora de las cicatrices de quemaduras, cicatrices postquirúrgicas y cicatrices del acné, y según los pocos artículos disponibles, el PRP solo o en conjunción con otras técnicas parece favorecer la calidad de la piel y desemboca en un aumento del colágeno y las fibras elásticas (113).

En 2006, el PRP empezó a establecerse como una herramienta terapéutica importante para favorecer el crecimiento capilar y se consideró como una nueva terapia para la alopecia, tanto la androgenética como en la areata. En este aspecto se han publicado varios estudios que reflejan el efecto positivo que el PRP tiene sobre la alopecia androgenética, pero un meta-análisis reciente indica que faltan ensayos clínicos controlados y aleatorios para aclarar estas propiedades (114). Según refieren otros autores en otro trabajo de revisión, se determina que los ensayos clínicos controlados son la mejor opción para proporcionar evidencia científica para un determinado tratamiento y evitar posibles sesgos al evaluar la eficacia (115).

5.3.2. Definición del plasma rico en plaquetas

El PRP es un producto biológico autólogo definido como la fracción plasmática de sangre con una concentración de plaquetas por encima de la sangre basal antes de la centrifugación (92). De este modo, el PRP no solo contiene un nivel alto de plaquetas, sino también el conjunto completo de factores de coagulación (116). Está enriquecido por una amplia familia de FC, quimiocinas, citocinas y otras proteínas plasmáticas (100).

El PRP se obtiene de la sangre de los propios pacientes, después de la centrifugación la sangre se separa según las diferentes gradientes de densidad, de la siguiente manera: glóbulos rojos en la zona más profunda del recipiente, PRP en la zona media y plasma pobre en plaquetas (PPP) en la zona más superior. El PRP, posee así una mayor concentración de plaquetas, pero otros parámetros deben tenerse en cuenta, como la presencia o ausencia de leucocitos y la activación o no, esto definirá el tipo de PRP utilizado en diferentes patologías (92).

Hay varios dispositivos comerciales para la obtención de PRP disponibles, que simplifican el proceso. Según los fabricantes, los dispositivos de PRP generalmente alcanzan una concentración de plaquetas de 2 a 5 veces la concentración de la sangre basal. Aunque se podría pensar que un recuento de plaquetas mayor consecuentemente con un número mayor de FC conduciría a mejores resultados, pero esto aún no se ha determinado (92). Además, un estudio sugiere que una concentración de PRP 2.5 veces superior a la línea basal podría tener un efecto inhibitorio (117).

5.3.3. Formas de Obtener PRP

Actualmente, hay una gran discusión y no hay consenso con respecto a la preparación del PRP. El PRP se obtiene mediante un proceso conocido como centrifugación diferencial, en el que la fuerza de aceleración se ajusta para sedimentar los diferentes componentes celulares en función de la densidad específica de cada uno de ellos (118).

En cuanto a la obtención del PRP, existen 2 técnicas (119):

1. Técnica abierta: la sangre está expuesta al ambiente del área de trabajo y entra en contacto con diferentes materiales que deben usarse para su obtención, como pipetas o tubos de recolección. En el procesamiento de sangre para obtener el PRP con esta técnica abierta, se debe garantizar que el PRP no acabe contaminado micro-biológicamente durante el manejo.

2. Técnica cerrada: implica el uso de productos sanitarios y/o dispositivos comerciales con marcado CE (incluido el equipo de centrifugación y de administración) en los que el producto no está expuesto al medio externo (recomendado).

Varios dispositivos médicos CE están a disposición de la comunidad médica para la obtención de PRP autólogo. La mayor parte de ellos se incluyen en uno de los siguientes tres tipos de dispositivos (119):

1. La sangre se obtiene mediante un tubo que contiene anticoagulante, y este tubo se puede usar para cualquier tipo de centrifugadora.

2. Dispositivos médicos en los que se recoge la sangre en un tubo que ya contiene un anticoagulante y se puede realizar en cualquier tipo de centrifugadora.

3. Dispositivos médicos en los que se recoge la sangre en una jeringa previamente llena con un anticoagulante; generalmente, la sangre se traspara a un recipiente secundario cuya forma impone el uso de la centrífuga suministrada por el mismo fabricante. La preparación de PRP depende del tipo de dispositivo elegido y debe hacerse de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

El procedimiento requiere el uso de volúmenes relativamente pequeños de sangre y el PRP se obtiene de la sangre de los pacientes antes de la centrifugación mediante punción venosa en tubos anti-coagulados (generalmente con citrato ácido dextrosa o solución de citrato de sodio) (119).

La sangre se centrifuga después de forma simple o doble, según el dispositivo y los ajustes de la centrífuga son establecidos por el fabricante para obtener el PRP a una concentración definida, de manera que el médico no puede cambiar estos ajustes (119).

Después de la centrifugación, el tubo muestra tres capas básicas: en el fondo del tubo, hay glóbulos rojos con leucocitos depositados inmediatamente arriba; la capa intermedia corresponde al PRP, y en la parte superior, está el PPP, que se elimina y se obtiene PRP. Las plaquetas pueden activarse antes de la aplicación del PRP, aunque no hay consenso sobre si las plaquetas deben activarse previamente antes de su aplicación y con qué agonista (120).

La trombina y el cloruro de calcio, favorecen la agregación, y se utilizan con el objetivo de activar las plaquetas y estimular la desgranulación, lo que favorece la liberación de los FC (121).

En una revisión de Dhurat et al (2014), refieren que algunos autores activan las plaquetas, mientras que otros aplican las plaquetas sin activarlas previamente, argumentando que se obtienen mejores resultados, de esta manera encontraron que el uso de estos agregadores no es necesario porque cuando se administra, las plaquetas se liberan automáticamente y están preparadas para ejercer su función (122).

Aunque la mayoría de los dispositivos refieren obtener el mejor PRP, los sistemas difieren ampliamente en su capacidad para recoger y concentrar las plaquetas en dependencia del método y el tiempo de centrifugación; de este modo, se obtienen productos con diferentes concentraciones de plaquetas y leucocitos. Es difícil evaluar qué kit de preparación es mejor y cuál peor, porque además, cada dispositivo puede producir diferentes tipos de PRP para diferentes aplicaciones, por lo que no hay consenso sobre el número de centrifugaciones requeridas, ni sobre su tiempo y su velocidad ideal (122).

Existe un fuerte debate sobre el volumen ideal de PRP a administrar, la frecuencia de aplicación, el sitio exacto de administración del PRP y qué técnica o sistema de obtención/fabricación utilizar (122).

5.3.4. Clasificación del plasma rico en plaquetas

En un estudio de Anitua et al. (2011) se refiere que varios autores han intentado caracterizar y clasificar las numerosas técnicas disponibles en el mercado en términos de fabricación del PRP (velocidad de centrifugación y uso de anticoagulantes), contenido (plaquetas, leucocitos y FC) y aplicaciones (121), y aunque en las publicaciones sobre PRPs referida existen numerosas contradicciones, es importante y se precisa una terminología estandarizada (121,123). Por lo que se han propuesto algunas clasificaciones para definir una terminología consensuada en el ámbito de los concentrados de plaquetas (123–128).

Dohan Ehrenfest et al. (2009) (124) propuso una clasificación de 4 familias principales de concentrados siguiendo dos parámetros principales: la presencia o la ausencia del contenido celular (como los leucocitos) y la arquitectura del mismo según la fibrina:

1. PRP puro o PRP pobre en leucocitos: se obtiene un PRP sin leucocitos y existe una red de fibrina de baja densidad después de la activación.
2. PRP y Leucocitos: se obtiene un PRP que contiene leucocitos y existe una red de fibrina de baja densidad después de la activación.
3. FRP puro o FRP pobre en leucocitos: se obtiene un PRP sin leucocitos y con una red de fibrina de alta densidad. A diferencia del PRP puro o el PRP con leucocitos, estos productos no pueden inyectarse y existen en forma de gel activado.
4. Fibrina rica en plaquetas y leucocitos (FRPL): el PRP obtenido tienen una red de fibrina de alta densidad y contienen leucocitos.

Mishra et al (2012) propuso otra clasificación basada en la presencia o no de glóbulos blancos, estado de activación y concentración de plaquetas, teniendo en cuenta los coeficientes de aumento en la concentración de plaquetas y leucocitos en el PRP obtenido, comparándolos con la sangre basal del paciente (126) .

Las clasificaciones todavía no se consensuaron y aún existía la necesidad de buscar una clasificación para el PRP que pudiera definir el PRP inyectado para comparar la eficacia de los diferentes estudios. Un punto importante de discusión es que en las clasificaciones anteriores, los autores no tuvieron en cuenta el volumen final de la preparación, la presencia o ausencia de glóbulos rojos (GR) en el PRP, y las dosis de plaquetas en el volumen final del PRP obtenido.

En 2016, Magalon et al. presentó la clasificación que contemplaba las variables: Dosis, Eficiencia, Pureza y Activación (DEPA) que se centra en la cantidad de plaquetas obtenidas por los kits de PRP, así como en la pureza del producto y en la activación de plaquetas antes de la inyección (127).

La clasificación DEPA se basa en 4 componentes diferentes (127):

1. Dosis de plaquetas inyectadas: calculada multiplicando la concentración de plaquetas en el PRP por el volumen obtenido de PRP. Según la dosis inyectada (medida en miles de millones o millones de plaquetas), debe clasificarse en (a) dosis muy alta de plaquetas inyectadas >5 mil millones; (b) dosis alta de plaquetas inyectadas, de 3 a 5 mil millones; (c) dosis media de plaquetas inyectadas, de 1 a 3 mil millones, y (d) dosis baja de plaquetas inyectadas, <1 mil millones.

2. Eficiencia de la producción: corresponde al porcentaje de plaquetas recuperadas en el PRP de la sangre. Se clasifica de la siguiente manera: (a) alta eficiencia del dispositivo, si la tasa de recuperación en plaquetas es >90%; (b) eficiencia media del dispositivo, si la tasa de recuperación en plaquetas está entre 70 y 90%; (c) baja eficiencia del dispositivo, si la tasa de recuperación está entre 30 y 70%, y (d) pobre eficiencia del dispositivo, si la tasa de recuperación es <30% y corresponde a la composición relativa de plaquetas, leucocitos y glóbulos rojos en el obtenido PRP.

3. Pureza del PRP obtenido: se correlaciona con la composición relativa de plaquetas, leucocitos y glóbulos rojos en el PRP obtenido. Se describe como (a) PRP muy puro, si el porcentaje de plaquetas en el PRP, en comparación con los glóbulos rojos y los leucocitos, es $> 90\%$; (b) PRP puro, entre 70 y 90% de las plaquetas; (c) PRP heterogéneo, si el porcentaje de plaquetas está entre 30 y 70%, y (d) PRP de sangre completa, si el porcentaje de plaquetas en el PRP es $< 30\%$ en comparación con los glóbulos rojos y los leucocitos.

4. Proceso de activación: si se usó o no un factor de coagulación exógeno para activar las plaquetas, como la trombina autóloga o el cloruro de calcio.

Aunque esta última clasificación es muy completa, el médico no puede definir esta cuantificación y debe registrarse el Certificado Europeo (CE) en cada dispositivo médico disponible para la preparación de PRP.

5.4 . Composición y Aplicaciones del PRP

Como comentamos anteriormente el PRP consiste en un volumen de plasma con concentraciones de plaquetas superiores a los niveles basales, que se logran mediante centrifugación, generalmente se emplean dos centrifugaciones con un tiempo y una velocidad establecidos previamente definidos en diferentes protocolos experimentales (129). Después de la primera centrifugación, los glóbulos rojos (GR) se separan del plasma en función de las diferentes densidades celulares, sedimentándose en la parte inferior del tubo. Inmediatamente por encima de los GR, entre los eritrocitos y el plasma, se forma la capa leucocitaria, seguida del PRP, el plasma plaquetario medio (PPM) y el plasma pobre en plaquetas (PPP) (129).

El plasma y la capa leucocitaria se recolectan y se someten a una segunda centrifugación para aumentar la concentración de plaquetas. Los dos tercios superiores del plasma obtenido (correspondiente al plasma de plaquetas medio y pobre) se descartan y la porción restante se mezcla con el botón de leucocitos depositado en la parte inferior, que origina el PRP (129).

Para establecer un volumen de PRP estándar, algunos autores han establecido la producción de 1 ml de PRP por cada 10 ml de sangre recogida, por lo tanto, después de la segunda centrifugación, la parte superior que corresponde al plasma se recolecta de modo que el volumen de plasma restante más la capa de leucocitos sume 1 ml de PRP (130,131). Antes de ser administrado al paciente, el PRP se debe activar para que las plaquetas liberen sus factores de crecimiento y el resto de productos relacionados con el proceso de regeneración. Por lo general, se emplea cloruro de calcio, trombina bovina o colágeno para este fin (91).

El uso de PRP autólogo tiene la ventaja de erradicar el riesgo de contaminación cruzada, así como la transmisión de patologías microbianas o reacciones inmunes (132). En este sentido, varios autores están en contra de la inclusión de trombina bovina en algunos protocolos de activación de las plaquetas debido al riesgo de coagulopatía a través de la producción de anticuerpos contra factores de coagulación, por lo tanto, debe reconsiderarse el uso de trombina autóloga (132,133). Alternativamente, el uso del colágeno en detrimento de la trombina proporciona una coagulación más baja y sin reducción de los factores de crecimiento (133).

El uso de PRP en forma líquida o en gel ha mostrado una mejora en el proceso de cicatrización, sin embargo, la preparación del gel requiere más tiempo para lograr la trombina autóloga, lo que conduce a una preparación más compleja y prolongada (133).

La inyección directa de PRP en el sitio de la lesión, sin necesidad de activación, es una alternativa atractiva y palpable porque supuestamente la activación puede atribuirse al trauma causado por la aguja y/o al colágeno residual, lo que implica una reducción de los costos y del tiempo de preparación (134).

En general, el uso terapéutico de PRP en los últimos 20 años ha demostrado ser un tratamiento seguro y efectivo; sin embargo, hay algunas condiciones en las que la indicación debe ser utilizada con precaución, como en casos de trombocitopenia, síndrome de disfunción plaquetaria, septicemia, hipofibrinogenemia, fiebre reciente, anemia, cáncer, lesiones cutáneas en el área de la inyección, uso de corticosteroides (hasta 2 semanas antes del procedimiento), o antiinflamatorios no esteroideos (hasta 48 horas antes del procedimiento) e infecciones activas con *Pseudomonas*, *Klebsiella* o *Enterococcus* (135–138).

Sin embargo, la literatura ha reportado resultados contradictorios sobre los beneficios del PRP, el número de participantes en diferentes estudios, generalmente es pequeño y las técnicas utilizadas no están estandarizadas (91,135,139).

Se logran diferentes concentraciones de plaquetas mediante diferentes metodologías con resultados que a veces no están bien definidos en cuanto a la mejora de la cicatrización (140). Se sabe que el aumento en la fuerza de rotación proporciona una mayor concentración de plaquetas; sin embargo, fuerzas demasiado altas pueden conducir a la pérdida de factores de crecimiento en el plasma debido a una activación temprana de las plaquetas y a la ruptura de los tubos, lo que significa pérdidas a la eficacia terapéutica del PRP (130,141).

En general, los resultados no satisfactorios informados pueden estar asociados con la calidad del PRP obtenido, debido a que las concentraciones de plaquetas obtenidas son muy diferentes entre los estudios, además de otras variables importantes que están relacionadas con el mantenimiento de la integridad de las plaquetas y la activación efectiva del producto obtenido, que a menudo no se aclaran en los estudios (130,141).

5.4.1. Factores de crecimiento en el PRP.

A modo de resumen clasificamos en este esquema la composición del PRP en factores de crecimiento (FC) y su función según los estudios referenciados y puestos en común.

De esta manera el PRP se compone de los siguientes FC:

1. FCT- β : Factor de crecimiento transformador beta, que se produce en las plaquetas, neutrófilos, macrófagos, monocitos, células asesinas de células naturales, células Th1, matriz extracelular ósea y matriz cartilaginosa; y su función es regular el efecto mitogénico de otros factores de crecimiento, estimular la proliferación de células mesenquimatosas indiferenciadas, mitógeno de fibroblastos y osteoblastos, regulador endotelial y regulador de la síntesis y secreción de colágeno, estimula la angiogénesis y la quimiotaxia endotelial, inhibe la proliferación de macrófagos y linfocitos (80,131,142).

2. FCF: Factor de crecimiento de fibroblastos, que se produce en plaquetas, macrófagos, condrocitos, osteoblastos y células mesenquimatosas; y funciona como mitógeno para células mesenquimatosas, condrocitos y osteoblastos, estimula el crecimiento y la diferenciación de condrocitos y osteoblastos (80,143,144).

3. FCDP α -b: Factor de crecimiento derivado de las plaquetas, que se produce en plaquetas, macrófagos / monocitos, células endoteliales, osteoblastos y células musculares lisas; y funciona estimulando la quimiotaxia y la mitosis de fibroblastos, células musculares lisas y gliales, regulando la secreción de colagenasa y síntesis de colágeno, es mitógeno para células mesenquimatosas y osteoblastos y estimula la quimiotaxia de macrófagos y neutrófilos (80,131,145).

4. FCE: Factor de crecimiento epidérmico, que se produce en plaquetas y macrófagos/monocitos; y su función es estimular la mitosis de las células mesenquimatosas, regular la secreción de colagenasa, estimular la quimiotaxia y la angiogénesis de las células endoteliales (80,146,147).

5. FCEV: Factor de crecimiento endotelial vascular, que se produce en plaquetas y células endoteliales, siendo su función estimular la mitosis de las células endoteliales, aumentar la angiogénesis y la permeabilidad del vaso (80,147,148).

6. FCI-1: Factor de crecimiento similar a la insulina 1, que se produce en plaquetas, macrófagos, osteoblastos, matriz ósea y células mesenquimatosas; y funciona como estimulador de la diferenciación y la mitogénesis de las células mesenquimatosas y de las células de revestimiento, estimulador de los osteoblastos y la producción de colágeno tipo I, osteocalcina y fosfatasa alcalina.

5.4.2. Aplicaciones clínicas del PRP.

5.4.2.1. Lesiones óseas.

Los defectos óseos pueden surgir de traumas mecánicos, patologías y estrés fisiológico. Debido a la alta prevalencia de lesiones, el hueso es el segundo tejido humano más trasplantado, superado solo por el tejido hematopoyético. Se estima que anualmente 2,2 millones de personas son sometidas a procedimientos de injerto para reparar defectos óseos en ortopedia, odontología y neurocirugía (149).

El uso de injertos autólogos se considera un “gold estándar” entre los biomateriales empleados en el relleno de cavidades óseas. Sin embargo, la necesidad de dos procedimientos quirúrgicos, la limitación del tejido disponible, los riesgos de infección, necrosis y reabsorción en hasta el 30% de los pacientes, ha motivado la propuesta de biomateriales sintéticos, que a su vez no son biológicamente funcionales y no están adaptados para la remodelación del tejido óseo (150,151).

El uso de factores biológicos, como el PRP y las proteínas morfo-genéticas óseas (PMO), asociadas o no al injerto, ha mostrado resultados prometedores con respecto a las reconstrucciones óseas, ya que están directamente asociadas con la fisiología normal de este tejido.

Factores de crecimiento plaquetario como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), el factor de crecimiento transformador β (FCT- β), el factor de crecimiento de fibroblastos (FCF), el factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV)-

A y la insulina como factor de crecimiento (IFC- 1) regulan la regeneración ósea a través de la migración, proliferación y diferenciación de osteoblastos, justificando el uso terapéutico. Por este motivo, desde la década de 1990 se está usando el PRP en el tratamiento de lesiones óseas mostrando resultados significativos, como una alternativa al gel de plaquetas o el adhesivo de fibrina usados en reconstrucciones maxilofaciales.

Los beneficios terapéuticos se extienden más allá del poder reparador, ya que consisten en una acción más rápida que los tratamientos convencionales, maximizados por factores de crecimiento autólogos y, por lo tanto, libres de complicaciones de origen inmune (132,152,153).

Batista et al. (2011) comparó la acción del PRP con la concentración de médula ósea, tuvo una mejor consolidación y una mayor cantidad de hueso por área en el grupo del PRP. El resultado obtenido puede explicarse por el reclutamiento inmediato de todas las proteínas necesarias para comenzar la cascada de cicatrización/curación, mientras que la concentración de médula ósea exigió más tiempo para reclutar estos elementos. Por lo tanto, se puede suponer que en la supervisión durante un período de tiempo de hasta 4 semanas, este grupo podría haber tenido resultados similares de consolidación. Sin embargo, no hubo nuevos estudios que pudieran confirmar esta hipótesis (154).

Varios estudios que valoraron la asociación del PRP e injertos óseos artificiales mostraron una mejora en la calidad de la curación, sin embargo, cuando solo se empleó el PRP los resultados obtenidos fueron inferiores, probablemente debido a la falta de tejido conectivo que proporcionara una reparación adecuada (155,156).

Sin embargo, en el cultivo celular, el uso del PRP ha evidenciado el potencial de los factores de crecimiento mediante la modulación de los procesos celulares, mostrando que el uso de PRP homólogo, en osteoblastos derivados de pacientes con periodontitis producía un aumento en la respuesta proliferativa (157). Este resultado fue corroborado por otro estudio sobre el potencial osteogénico del PRP, que muestra un aumento en la proliferación celular y la diferenciación osteogénica in vitro, así como el aumento en la formación de hueso alrededor del injerto celular y una alta perfusión arterial alrededor del defecto óseo (158).

Aunque diferentes estudios han reportado resultados satisfactorios, algunos autores han indicado resultados contradictorios (132,159). La aplicación de PRP en combinación con una concentración de médula ósea sobre defectos de la tibia y en combinación con hueso esponjoso bovino en defectos críticos en el cráneo aumenta la cicatrización ósea en conejos (160). Cuando se aplicó sobre lesiones óseas mandibulares en perros, hubo regeneración ósea en el grupo de PRP en un período de tiempo más corto en comparación con el grupo control (161).

Por otro lado, el uso de PRP combinado con injerto óseo no ha mostrado mejores resultados en comparación con la colocación única del injerto en perros y ratas (162–164).

Los resultados contradictorios pueden estar relacionados con el tipo de metodología empleada para producir el PRP, lo que puede resultar en una concentración inadecuada de factores de crecimiento necesarios para la reparación de las lesiones óseas. Aunque el uso de calcio y trombina para la activación de PRP se asocia con una mayor proliferación y migración de las células madre de la médula ósea, se sabe que altas concentraciones pueden interferir con la angiogénesis debido al deterioro de la migración y la proliferación de las células endoteliales vasculares y la reducción de la liberación de FCEV (165,166). Otro aspecto importante está relacionado con la posibilidad de que las plaquetas activadas comprometan la diferenciación osteogénica (167).

La búsqueda de formas alternativas de activación plaquetaria puede ser la clave para obtener mejores resultados terapéuticos del PRP. El uso de pequeñas concentraciones de trombina suplementadas con colágeno y estimulación mecánica condujo a mayores niveles de FCEV en comparación con el uso de trombina y cloruro de calcio (158).

Teniendo en cuenta la función homeostática realizada por las plaquetas, es natural concluir que el concentrado contribuye a reparar las lesiones. Sin embargo, la presencia de diferentes factores, a veces antagonistas, tiende a crear un desequilibrio incapaz de promover la recuperación del tejido. Por lo tanto, es importante enfatizar la necesidad de estudios más detallados para validar las propiedades terapéuticas del PRP en lesiones óseas.

5.4.2.2. Lesiones cartilagosas.

Los practicantes de actividades físicas tienen una alta incidencia de lesiones de cartílago articular, mientras que el tratamiento sigue siendo un desafío para la medicina deportiva debido a la limitada capacidad regenerativa del tejido cartilaginoso (168), el PRP se ha ofrecido como un tratamiento alternativo para las lesiones de cartílago articular de rodilla, cadera y tobillo (90). Diferentes estudios han demostrado la acción de los factores de crecimiento en la estimulación de la proliferación de condrocitos, la diferenciación condrogénica de las células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea y el control de la síntesis de la matriz cartilaginosa (169–171).

Los estudios de migración y diferenciación condrogénica de progenitores subcondrales humanos, cultivados en presencia de PRP, confirman el potencial de quimiotaxia en la migración y diferenciación condrogénica. Las células estimuladas con PRP logran un aumento significativo en la formación de una matriz cartilaginosa, y el análisis de la expresión génica muestra la presencia de condrocitos, adipocitos y genes marcadores de osteocitos, aunque no existe una diferenciación evidente de estos dos últimos tipos de células (172).

En otro estudio de cultivo celular que involucra condrocitos derivados de humanos con osteoartritis, a diferentes concentraciones de lisis plaquetaria, se observó una reducción de los efectos inflamatorios, incluida la inhibición del factor nuclear- κ B (FN κ B), el principal factor involucrado en la patogénesis de la osteoartritis (173).

Sánchez et al. (174) fueron pioneros en el uso del PRP en el tratamiento de la avulsión del cartílago articular de rodilla en jugadores de fútbol. El fragmento avulsionado se fijó con suturas absorbibles y los espacios existentes entre el fragmento y el área receptora se rellenaron con PRP. Después de usar un concentrado de plaquetas obtenido por una centrifugación única, nombrada por los autores como preparación rica en factores de crecimiento (PRFC), los resultados clínicos obtenidos fueron muy satisfactorios, con la aceleración de la curación y la recuperación funcional de la lesión.

En la artroplastia total de rodilla (ATR), varios estudios obtuvieron la reducción en la necesidad de transfusiones de sangre, procesos menos infecciosos, menos complicaciones postquirúrgicas y un menor tiempo en el hospital (175–177).

La aplicación directa de PRP en atletas con: tendinitis rotuliana crónica, pacientes con artrosis de rodilla (OA) y lesiones osteocondrales del astrágalo, demostró una mejoría funcional y mejoría en el manejo del dolor (178–180).

Spakova y col. (181), comparó la eficiencia del PRP respecto al ácido hialurónico en pacientes con diferentes grados de OA y obtuvo resultados más satisfactorios en el grupo tratado con PRP, aunque los dos tratamientos fueron estadísticamente significativos.

Con respecto al tratamiento de las lesiones del ligamento cruzado anterior, la aplicación de PRP ha mostrado efectos significativos desde un punto de vista clínico, lo que resulta en una mejora biomecánica y una recuperación más rápida (182,183). Sin embargo, algunos autores han señalado la controversia/ausencia de estos resultados significativos (184–186).

El potencial de los factores de crecimiento en la reparación del cartílago está bien establecido con respecto a la regulación de la fisiología del cartílago articular.

Se ha demostrado que factores de crecimiento como el FGF-b y FGF estimulan la proliferación condrogénica y la biosíntesis de la matriz extracelular de condrocitos articulares in vitro, lo que permite la obtención de resultados clínicamente satisfactorios (172,187–189).

Sin embargo, las discrepancias entre los resultados obtenidos pueden estar relacionadas con los diferentes métodos para obtener el PRP, formas de activación y aplicación aislada o agregada con otros elementos. El uso de PRP en forma soluble no puede soportar la actividad biológica al degradarse rápidamente, y el empleo en forma de gel no contiene altos niveles de factores de crecimiento, además de que se evita la aplicación con agujas ya que se ve obstaculizadas por la alta viscosidad.

Dependiendo de la ubicación y extensión de la lesión, es posible elegir la forma que mejor se adapte a las necesidades del paciente, pero es importante tener en cuenta que el PRP recién obtenido puede tener un pH acidificado (6.9–7.0) y puede interferir las funciones desempeñadas naturalmente por las citocinas (189).

Los estudios han informado que el uso de PRP alcalino (7.4) permite un efecto estimulante sobre la proliferación celular debido a la liberación de componentes adicionales (190,191).

La propuesta general de que el PRP estimula el anabolismo condral y reduce los procesos catabólicos puede explicar la mejora de los síntomas clínicos. En este sentido Filardo et al. (2011) (192) indicaron que el PRP actúa en la homeostasis articular, lo que resulta en la reducción de la hiperplasia de la membrana sinovial y la modulación de los niveles de citocinas, aunque estos mecanismos de acción no se han determinado claramente.

Por lo tanto, se deben considerar estudios más detallados relacionados con la obtención del PRP, la concentración de factores de crecimiento, el género, la edad y el grado de degeneración al analizar los resultados, ya que pueden interferir con el tratamiento. Otro aspecto a considerar es el seguimiento de los pacientes para determinar si se reanudó la estructura original de la articulación o si la recuperación fue solo temporal, con el objetivo de estandarizar el número y el tiempo entre aplicaciones para permitir el uso rutinario de esta terapia en la práctica clínica y evitar procedimientos quirúrgicos invasivos.

5.4.2.3. Lesiones musculares.

Las lesiones musculares generalmente son causadas por un trauma directo o por la descompensación de la carga excéntrica durante la contracción muscular, y son muy comunes, especialmente en atletas de élite (91). En la mayoría de los casos, los tratamientos recomendados son conservadores y las mejores terapias no se han definido claramente. Por lo tanto, las lesiones musculares representan un problema desafiante para la traumatología y la medicina deportiva (193), y las lesiones musculares clínicamente más graves se encuentran entre las más indicadas para el tratamiento con PRP (194).

El antecedente de lesiones previas representa un gran factor de riesgo de lesiones musculares, probablemente debido a la formación de tejido cicatricial en el área del trauma.

Dado que las lesiones musculares implican una alta tasa de morbilidad en los deportistas aficionados y profesionales, el uso de PRP significa una alternativa prometedora, ya que acelera la regeneración muscular y minimiza la aparición de nuevas lesiones (195,196).

El proceso de regeneración muscular está regulado por la presencia de factores de crecimiento e interacciones celulares, y presenta una alta concentración de citocinas que se encuentran en los músculos. Los factores de crecimiento, especialmente el IFC, mejoran la regeneración muscular y aumentan la fuerza (197,198). También se sabe que el PRP induce la proliferación de las células musculares, así como la diferenciación de las células satélite y son activas en el proceso de angiogénesis (199).

El primer estudio clínico que empleó factores de crecimiento en la recuperación de lesiones musculares utilizó suero autólogo: Ocho atletas profesionales se inscribieron en el estudio y se compararon con 11 atletas con lesiones similares tratadas previamente (grupo control). El tratamiento comenzó 3 días después de las lesiones, todas clasificadas como lesiones de grado moderado, y condujo a la reducción del edema y el sangrado del grupo tratado, con una recuperación funcional completa en 2 semanas, lo que representó la mitad del tiempo esperado para la regeneración de este tipo de lesiones (197).

Otros estudios con atletas de élite mostraron que las inyecciones percutáneas de PRP en el área lesionada del músculo mejoraron la recuperación funcional y permitieron la continuación de las actividades deportivas (200).

Cugat et al. (201) utilizaron PRP en lesiones musculares causadas por traumas mecánicos. Ayudados por un equipo de ultrasonidos, los autores inyectaron PRP directamente en el área lesionada, y de esta manera el tiempo de recuperación se redujo a la mitad.

Los estudios realizados por tres equipos independientes, que buscaban curar la capacidad regenerativa del manguito rotador evaluaron el potencial de reparación del mismo en presencia de PRP.

Los pacientes fueron aleatorizados para el tratamiento por artroscopia con y sin PRP. Ninguno de los puntos evaluados presentó diferencias estadísticamente significativas, y uno de los estudios también sugiere efectos negativos. Sin embargo, uno de los equipos informó el logro de resultados satisfactorios en lesiones pequeñas y medianas, dando pie a posteriores estudios en lesiones de mayor tamaño, ya que los diferentes métodos disponibles comercialmente pueden conducir a preparaciones más eficientes (202–204).

A pesar de las discrepancias entre los resultados obtenidos por diferentes grupos de investigación, la justificación del uso de PRP en las lesiones musculares se fundamenta en la liberación de factores de crecimiento vinculados a la aceleración de la recuperación del tejido, ya que actúa en la proliferación de precursores musculares, mejora de la vascularización, reducción de procesos infecciosos y síntomas de dolor, que conducen a una mejora funcional y un rápido retorno a las actividades deportivas. Se sabe que el PRP parece actuar mejor en la fase de regeneración, a través de la acción del IFC que estimula a las células musculares para proliferar y formar tejido muscular libre de tejido fibroso cicatricial asociado con heridas crónicas. Otro aspecto importante se basa en la hipótesis de que el PRP no tiene efecto terapéutico cuando se aplica en las primeras 24 horas después de la lesión (205).

La extensa descripción de resultados contradictorios en la literatura deja claro la necesidad de estudios adicionales que deberían ser estandarizados en relación con el tamaño y la ubicación de la lesión, la edad de los pacientes estudiados, la metodología utilizada para obtener el PRP con o sin leucocitos y el recuento de plaquetas para obtener un producto que tenga concentraciones adecuadas de factores de crecimiento para la recuperación muscular, buscando la aplicación clínica diaria de una terapia efectiva y, al mismo tiempo, mínimamente invasiva.

5.4.2.4. Lesiones tendinosas.

El tendón es un tejido resistente y flexible, anclado al hueso por una conexión mineral resistente. Sin embargo, debido al hecho de que este tejido está sujeto a mucha carga mecánica y estrés, existe un gran riesgo de tendinopatía o lo que es lo mismo lesión crónica del tendón, ya que el esfuerzo continuo puede causar lesiones sucesivas de las fibras de colágeno (168). El tejido de los tendones no está muy bien vascularizado, la tasa metabólica y el consumo de oxígeno son bajos, por lo que se regenera lentamente, de forma variable y con riesgo de volver a lesionarse. Por lo tanto, las cicatrices pueden afectar la función de los tendones y aumentar el riesgo de lesiones repetidas, así como de inflamación crónica y dolor (90).

Las lesiones tendinosas se destacan entre las lesiones musculoesqueléticas y afectan tanto a los practicantes de actividades físicas intensas como a las personas inactivas (206,207). Se estima que estas lesiones representan del 30% al 50% de todas las lesiones relacionadas con el deporte (208).

En este contexto, y teniendo en cuenta las pruebas de que la tendinitis es un trastorno degenerativo intrínseco, el PRP se ha utilizado ampliamente en el tratamiento del tendón de Aquiles, el codo, el manguito rotador y las lesiones rotulianas (135). El uso de PRP como estrategia terapéutica en lesiones de tendones se ha considerado especialmente en pacientes con inflamación crónica, durante 12 meses y sin remisión a tratamientos previos (209).

La investigación aplicada al PRP en tendones ha generado resultados interesantes también en modelos in vitro con el propósito de repararlos. A nivel celular, los tendones están formados principalmente por tenocitos, células responsables del mantenimiento y células de reparación de tejidos. En este sentido, los estudios in vitro relacionados con la acción de PRP sobre los tenocitos han mostrado resultados de gran importancia e interés clínico. Hay evidencia en la literatura que sugiere un aumento en la proliferación de tenocitos con la presencia del PRP, y este efecto depende de la dosis. Aun así, aunque controvertido, hay resultados que indican la capacidad del PRP para actuar sobre la expresión de colágeno (COL1 y COL3) por los tenocitos para contribuir a la calidad de la reparación (210). Sin embargo, debe destacarse una excepción importante, ya que los modelos in vitro no son capaces de imitar el funcionamiento y microambiente de la tendinopatía inflamatoria crónica y, por lo tanto, no es posible sacar conclusiones categóricas, ya que la respuesta de laboratorio puede ser diferente de la realidad clínica.

Los modelos animales, similares a las pruebas in vitro, no pueden proporcionar la misma condición que la tendinopatía humana. Sin embargo, los resultados indican interesantes propiedades terapéuticas del PRP en lesiones de tendones inducidas quirúrgicamente cuando se comparan con los grupos control (210). Cuando se usa PRP en lesiones agudas de tendones, el proceso de reparación ocurre más rápido y la organización de fibroblastos y haces de colágeno se optimizan en relación con los controles sin administración de PRP en modelo equino (211), murino (212) y cunicular (213). Sin embargo, en la mayoría de los estudios informados, hay pocos datos e investigaciones citológicas del PRP empleado, que conlleva a un impedimento de la clarificación terapéutica.

Mishra et al (2006) (214) publicaron el primer estudio en humanos con PRP aplicado en el tratamiento de la tendinosis o tendinitis crónica del codo. De los 140 pacientes evaluados, solo 20 con antecedentes de fracaso con tratamientos no quirúrgicos se sometieron al experimento, y cinco fueron utilizados como grupo de control, tratados con bupivacaína. En el periodo posterior a las 8 semanas después de una aplicación de PRP, hubo una mejoría en el 60% de los pacientes tratados, y en un periodo de 6 meses, el 81% de los pacientes refirió sentirse mejor, y esta mejora alcanzó el 93% dos años después, sin complicaciones. Entre los pacientes tratados con PRP fue posible observar un retorno a las actividades diarias (99%) y a las actividades deportivas en un (94%).

Sin embargo, el trabajo presenta un número reducido de pacientes control ($n = 5$), y el 60% de estos ($n = 3$) fueron excluidos del estudio, lo que hace imposible un análisis estadístico.

Otro sitio relevante en la tendinopatía, son las lesiones en el manguito rotador, se encuentran entre los trastornos más comunes de los hombros y, por lo general, requieren intervención quirúrgica, debido a la inexistencia de agentes terapéuticos que permitan la curación del tendón. Se evaluó el tratamiento de 14 pacientes con manguito rotador de grosor parcial y antecedentes de fracaso en la respuesta a los tratamientos convencionales con esteroides, fisioterapia y antiinflamatorios no esteroideos; y se estudió una posible respuesta con PRP. En 8 semanas, 12 pacientes involucrados en el estudio lograron una mejora significativa del dolor, la fuerza y la resistencia muscular (215).

Un estudio propuesto por Sánchez et al. (2007), señalaron el potencial del PRP en el tratamiento de lesiones tendinosas. En dicho estudio, seis atletas con lesiones del tendón de Aquiles se sometieron a la cirugía convencional combinada con PRP (llamada por el autor como matriz de fibrina rica en plaquetas), y se logró una mejora en la cura y la recuperación funcional, en comparación con el grupo control (216).

En otro estudio que implicó el uso del PRP en la tendinopatía crónica del tendón calcáneo, con antecedentes de tratamientos previos y sin éxito, se logró una mejora clínica significativa, lo que se confirmó aún más mediante estudios con ecógrafos. Después de 18 meses, todos los pacientes mostraron una mejora en los síntomas agudos, un aumento en la vascularización y en el diámetro de las áreas que anteriormente se observaban con interrupción fibrilar. Los autores informaron del aumento de la actividad vascular del PRP en su participación con los tejidos circundantes relacionados con la cicatrización tendinosa. El autor señala que la mejora funcional, la falta de complicaciones después de la mejora funcional y la satisfacción de los pacientes son iniciativas alentadoras para el uso de dicha terapia (217).

El uso de PRP en el tendón rotuliano durante la reconstrucción del ligamento cruzado anterior, también señala los beneficios de la terapia, y ha demostrado una reducción significativa del tamaño de las lesiones y el dolor durante el período posterior a la cirugía (218).

Los diferentes estudios no presentan uniformidad de resultados y procedimientos, por lo tanto, es necesario realizar ensayos aleatorizados adicionales con un mayor número de pacientes, a fin de permitir un consenso o referencia metodológica, permitiendo conclusiones más consistentes sobre el uso de PRP en lesiones de tendones.

Como se observa hay numerosas diferencias o incluso parámetros conflictivos con respecto a la preparación, calidad, dosis e intervalo de inyección del PRP en varios estudios clínicos en lesiones tendinosas. Por lo tanto, el análisis de los resultados terapéuticos se vuelve complejo, ya que también puede participar varios tipos de células, como los linfocitos según la metodología utilizada para obtener el PRP. Además, las citocinas inflamatorias de corta vida, liberadas después de la activación plaquetaria, pueden iniciar una respuesta inflamatoria aguda en fibras tendinosas comprometidas, causando una síntesis de colágeno en fase proliferativa, esencial para la reparación del tendón (219). Otra distinción metodológica flagrante entre los diferentes protocolos clínicos es la activación previa del PRP o no.

Otro hecho interesante se encuentra en la discrepancia de los resultados clínicos. Las respuestas clínicas varían de significativamente positivas a corto y/o largo plazo, positivas pero no significativas a corto y/o largo plazo, o los resultados son similares en comparación con los grupos de control. La tendinopatía crónica, que comprende la mayoría de los estudios clínicos, tiene subtipos de células patológicas que varían con el tiempo y, por lo tanto, el PRP podría ser beneficioso y contribuir a la mejora morfológica y funcional en algunas de estas etapas, pero en otras no.

Finalmente, la tendencia observada en la literatura, así como la experiencia clínica en el tratamiento de la tendinopatía con PRP, respaldan la importancia del tratamiento combinado. En este sentido, la fisioterapia y un programa de actividades después de la inyección de PRP, adoptado en la mayoría de los estudios, demuestran mejores resultados en lesiones de tendones y deben considerarse para este tipo de aplicación clínica.

5.4.2.5. Cura de Heridas.

En las últimas décadas, el uso de terapias celulares, como el PRP, atraído más atención en una amplia gama de enfermedades y entornos para su uso potencial en el campo de la medicina regenerativa como agente terapéutico, y en la cura de heridas de diverso origen, extensión y sus complicaciones locales o sistémicas no es diferente, además la medicina está avanzando hacia el desarrollo de tratamientos menos invasivos y rentables para mejorar la recuperación funcional (220,221).

El uso del PRP ha tenido un impacto potencial en la reducción de los costos económicos de los tratamientos médicos estándar, aunque no debe considerarse como una terapia que reemplaza ciertos tratamientos convencionales esenciales, como el desbridamiento de tejido necrotizado, sino como una terapia complementaria (220,222)

En la cura de heridas con la terapia de PRP se crea un ambiente interno biológico para la restauración de la homeostasis de los tejidos al proporcionar al área herida varias citocinas de señalización y factores de crecimiento que juegan un papel crucial en el proceso de reparación de los tejidos al regular la inflamación, estimular la angiogénesis y la síntesis junto con la remodelación de la nueva formación de tejido (97,223).

Las ventajas adicionales del tratamiento con PRP en la cicatrización de heridas cutáneas incluyen una metodología fácil, un tratamiento rentable, un efecto más duradero en comparación con la terapia convencional y un tratamiento seguro con un producto autólogo obtenido del propio paciente (224,225).

El uso de PRP tanto en humanos como en animales está aumentando constantemente, y sus propiedades curativas en heridas cutáneas se han referido en muchos estudios clínicos y experimentales con perros (226,227), caballos (228), humanos (223,229) y otras especies murinas y cuniculares (103,230). Las plaquetas juegan un papel importante en el proceso de curación de heridas gracias a las funciones hemostáticas y los niveles concentrados de factores de crecimiento y citocinas (231). Una mayor concentración de factores de crecimiento promueve la regeneración de las células epiteliales y endoteliales, estimula la angiogénesis, la deposición de colágeno y acelera el proceso de curación (226).

La primera aplicación clínica de la preparación rica en plaquetas se realizó en úlceras crónicas en las piernas y se observó una estimulación en la formación de tejido conectivo vascularizado (232).

El uso principal de PRP en ensayos clínicos en humanos está relacionado con afecciones crónicas, como las úlceras diabéticas, en las que la curación se ve afectada y se caracterizan por una inflamación persistente debido a un desequilibrio entre las citocinas proinflamatorias y antiinflamatorias y la baja concentración del factor de crecimiento o incluso debido al exceso de gérmenes reactivos al oxígeno (224). En este sentido, los factores de crecimiento y las citocinas juegan un papel crucial en el control del daño oxidativo (233).

La capacidad regenerativa de los FC en el PRP ayuda a acortar el tiempo de recuperación de heridas y diversas lesiones tisulares en delfines (234).

En línea con la declaración anterior, Babaei et al. (2017) observó la formación de tejido de granulación sano y el cierre completo temprano de cada herida en 150 pacientes con úlceras del pie diabético después de la aplicación tópica de PRP (235).

Las úlceras no cicatrizantes de diferentes etiologías se trataron con inyecciones de PRP autólogo subcutáneas junto con la aplicación tópica de gel de PRP y demostraron la seguridad y eficacia del PRP autólogo para las úlceras crónicas, apreciando una reducción significativa en el tamaño de la herida en todos los pacientes tratados sin efectos secundarios, y además una reducción en el dolor y la inflamación en el sitio de la lesión gracias a la supresión de liberación de citoquinas (223).

Resultados positivos similares se obtuvieron en heridas secundarias a infecciones necrotizantes de tejidos blandos después del uso tópico de PRP autólogo (236), e incluso en pacientes con SIDA con úlceras crónicas donde se reportó la neovascularización mejorada y la re-epitelización (237).

Además, un estudio realizado por Man et al. (2001) sugirió mejoras cuantitativas de la cicatrización de heridas en la piel humana después del tratamiento tópico de colgajos cutáneos con PRP autólogo (238).

Como se muestra, se han realizado varios estudios en humanos para el tratamiento de heridas crónicas, que muestran cierto grado de mejora, reflejado por la reducción del área de la herida, el volumen y el cierre de la misma (239–241).

Usando enfoques experimentales *in vitro*, Roubelakis et al. (2014) estudiaron el efecto de PRP sobre las propiedades de proliferación y migración de células madre mesenquimales (CMM) y fibroblastos de la piel, demostrando una inducción significativa de la capacidad de migración y la tasa de proliferación de CMM y fibroblastos. Además, también mostraron una curación acelerada de las úlceras después del tratamiento con apósitos de PRP y una neovascularización más rápida del área afectada en pacientes reales (242).

Resultados que también fueron obtenidos por otros investigadores en estudios aleatorizados, prospectivos y retrospectivos. Por lo tanto, el uso de plaquetas parece lograr una curación más rápida en comparación con los métodos tradicionales (243–245).

Un meta-análisis sobre el uso de PRP en heridas cutáneas en comparación con la terapia control, mostró que el PRP mejoró el proceso de curación de heridas y las úlceras mejoraron significativamente en lesiones agudas y crónicas pequeñas y difíciles de curar, ejerciendo actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* (220,246).

Además, se refiere en un estudio mencionado anteriormente que hay pocos trabajos que hayan evaluado el beneficio clínico del PRP en el envejecimiento de la piel que muestre una acción bioregenerativa, estimulando la proliferación de fibroblastos, aumentando los factores antiinflamatorios, los factores angiogénicos y las proteínas relacionadas con la remodelación de la matriz extracelular (111).

Pero en uno de ellos se reporta que el uso de PRP también puede considerarse como un procedimiento eficaz para el rejuvenecimiento de la piel facial, mostrando una mejora en la apariencia general, la flacidez de la piel y el estado de las arrugas (47). Y por otro lado, el papel del PRP en la promoción de la supervivencia del cabello también se ha demostrado (103).

En un estudio en el que los pacientes fueron tratados con láser de dióxido de carbono ablativo, el uso de PRP mostró una reducción del eritema y la aceleración del proceso de curación (247).

Las propiedades curativas de PRP se basan en el hecho de que las plaquetas en condiciones fisiológicas contienen una amplia variedad de factores de crecimiento con una función curativa crucial, que desempeñan un papel importante en la regeneración de tejidos (97).

El uso de PRP en modelos animales sigue siendo el “gold estándar” para probar nuevas terapias regenerativas y son útiles para su posterior aplicación clínica tanto en medicina veterinaria como humana. Existen varios estudios in vivo en perros y caballos sobre el uso de PRP en terapia de heridas cutáneas, como por ejemplo, Farghali et al. (2017) donde evaluaron el efecto de la infiltración de PRP autólogo subcutáneo en heridas cutáneas en perros. Con respecto a su evaluación clínica, se encontraron porcentajes de contracción de la herida y tasa de re-epitelización significativamente mayores. Además, se observó una mayor deposición de colágeno, aceleración de la maduración del tejido de granulación y una formación reducida de cicatrices gracias a las fibras de colágeno bien organizadas en comparación con las heridas control (248).

Por otro lado, se observó en otro estudio que el PRP estimula el colágeno tipo I, la matriz de metaloproteinasa I (MM-1), y aumenta los reguladores de la progresión del ciclo celular para acelerar la cicatrización de heridas, la mejor organización del colágeno dérmico en las heridas tratadas con PRP podría deberse a un aumento de la gelatinasa B, ya que parece ser crucial para el ensamblaje de la fibra de colágeno (249).

De acuerdo con el estudio antes mencionado, se apreció una diferenciación epitelial más rápida y una mejor organización del colágeno dérmico en otros dos estudios clínicos en heridas equinas (228,250).

Además, un estudio reciente realizado una vez más en perros y comentado anteriormente estudió la eficacia de la inyección intralesional de PRP en heridas cutáneas agudas, de esta forma las heridas tratadas con PRP mostraron una curación tanto macroscópica como microscópicamente más rápida que los grupos control, con angiogénesis y mejora de la formación de granulación superior en el día 7, además de una mayor deposición de colágeno, re-epitelización acelerada y diferenciación epitelial (226).

Por otro lado, Kim et al. (2009) estudiaron el efecto curativo del PRP autólogo con resultados muy positivos en un defecto de piel grande en un perro (251).

La curación de la piel por segunda intención ocurre cuando los bordes de la herida no se pueden aproximar como resultado de varios factores del paciente, como el deficiente suministro de sangre, el tamaño del de la herida, la presencia de infección, enfermedades sistémicas, entre otros, que resulta en una cicatrización de la herida retardada y/o deteriorada (252).

Se necesita una potente y alta formación de tejido de granulación promovida por la angiogénesis y la producción de colágeno por los fibroblastos, la epitelización y la contracción, para el cierre de heridas cutáneas por segunda intención (253).

Con este propósito, Karayannopoulou et al. evaluaron el uso de PRP intralesional en la curación de heridas por segunda intención de heridas cutáneas agudas en perros y destacó un aumento significativo en la perfusión tisular que ayuda a la formación de tejido de granulación y cicatrización de heridas mediante la atracción de nutrientes y oxígeno al área en cuestión, también se mostró una mejor arquitectura de colágeno en las heridas tratadas con PRP (254).

El uso de PRP con inyección local en la supervivencia de colgajos de piel en perros se evaluó en un estudio de investigación realizado por los mismos autores mencionados en el estudio anterior (255).

Tanto en medicina humana como en veterinaria, una de las principales complicaciones en los colgajos de piel es la necrosis en su parte más distal, principalmente debido a la vascularización y al suministro de sangre insuficiente. Los resultados del presente estudio mostraron que la supervivencia del colgajo mejoró significativamente en los colgajos tratados con PRP en comparación con los controles y también se apreció una disminución del edema (256).

El PRP también mejoró la supervivencia de colgajos cutáneos isquémicos en ratas (257,258). Resultados similares fueron observados por Lee et al. (2008) en conejos, con mayores tasas de epitelización y angiogénesis, junto con una regresión del proceso inflamatorio agudo y la formación de tejido de granulación (230).

Además, utilizando el PRGF System® en un estudio experimental en conejos, Molina-Miñano et al. (2009) observaron una aceleración significativa del proceso de re-epitelización y una reducción significativa del proceso de inflamación en el área herida (259).

Finalmente se sugiere que el PRP desempeña un papel fundamental en la expansión del tejido y la proliferación de la piel, mejorando la proliferación celular, la síntesis de colágeno y la neovascularización (260).

También se ha informado del uso combinado de PRP con otros tratamientos para ofrecer mejores resultados.

En línea con esto, Lian et al. (2014) mostró un efecto sinérgico cuando el PRP se asoció con células madre mesenquimales derivadas de médula ósea (261).

Del mismo modo, Park et al. (2017) describieron una mejor cicatrización de heridas en PRP + hidrogel en ratones en comparación con las heridas control, lo que resulta en un acortamiento significativo del período de curación y una mayor angiogénesis (262).

La miel de Manuka (MM) también es conocida por su capacidad inherente de curación de heridas, un estudio *in vitro* fue diseñado para determinar la respuesta de los fibroblastos, células endoteliales y macrófagos cuando se somete a medios de cultivo complementados con MM, PRFC o una combinación de ambos, y se demostró un mayor aumento en la actividad celular en presencia de PRFC + MM, siendo los fibroblastos las células que responden más positivamente (263).

El campo de la medicina regenerativa ha aumentado constantemente en los últimos años proporcionando una comprensión más específica de los mecanismos de curación de heridas cutáneas. Sin embargo, existen algunos problemas relacionados con el uso de PRP en varios campos médicos que aún no están claros. Se requiere establecer una descripción gradual del protocolo de preparación de PRP para obtenerlo de alta calidad y, por lo tanto, una estandarización clara para permitir la comparación entre estudios y permitir la reproducibilidad. La cuantificación e identificación de plaquetas y linfocitos como el resto de la composición de la muestra de sangre inicial y el producto final también son deseables junto con los métodos de centrifugación y activación para obtener la mejor calidad de PRP. También hay una falta de información sobre los resultados a largo plazo de la herida cutánea usando PRP. Además, se necesitan estudios controlados con tamaños de muestra suficientes para demostrar la eficacia de PRP para tratar heridas.

Y para finalizar, refiriendonos al futuro de las curas de heridas, en las que las células madre con sus propiedades únicas para auto-regenerarse y diferenciarse en otras células están emergiendo como un candidato prometedor para el tratamiento de heridas agudas y crónicas.

El papel de las células madre en el proceso de curación de heridas está siendo ampliamente investigado por su capacidad de curación en el tratamiento de las heridas cutáneas.

Específicamente, las células madre mesenquimatosas (CMM) están involucradas en cada fase del proceso de curación de la herida, y también influyen en la capacidad de la herida para progresar más allá de la fase inflamatoria y no regresar a un estado de herida crónica, lo que aumenta su interés en el tratamiento de la herida crónica (264,265).

5.5. La Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos (FRPL)

5.5.1. Concentrados de plaquetas: del plasma rico en plaquetas a la fibrina rica en plaquetas.

El plasma rico en plaquetas (PRP) se desarrolló por primera vez a principios de la década de los 70 y se hizo popular en la década de los 1980 (132). La primera generación de PRP se introdujo mezclando la sangre recogida con trombina y calcio en un volumen alto, lo que resultó en plaquetas activadas atrapadas dentro de una red de fibrina, desde entonces, han surgido diferentes protocolos de preparación de plaquetas que comúnmente se aíslan mediante un proceso de centrifugación de doble. La primera centrifugación separa los glóbulos rojos del plasma y la capa leucocitaria. A partir de entonces, se recoge el fragmento de plaquetas y en un segundo ciclo de centrifugado se separa el plasma pobre en plaquetas para generar el PRP, produciendo un concentrado de plaquetas con hasta 6 - 8 veces la concentración de factores de crecimiento en comparación con la sangre basal (266).

Se ha demostrado que estas plaquetas segregan altos niveles de sustancias bioactivas que se difunden lentamente alrededor de la herida circundante, lo que facilita la regeneración de los tejidos (128,199,267–269). Desde entonces, varios grupos de investigadores han realizado muchos avances en el campo de la medicina, y han demostrado que el PRP puede mejorar aún más la cicatrización de heridas quirúrgicas, ya sean blandas o tejidos duros (153,267,270). A pesar de su uso generalizado, uno de los inconvenientes referidos es el uso de anticoagulantes que retrasan los sucesos normales de cicatrización de heridas.

Debido a estas limitaciones, la investigación de Choukroun et al. (2006) se centró en el desarrollo de un concentrado de plaquetas de segunda generación sin utilizar factores anticoagulantes. De esta manera, desarrolló la fibrina rica en plaquetas y leucocitos (FRPL) que debido a sus propiedades mejora la regeneración de tejidos, la cicatrización de heridas, protege la herida de infecciones y promueve la angiogénesis en la zona afectada (271–275).

En el primer artículo publicado por Choukroun et al. (2006), describe la forma de obtener la fibrina y la comparan con otros biomateriales indicando que por su arquitectura y por la misma composición con fibrina y sin anticoagulantes el nuevo biomaterial es ya en sí un biomaterial particularmente favorable para mejorar el proceso de curación (271).

La ausencia de anticoagulante conlleva la activación en unos minutos la mayoría de las plaquetas al contactar con las paredes del tubo y la activación de las cascadas de coagulación. El fibrinógeno se concentra inicialmente en la parte superior del tubo, antes de que la trombina que circula en la muestra lo transforme en fibrina, y después se obtiene un coágulo de fibrina en la zona media del tubo, justo entre los glóbulos rojos en la parte inferior y el plasma sin células en la parte superior, de manera que las plaquetas se sitúen atrapadas masivamente en las mallas de fibrina (271).

El éxito de esta técnica depende completamente de la velocidad de aplicación de la técnica para recolectar la sangre y la transferirla del tubo a la centrifugadora, de hecho, sin anticoagulante, las muestras de sangre comienzan a coagularse casi inmediatamente al entrar en contacto con el vidrio del tubo, y se requieren unos pocos minutos de centrifugación para concentrar el fibrinógeno en la parte media y superior del tubo. El manejo rápido es la única forma de obtener un coágulo de FRPL clínicamente utilizable. Si la duración requerida para recolectar sangre y lanzar la centrifugación es demasiado larga, ocurrirá una falla: la fibrina se polimerizará de manera difusa en el tubo y solo se obtendrá un pequeño coágulo de sangre sin consistencia (271).

Finalmente establecen el protocolo de obtención de la siguiente manera (271):

- Extracción de la sangre en un tubo de vidrio de 10 ml.
- Centrifugación durante 10 minutos a 3000 revoluciones por minuto (rpm).
- Se saca el coágulo del tubo y se deja sobre una lámina de metal estéril y posteriormente se aplica al paciente.

Dohan, et al. (2006) junto con Choukroun en su segunda publicación sobre la PRFL realizan su primer análisis bioquímico de la FRPL, en este, indican que este biomaterial consiste en un ensamblaje íntimo de citoquinas, cadenas glicánicas y glicoproteínas estructurales atrapadas dentro de una red de fibrina de polimerización lenta, y demuestran que los componentes bioquímicos de la FRPL tienen efectos sinérgicos bien conocidos en los procesos de curación, como la función de la fibronectina, como guía de proliferación y migración celular.

Además potencia los efectos estimulantes de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas, por lo que, estos datos preliminares implicaban que el FRPL no solo sería una nueva generación de gel de plaquetas, sino un biomaterial de curación concentrado completamente utilizable (272).

En su tercer y cuarto artículos sobre la FRPL Dohan, Choukroun et al. (2006) observaron que la FRPL no era solamente un concentrado de plaquetas sino también un nódulo inmune capaz de estimular mecanismos de defensa y que era probable que la regulación inflamatoria observada en los sitios quirúrgicos tratados con FRPL fuese el resultado de la liberación progresiva y controlada de las citoquinas atrapadas en la red de fibrina durante la degradación de esta matriz inicial (273,274).

La experiencia clínica de los estudios de Dohan et al. (2006) confirmó que la FRPL se puede considerar como un biomaterial curativo y cuenta con todos los elementos necesarios que permiten una curación óptima, estos elementos consisten en una matriz de fibrina polimerizada lentamente en una estructura tetra-molecular, la incorporación de plaquetas, leucocitos y citoquinas, como elementos fundamentales, y la presencia de células madre circulantes (274).

La FRPL, como hemos comentado anteriormente, contiene glóbulos blancos, y estas son células necesarias e importantes durante el proceso de cicatrización de heridas (268,276–280). Y, dado que los leucocitos, incluidos los macrófagos y los neutrófilos, son uno de los primeros tipos de células encontrados en sitios lesionados, su función también incluye fagocitar desechos, microbios y tejido necrótico, evitando así la infección, además los macrófagos también son células clave y están implicados en la secreción del factores de crecimiento durante la cicatrización de heridas, incluyendo el factor de crecimiento transformante beta (FCT β), FCDP y el factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV).

Estas células, junto con los neutrófilos y plaquetas, juegan un papel clave en la curación de heridas y en combinación con sus factores de crecimiento secretados son capaces de facilitar la regeneración de tejidos, la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) y la prevención de infecciones (271–275,278).

Numerosos estudios han investigado el potencial regenerativo de la FRPL en diferentes situaciones médicas, y a continuación los clasificamos.

5.5.2. Estudios in vitro que evalúan los efectos de la FRPL sobre el comportamiento celular.

La evaluación de la FRPL en las células encontradas durante la regeneración de tejidos blandos y/o la cicatrización de heridas han sido investigadas en varios estudios in vitro.

De manera que se han estudiado los efectos de la FRPL sobre:

1. El comportamiento celular de los fibroblastos implicados en la cicatrización de heridas de tejidos blandos.
2. Células endoteliales.
3. Liberación del factor de crecimiento de varias formulaciones de PRF.

5.5.2.1. Efectos de la FRPL sobre el comportamiento celular de los fibroblastos en la cicatrización de heridas.

Los efectos de la FRPL sobre el comportamiento de los fibroblastos in vitro fueron estudiados por Lundquist et al. (2008) mediante fibroblastos dérmicos humanos descubriendo que el efecto proliferativo de la FRPL sobre los fibroblastos dérmicos era significativamente mayor que el adhesivo de fibrina y el FCDP BB.

Además, la FRPL promovió la liberación rápida de colágeno I y la liberación sostenida, además de la protección contra la degradación proteolítica de factores fibrogénicos que son importantes para la cicatrización de heridas (281).

En un segundo estudio *in vitro* realizado por Lundquist et al. (2013), la FRPL indujo el efecto mitogénico y migratorio en los fibroblastos dérmicos humanos cultivados y además demostraron que los fibrocitos podían crecer desde mallas de FRPL, favoreciendo aún más la curación de heridas y regeneración de tejidos blandos (282).

Posteriormente, Clipet et al. (2015) descubrieron que la FRPL promovió la supervivencia y proliferación de fibroblastos y queratinocitos (283).

En 2015, Vahabi et al. también confirmaron que la FRPL promovía la proliferación de fibroblastos gingivales a las 24 h; sin embargo, descubrieron que la proliferación gingival de fibroblastos era significativamente mayor en el plasma rico en el grupo de factores de crecimiento a las 48 y 72 h (284).

En resumen, se puede concluir que la FRPL puede promover la proliferación de fibroblastos dérmicos, fibroblastos gingivales y queratinocitos, así como también participar en la producción de colágeno 1.

5.5.2.2. Efectos de la FRPL sobre el comportamiento de las células endoteliales.

En un estudio donde se investigaron los efectos de la LPRF sobre la angiogénesis *in vitro*, Roy et al. (2011) investigó los efectos de la LPRF sobre las células endoteliales, descubriendo que la FRPL promovió la mitogénesis de las células endoteliales a través de la vía de activación de la proteína quinasa regulada por señales extracelulares.

De este modo, se observó que se producía una liberación lenta y constante de factores de crecimiento desde la matriz de FRPL y que liberaba en buena medida FCEV, factor de crecimiento conocido como responsable de la respuesta mitogénica endotelial; además en este estudio, los autores proporcionan alguna evidencia de probables mecanismos de acción de la matriz de FRPL en la curación de las úlceras crónicas (285).

5.5.2.3. Efecto de la FRPL sobre la liberación de factores de crecimiento.

Se ha observado durante mucho tiempo que la FRPL libera una serie de factores de crecimiento en el entorno circundante que contribuye a la cicatrización de heridas de tejidos blandos (272).

Sin embargo, Ghanaati et al. (2014), introdujo un nuevo protocolo para la FRPL (denominada FRPL Avanzada o FRPL-A) mediante el cual se disminuyeron las fuerzas centrifugas y se aumentaron los tiempos de centrifugado (286). Al disminuir las rpm mientras se aumenta el tiempo de centrifugación en el grupo FRPL-A, se encontró que una mayor presencia de granulocitos neutrófilos en la parte distal del coágulo contribuía a la diferenciación de monocitos a macrófagos, una célula responsable de favorecer la formación de nuevo hueso. Finalmente, se concluye que existe una gran importancia sobre el factor de crecimiento para el medio circundante variando las fuerzas G de centrifugación, pudiendo optimizarse mediante las variables tiempo y velocidad del protocolo de obtención (287,288).

En un estudio que investiga los factores de crecimiento liberados por los diferentes biomateriales como PRP, FRPL y FRPL-A, Kobayashi et al. (2016) cuantificó mediante la prueba de enzimas ligadas inmunoabsorbentes los factores de crecimiento FCDP-AA, FCDP-AB, FCDP-BB, FCT-beta, FCEV y factor de crecimiento similar a la insulina (FCI) que liberaban cada uno de estos biomateriales.

Concluyeron que cada uno de los biomateriales poseía una cinética de liberación diferente, siendo el PRP de una liberación más rápida y menos prolongada, la FRPL tenía una capacidad de liberación de hasta 10 días en cantidades sostenidas y la nueva generación FRPL-A poseía una liberación más alta incluso que la FRPL en general (289), pero aunque la liberación fue más alta en la FRPL-A, no se constató la liberación sostenida. Por otro lado, los factores de crecimiento más liberados en las diferentes formas fue de mayor a menor cantidad: FCDP-AA seguido de FCDP-BB, FCT- β 1, FCEV, y FCDP-AB (289).

Cada uno de estos factores de crecimiento estudiados por Kobayashi et al. (2016) tiene un papel específico en el tejido regeneración.

5.5.2.3.1. Factor de crecimiento derivado de plaquetas.

Los FCDP son reguladores esenciales de la migración, la proliferación y la supervivencia de los descendiente de las células mesenquimatosas, de acuerdo con la distribución de los receptores específicos de estas, pueden promover la estimulación en las células mesenquimales (290). Por esta razón, los FCDP desempeñan un papel fundamental en la fisiología de curación de las heridas y han sido aprobados por la FDA para la regeneración de diferentes lesiones en medicina y odontología, considerándose uno de los factores de crecimiento liberados más importantes secretados con el tiempo por la FRPL (291,292).

5.5.2.3.2. Factor de crecimiento transformante beta.

El FCT- β es una superfamilia de más de 30 miembros conocidos como agentes fibróticos, siendo el FCT- β 1 el mejor descrito en la literatura (293,294). Es un estimulador conocido de la proliferación de varios tipos de células mesenquimatosas, incluidos los osteoblastos y constituye el agente de fibrosis más poderoso entre todas las citosinas (294).

Desempeña un papel destacado en la síntesis de moléculas matriciales como el colágeno 1 y la fibronectina, ya sea por osteoblastos o fibroblastos y aunque sus mecanismos reguladores son particularmente complejos, el FCT- β 1 desempeña un papel activo en la cicatrización de heridas (293,294).

5.5.2.3.3. *Factor de crecimiento endotelial vascular.*

El FCEV es el factor de crecimiento más potente responsable de la angiogénesis de los tejidos (295). Tiene efectos potentes sobre la remodelación del tejido, y la incorporación de FCEV en varios biomateriales óseos ha demostrado un aumento en la formación de nuevo hueso, lo que apunta a unos efectos rápidos y potentes del FCEV (295,296).

5.5.2.3.4. *Factor de crecimiento similar a la insulina.*

El FCI es un regulador positivo de la proliferación y diferenciación para la mayoría de los tipos de células mesenquimatosas, que también actúan como agentes protectores de las células y aunque estas citocinas son mediadoras de la proliferación celular, también constituyen el eje principal de la regulación de la muerte celular programada (apoptosis), al promover señales de supervivencia que protegen a las células de muchos estímulos apoptóticos (297).

Aunque muchos factores de crecimiento conocidos están presentes dentro de los coágulos de la FRPL, sigue siendo interesante observar que se están investigando más moléculas de la FRPL por sus diversos roles en la curación de heridas.

Por ejemplo, Bayer et al. (2016) investigó por primera vez las propiedades contenidas en la FRPL que pueden contribuir a sus actividades antiinflamatorias y antimicrobianas, descubriendo que en los queratinocitos humanos, la FRPL promovió la expresión del péptido Human beta-defensin-2 (hBD-2), un agente antimicrobiano necesario en el tratamiento de heridas crónicas e infectadas (298).

En resumen, la mayor parte de estudios refieren un efecto positivo de la FRPL sobre el comportamiento de las células de tejidos blandos in vitro. Se ha descubierto que la FRPL puede aumentar la proliferación celular en varias células implicadas en la reparación de tejidos blandos, induciendo la actividad mitogénica de las células endoteliales que son importantes para la angiogénesis, que libera una serie de factores de crecimiento al entorno circundante de la lesión y posee propiedades que conducen a su actividad antiinflamatoria y antimicrobiana.

5.5.3. Estudios in vivo que evalúan los efectos de la FRPL en la regeneración de tejidos blandos y la cicatrización de heridas.

Varios estudios han evaluado los efectos de la FRPL en la cicatrización y regeneración de heridas de tejidos blandos pudiéndose clasificar en los siguientes subtítulos:

1. La cicatrización de heridas y la angiogénesis.
2. Fines plásticos y reconstructivos del oído.
3. Reparación uretral.
4. Isquemia miocárdica y remodelación ventricular

5.5.3.1. Efectos de la FRPL sobre la cicatrización de heridas y la angiogénesis in vivo

Los efectos de la FRPL sobre la cicatrización de heridas y la angiogénesis in vivo se han investigado sobre todo en la curación de heridas de tejidos blandos y la angiogénesis en varios modelos animales. En un estudio realizado por Roy et al. (2011) se evaluó la FRPL después de 14 días en una herida por escisión isquémica en cerdos, donde se realizaron biopsias de piel de 8 mm y se rellenaron con FRPL con otras biopsias control sin relleno, y se encontró que la FRPL mejoró significativamente la angiogénesis y la deposición de matriz de colágeno en heridas crónicas (285).

Suzuki et al. (2013) demostró además que la FRPL promovía una cicatrización más rápida de la herida y una angiogénesis en los tejidos dorsales de las ratas después de 14 días (299).

En otro estudio donde implantaron la FRPL de forma subcutánea en ratones, la FRPL se integró fácilmente con los tejidos circundantes y fue re-emplazándose parcialmente con fibras de colágeno II semanas después de la implantación (300).

Horii et al. (2014) concluyó que la FRPL mejoró significativamente la cicatrización de los tejidos blandos en la mucositis oral en ratas después de un período de curación de 14 días (301).

Por otro lado, Tunali et al. (2013) descubrió que la FRPL centrifugada en viales de titanio mejoró la cicatrización de heridas de tejidos blandos en una lesión del colgajo mucoperióstico en conejos 30 días después de la implantación, concluyendo que la preparación de la FRPL en tubos de titanio podría ser mejor que con los tubos de vidrio tras los resultados obtenidos (302).

En otro estudio diseñado para regenerar la glándula parótida después de su irradiación en cerdos mini, se trataron con FRPL y células madre derivadas de tejido adiposo por separado, acelerando ambos significativamente la reparación de las lesiones en el tejido blando maxilofacial en los mismos, pero el uso combinado de ambos biomateriales fue más efectivo después de un período de curación de 6 meses (303).

En 2014, se descubrió que la FRPL aumentaba la formación de colágeno tipo I en colgajos de la piel realizado en animales porcinos (304).

La totalidad de estos estudios muestran de manera convincente que la FRPL puede aumentar la cicatrización de heridas de tejidos blandos en varios modelos animales, y los informes documentan que esto se debe principalmente al aumento de la angiogénesis en el lugar de las lesiones.

5.5.3.2. Efecto de la FRPL para fines plásticos y reconstructivos en la auricular del oído in vivo.

En un estudio, el efecto de la FRPL se combinó con tejido adiposo para elaborar un injerto a modo de almohadilla grasa en la aurícula del oído, Liu et al. (2013) descubrieron que después de un período de curación de 24 semanas, el injerto de grasa junto con la FRPL en la aurícula del oído podría mejorarse con la FRPL como adyuvante terapéutico para estos procedimientos(305). Los exámenes histológicos mostraron que los gránulos adiposos implantados estaban bien injertados en el grupo que contenía la FRPL, mostrando una mayor densidad de microvasos 4 semanas después de la implantación ($p < 0.01$), a las 24 semanas después de la implantación, las tasas de reabsorción de tejido implantado en cada grupo también fueron significativamente diferentes, con la FRPL se obtuvo una menor reabsorción al final del estudio ($p < 0.01$) (305).

Los resultados de este estudio concluyeron en que la FRPL puede combinarse efectivamente con tejido adiposo como un adyuvante terapéutico ofreciendo una estrategia clínicamente utilizable para el aumento de tejido blando y la reconstrucción del oído.

5.5.3.3. Efectos de la FRPL en la reparación uretral in vivo.

El efecto de la FRPL se investigó sobre la reparación uretral en un estudio en animales, Soyer et al. (2013) en un estudio sobre una lesión uretral de 5 mm del pene en 18 ratas albinas, se usó el tratamiento con la FRPL resultando en un aumento significativo en la liberación del factor de crecimiento FCT- β y FCEV después de 24 h (306). Estos autores concluyeron que el uso de la FRPL después de la reparación uretral aumenta el receptor de FCT- β y la expresión del FCEV en el tejido uretral y puede considerarse una medida alternativa para mejorar el éxito de la reparación uretral (306).

5.5.3.4. Efectos de la FRPL en la reparación de la isquemia miocárdica y remodelación ventricular in vivo.

El efecto de la FRPL en la reparación de lesiones relacionadas con el corazón ha sido investigado en dos estudios, en primer lugar Sun et al. (2014) demostró que la combinación de la FRPL con células madre mesenquimatosas (CMM) derivadas de tejido adiposo mejoró la preservación de la función ventricular izquierda y atenuó la remodelación del ventrículo izquierdo en un estudio en ratas donde se indujo isquemia regional de miocardio por ligadura de la arteria coronaria izquierda(307).

Después, Chen et al. (2015), con CMM derivadas de tejido adiposo se añadieron en la estructura de la FRPL para investigar su efecto sobre la angiogénesis en los tejidos cardíacos y se encontró que la combinación de la FRPL con células adiposas promovió la angiogénesis, preservó la función cardíaca y redujo la remodelación del ventrículo izquierdo en el infarto agudo de miocardio en comparación con los controles (308).

Por lo tanto, se concluye en ambos estudios, que el uso adicional de la FRPL puede conducir a una mejor función cardíaca y angiogénesis; sin embargo, ambos grupos de investigación señalan el hecho de que se necesitan más estudios antes de que estos hallazgos puedan traducirse al uso clínico.

En conclusión, los estudios sobre la FRPL in vivo sugieren que el nuevo biomaterial mejora significativamente la regeneración de tejidos blandos, la cicatrización de heridas y la angiogénesis en varios modelos animales. Además, se descubrió que la FRPL podía promover la cicatrización de heridas de tejidos blandos en varios tipos de cicatrización de heridas al promover la angiogénesis local en los sitios lesionados, pudiéndose combinar con CMM de tejido adiposo para mejorar aún más la regeneración, y podría utilizarse con éxito para la reparación uretral, en la isquemia miocárdica y la remodelación ventricular.

5.5.4. Estudios clínicos que evalúan los efectos de la FRPL sobre la regeneración de tejidos blandos y/o la cicatrización de heridas.

Muchos son los estudios que han investigado los efectos de la FRPL sobre la curación/regeneración de tejidos blandos en varios escenarios clínicos.

El uso de la FRPL se ha utilizado para 20 procedimientos clínicos diferentes; 7 de los cuales provienen de la región oral y maxilofacial.

En el campo dental, el uso más utilizado de la FRPL fue para el tratamiento de alvéolos de extracción (309–312), recesiones gingivales (313–315), y cierre de heridas del paladar (316–318) con FRPL siendo utilizado también para la reparación de lesiones potencialmente malignas (319), regeneración de lesiones periodontales (320), tejidos gingivales hiperplásicos (321), y para la osteogénesis acelerada periodontal (322).

En otros procedimientos médicos, el uso de la FRPL se ha combinado principalmente para el manejo exitoso de las úlceras de las piernas con dificultad para curar, incluidas las úlceras del pie diabético, úlceras venosas y úlceras crónicas en las piernas (241,323–326).

Además, se ha investigado la FRPL para el tratamiento de las úlceras en las manos (327), lesiones faciales en tejidos blandos (328), cistectomía laparoscópica (329), en cirugía plástica para el tratamiento de pliegues naso-labiales profundos, para el volumen reducido en regiones de la cara, lesiones faciales y cicatrices del acné (330), inducción de colagénesis dérmica (110), reparación de prolapso vaginal (331), reparación de fístulas uretro-cutáneas (332,333), también para los procedimientos quirúrgicos de lipoestructuras (334), roturas crónicas del manguito rotador del hombro (335), y perforaciones agudas del tímpano traumáticas (336).

En general todos los estudios informaron tener efectos beneficiosos con la utilización de la FRPL durante la regeneración de tejidos blandos y curación de heridas y la angiogénesis en aplicaciones humanas.

Los concentrados de plaquetas, incluidos PRP y la FRPL, se han utilizado para procedimientos regenerativos en diversos campos de la medicina, incluida la odontología, la cirugía reconstructiva, la cirugía plástica y la dermatología, para administrar concentraciones aumentadas de factores de crecimiento directamente a los tejidos dirigidos.

Se ha demostrado que estos factores de crecimiento son quimiotácticos para varios tipos de células, incluidos monocitos, fibroblastos, células endoteliales, células madre y fibroblastos, creando un ambiente propicio en los tejidos para influir directamente en la proliferación y diferenciación de las células progenitoras (337). Además, los concentrados de plaquetas son tratamientos seguros, confiables y rentables para acelerar la curación de tejidos y para mejorar la eficiencia de la reparación de tejidos después de una lesión (338).

Por otro lado, en una revisión sistemática se refirió que los efectos de los concentrados de plaquetas mostraron hallazgos similares en la curación/formación ósea de cavidades de extracción y lesiones intraóseas (339,340). Aunque los resultados de este meta-análisis sugieren que los concentrados de plaquetas aumentan la formación de hueso y angiogénesis posteriormente a la extracción, concluyendo en que, estos resultados deben interpretarse con cautela debido a la falta de más estudios (339).

Se informó también de que es necesaria una estandarización de la el diseño experimental para una mejor comprensión de los verdaderos efectos del uso de concentrados de plaquetas para mejorar la cicatrización posteriormente a la extracción dental, y los estudios futuros sobre la regeneración de tejidos blandos con el uso de la FRPL deben diseñarse con controles apropiados y los hallazgos obtenidos deben interpretarse con precaución (339).

Una de las ventajas reportadas de la FRPL fue la capacidad de la red de fibrina que contiene leucocitos para resistir y combatir infecciones, en este aspecto las heridas crónicas difícil de cicatrizar son un gran desafío médico y la patogénesis de las heridas, por lo tanto, requiere nuevas opciones de tratamiento para mejorar los resultados clínicos (341).

Uno de los principales factores hasta la fecha hipotetizados para acelerar aún más las propiedades de cicatrización de heridas de la FRPL en comparación con PRP es el hecho de que contiene niveles más altos de glóbulos blancos que favorecen la liberación continua de factores de crecimiento, pero a pesar de estos hallazgos, todavía se sabe muy poco sobre las propiedades antibacterianas de la FRPL son, ya que son pocos los estudios que han investigado este fenómeno (341).

En resumen, se pueden extraer dos hallazgos principales de la literatura presente:

1. La literatura actualmente disponible respalda la regeneración de tejidos blandos utilizando la FRPL.
2. Hay una falta de controles apropiados para la mayoría de los estudios que arrojan evidencia concluyente de que la FRPL puede avanzar, ya que la mayoría de los estudios clínicos hasta la fecha resaltan el uso de la FRPL en una serie de casos o realizan un análisis retrospectivo sin comparación con grupos control apropiados. Por lo que es importante que en los nuevos estudios sobre FRPL como complemento de regeneración de tejidos blandos se diseñe con los controles necesarios para evaluar aún más el potencial regenerativo de la FRPL para la curación de heridas de tejidos blandos.

6. JUSTIFICACIÓN

La aplicación de fenol en la cirugía de la uña encarnada fue descrita por Boll en 1945 (63,342), desde entonces, diversos autores (67,343–345) han modificado la técnica variando la concentración del fenol y el tiempo de aplicación del mismo para la destrucción de la matriz ungueal, sin embargo en la actualidad se ha demostrado que la aplicación de fenol al 88% durante 4 minutos es la mejor forma de obtener dicho objetivo (75).

La fenolización segmentada de la matriz es uno de los procedimientos más extendidos para la onicocriptosis (76), aunque, presenta una serie de inconvenientes que permanecen sin resolver, tales como la cicatrización retardada, entre 3 y 6 semanas, debido a la destrucción excesiva de los tejidos y largos periodos de drenaje (71,346), reacción aguda a la sustancia química (347), su toxicidad asociada (347,348), y sus potenciales riesgos (349,350).

La aplicación local de fenol produce una cauterización de los vasos que disminuye el sangrado postoperatorio (351–353) y parece reducir el dolor debido a su efecto neurolítico sobre las fibras nerviosas (62,352,354,355).

Por otro lado, se han llevado a cabo numerosos ensayos clínicos para evaluar la efectividad de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas en el tratamiento de heridas crónicas y agudas (356–360).

En un estudio de revisión en 2008, realizado por Martínez-Zapata et al., se concluye en que la mayoría de los estudios realizados hasta el momento sobre plasma rico en plaquetas, pusieron de manifiesto la importancia de las plaquetas en el proceso de cicatrización, especialmente en la hemostasia, inflamación aguda, y las fases proliferativas (356).

Las plaquetas tienen una concentración natural de factores de crecimiento y otras sustancias que tienen el potencial de acelerar la curación (359). Las plaquetas contienen depósitos sustanciales de citoquinas, y especialmente factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF) y factor transformador del crecimiento beta (TGF- β). Estas sustancias ejercen su efecto sobre las células, actuando en todas las etapas de la cicatrización, especialmente en la hemostasia y fibroplasia temprana (358).

De la fracción de plasma rico en plaquetas se obtiene una preparación en gel denominado gel autólogo de plaquetas con alta resistencia a los fluidos orgánicos, que actúa como un tapón hemostático (361,362).

Actualmente, el gel de plaquetas autólogo (APG) se utiliza clínicamente en varias especialidades quirúrgicas, como la cirugía de la uña, la cirugía estomatológica, cirugía maxilofacial y cirugía cardiovascular para intentar mejorar la cicatrización de tejidos(76,77,363–365). Además el uso de APG para reducir equimosis, hemorragia y edema ha sido evaluado en estos ensayos y su eficacia ha sido demostrada (76,77,363–365).

La mayoría de los estudios coinciden en que la APG acelera el crecimiento vascular (323,366–369), aumenta la proliferación de fibroblastos (76,323,366–369) y la producción de colágeno (76,323,366–369), pero en cirugía de la onicocriptosis, no parece acelerar la epitelización (77).

En un estudio realizado por Zavadil et al. (2007), se menciona que los pacientes refirieron una disminución significativa del dolor después de la aplicación del hemoderivado (370); algunos autores han sugerido que los geles de plaquetas pueden reducir el dolor postoperatorio como resultado de que el APG incrementa todas las fases del proceso de curación de heridas dérmicas, pero pocos estudios han analizado esta variable con antelación mediante escalas objetivas de dolor (77,370–372).

La capacidad de modular la respuesta inflamatoria, y reclutar y activar los leucocitos en el sitio de la infección se ha atribuido a diversos factores de crecimiento derivados de las plaquetas. FCT- β 1, el factor de plaquetas más abundante, juega un papel crucial como modulador de la respuesta inflamatoria (373), tanto si la infección está presente como si no (374).

En estudios previos se ha usado el APG para las curas de la cirugía no incisional de la onicocriptosis, en estos estudios aunque existía diferencia entre el uso de APG y la cura estándar con nitrofurazona, a favor del APG, en aspectos como dolor post-operatorio y edema o inflamación, la diferencia en la cicatrización no fue estadísticamente significativa (76,77)

Por otro lado, Choukroun et al. (2006) desarrollaron una nueva técnica para la obtención de una fibrina rica en plaquetas y leucocitos (FRPL) (271–274). *Leukocyte and Platelet Rich Fibrin* es la denominación que presenta en la actualidad (L-PRF) en la literatura inglesa (375), y presenta un post-operatorio con menor dolor, inflamación e infección en cirugía odontológica (322), aumenta la proliferación de fibroblastos con respecto al PRP estándar (284), y acelera la cicatrización del tejido blando, con respecto al PRP estándar, en cirugía maxilofacial (312).

El estudio de la eficacia de la FRLP en pacientes con la uña del dedo gordo encarnada bilateralmente permite un diseño de investigación emparejado, la reducción de la variabilidad entre sujetos, y un tamaño de muestra más pequeño (376).

Para analizar la eficacia de la aplicación del FRLP en la cirugía de la uña encarnada del dedo gordo, se puede diseñar un ensayo clínico en el mismo paciente ya que este tipo de diseño ha sido utilizado previamente en ensayos similares con APG (76,77).

7. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

Por lo anteriormente citado, nos planteamos la siguiente pregunta:

¿La aplicación de la Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos (FRPL) mejorará el post-operatorio tras realizar matricectomía química con fenol?

8. HIPÓTESIS

Hipótesis Nula (H_0): La aplicación de FRPL en la matricectomía parcial usando fenol al 88% no mejora el proceso post-operatorio.

Hipótesis Alternativa (H_a): La aplicación de FRPL en la matricectomía parcial usando fenol al 88% mejora el proceso post-operatorio.

9. OBJETIVOS

9.1. Objetivo General:

Nuestro objetivo principal, entonces, es demostrar que la aplicación tópica de Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos (FRPL), durante la cirugía de la uña encarnada por métodos químicos, Técnica Fenol al 88%, obtiene una mejora post-operatoria en nuestros pacientes con respecto a las curas estándar con nitrofurazona.

9.2. Objetivos Secundarios:

Para evaluar la eficacia de la FRPL analizaremos los factores siguientes:

- Los días de cicatrización de la herida post-quirúrgica (Días hasta curación).
- La hemorragia post-operatoria (Ligera-Moderada-Abundante).
- El dolor post-operatorio (Escala Verbal Analógica).
- Inflamación post-operatoria (mm de circunferencia dedo intervenido pre y posquirúrgico).
- Presencia de infección (Parámetros Delphy).

10. MATERIAL Y MÉTODOS

10.1. Diseño de la Investigación.

Para evaluar la eficacia del L-PRF, se diseñó un ensayo aleatorizado, controlado a simple ciego. Los pacientes no sabían qué lado estuvo tratado con FRPL mientras que el cirujano sí sabía qué tratamiento se aplicó en cada pie. El grupo control estaba formado por los dedos con patología de onicocriptosis que fueron tratados con fenol al 88% y curas con pomada de nitrofurazona 0.2 g (Seid SA, Barcelona, España) en un excipiente de polietilenglicol. Su efecto terapéutico proviene de una combinación de su actividad antimicrobiana contra microorganismos gram-positivos y su capacidad de generar un ambiente húmedo que favorece las reacciones metabólicas regenerativas. El grupo experimental estaba formado por los dedos contralaterales de la misma persona y recibió tratamiento con fenol al 88% y curas con FRPL.

10.1.1. Aleatorización:

La asignación del tratamiento que recibió cada dedo del paciente se decidió al azar, se lanzó moneda, si salía cara se aplicaba pomada de nitrofurazona al dedo derecho y FRPL en el izquierdo, si salía cruz se aplicaba FRPL en el dedo derecho y nitrofurazona en pie izquierdo.

10.1.2. Protocolo:

10.1.2.1. Técnica anestésica:

Se anestesiaron ambos dedos con mepivacaina al 2% con un volumen de 2-3 mililitros por dedo, infiltrando el anestésico en ambos lados del dedo gordo.

10.1.2.2. Técnica del Fenol al 88%:

Se aplicó la técnica de cirugía ungueal para la eliminación química de forma segmentaria de la matriz ungueal. La técnica como cualquier otra en cirugía ungueal comenzó con la preparación del campo quirúrgico y la administración de anestesia local en el dedo a intervenir como describimos anteriormente, después se aplicó un torniquete en el dedo con cinta smarck o anillo compresor.

Posteriormente, se realizó con un cincel plano el despegado de la porción de las láminas a extraer (Fig.1) del dedo control y el experimental, después se cortaba la lámina despegada con alicata inglés (Fig.2) y se finalizó el corte hacia la matriz con hoja de bisturí del nº 15 o gubia nº2. Seguidamente con un mosquito curvo se pinzó la lámina a extraer y con un giro en dirección al interior de la lámina se extrajo la porción cortada.



(Fig.1) Una vez anestesiado el dedo, se procede a despegar la porción de lámina a eliminar.



(Fig.2) Se corta la porción despegada de lámina ungueal con alicata inglés.

Una vez extraída la uña, se coloca un hisopo impregnado con el Fenol al 88% o en su defecto una gasa empapada con la solución durante 4 minutos en la zona donde reside la matriz ungueal (Fig. 3) y posteriormente se aplicó suero fisiológico para lavar, se secó, se aplicó la cura determinada para cada dedo, nitrofurazona en pomada para el dedo control y FRPL para el dedo experimental, y se realizó un vendaje semicompresivo del dedo (Fig. 4).



Abreviaturas: Fig.=Figura

10.1.2.3. Técnica de obtención y aplicación de la FRPL:

En el caso de nuestra investigación, para la obtención y aplicación de la FRPL sobre el dedo experimental de nuestro paciente, teníamos que realizar un procedimiento específico paralelo a la técnica del fenol al 88%, que se aplicaba igual que en el dedo control. En primer lugar, una vez anestesiados los dedos y mientras se esperaba el efecto anestésico, se procedía a la extracción de sangre del brazo del paciente (Fig.5) y por otro lado se preparaba el campo quirúrgico.

Después de extraer la sangre se procedía al centrifugado de la muestra de sangre obtenida durante 10 minutos a una velocidad de 3000 revoluciones por minuto (rpm) (Fig.6).



(Fig.5): Se extrae la sangre del paciente para la preparación de la FRPL.



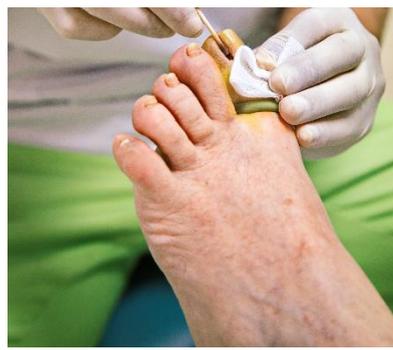
(Fig.6): Se centrifuga la sangre obtenida a 3000 rpm durante 10 min.

Abreviaturas: Fig.=Figura; FRPL=Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos; rpm=revoluciones por minuto; min.= minutos

Durante el proceso de centrifugado se realizaba la técnica de fenol al 88%, en la cual realizamos un despegado de la lámina ungueal mediante cincel plano, posteriormente cortamos la porción de la uña despegada con alicata inglés, y con un bisturí n°15 o gubia n°2 finalizamos el corte hasta la matriz (Fig. 7) y mediante un mosquito pinzábamos la porción y con un giro hacia adentro de la lámina retirábamos la uña que queríamos eliminar, después colocamos un hisopo o en su defecto una gasa impregnada con fenol al 88% durante 4 minutos en la zona donde se encuentra la matriz ungueal (Fig. 8), retirábamos el hisopo o la gasa y lavamos con suero fisiológico y se secaba.



(Fig.7): Se corta de la porción de lámina con alicate inglés.



(Fig.8): Se fenoliza la matriz durante 4 minutos con un hisopo impregnado de fenol al 88%.

Abreviaturas: Fig.=Figura

Mientras se realizaba la técnica de fenol al 88%, un ayudante extraía el coágulo de FRPL (Fig.9) y lo colocaba en una lámina metálica estéril (Fig. 10) para posteriormente aplicarla al paciente (Fig.11). Y por último, vendamos el dedo de forma semicompresiva y se procedió a las curas según describimos a continuación.



(Fig.9): Se extrae el coágulo de FRPL del tubo.



(Fig.10): Se prepara en una lámina metálica.



(Fig.11): Se coloca la FRPL al paciente.

Abreviaturas: FRPL=Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos; Fig.= Figura

10.1.2.4. Procedimiento de curas.

Los tratamientos se repitieron a las 48 horas post-quirúrgicas, y la pomada se aplicó cada día después de la primera cura, durante 5 días consecutivos, en el grupo control. En el grupo experimental se hizo una primera cura a las 48 horas, colocando otro coágulo de FRPL en la herida quirúrgica (Fig.8) y después se observó a los 5 días desde la misma, es decir al séptimo día postquirúrgico. Después del séptimo día se aplicó una solución antiséptica de povidona yodada al 10%, Betadine (Meda Pharma, SAU, Madrid, España) todos los días hasta curación completa. Los pacientes se observaron 48 horas después del procedimiento quirúrgico y a los 5 días siguientes por el mismo cirujano en ambos grupos. A partir del séptimo día los pacientes se vieron aproximadamente cada 48 horas hasta que se completó la recuperación (76,77).

10.1.3. Mediciones:

Para evaluar la eficacia del FRPL analizamos las variables siguientes: la hemorragia post-operatoria, el dolor post-operatorio, inflamación post-operatoria, los días de cicatrización de la herida post-quirúrgica y presencia de infección.

Para la evaluación cualitativa y comparativa de la hemorragia, se establecieron tres categorías según el estudio anterior con PRP (76):

- **LIGERO:** El apósito no mostraba manchas externas; sólo el polipropileno del apósito en contacto con la herida y la gasa en contacto con el apósito.
- **MODERADO:** El apósito podía mostrar ligeras manchas en la parte de atrás o los lados; el apósito no adherente podía estar completamente manchado, y la gasa en contacto con él podía estar en parte manchada.

- **ABUNDANTE:** El vendaje externo podía presentarse completamente o casi completamente de colores.

La presencia o ausencia de hemorragia secundaria se estableció por el color del apósito (de color rojo oscuro, vendaje húmedo o rojo oscuro, vendaje seco) para saber si se había producido un retraso o fracaso parcial de los mecanismos de hemostasia de 15 a 30 minutos después de retirar el torniquete y si un golpe o traumatismo podía explicarlo (76).

Para medir el dolor postoperatorio, se utilizó la escala verbal analógica (EVA) (377), esta escala tiene una fiabilidad valorada mediante el Índice de Correlación Intraclase (ICC) de 0.97 [95% CI = 0.96 to 0.98] demostrando una gran fiabilidad para su uso en la valoración del dolor agudo. Los puntos de la escala fueron de 0 (sin dolor) a 10 (dolor extremo) (377).

El dolor postoperatorio se trató con 500 mg de paracetamol, Termalgin (Novartis Farmacéutica SA, Barcelona, España), por vía oral cada 6 a 8 horas (no más de 4 g / día) cuando el dolor medido con la escala era inferior a 5 y 1000 mg cuando presentaba más de 5. Cada paciente se instruyó para registrar el nivel de dolor, y cómo correlacionar el consumo del medicamento analgésico al mismo; el fármaco analgésico siempre se tomó después del registro del dolor (77). Los pacientes completaron un cuestionario donde la intensidad del dolor se puntuaba de acuerdo con la escala en cada uno de sus pies dentro de los 3 días siguientes a la cirugía (77). Por último se cuantificaron los miligramos que el paciente había tomado hasta el alta.

Por otro lado, es verdad que al tomar la analgesia influye en el dolor de ambos dedos, pero en la hoja de recogida de datos, donde los pacientes recogían la escala visual analógica sobre su dolor en cada dedo, se les explicó que marcaran la dosis para el dedo que ellos creían personalmente que debían tomar la analgesia.

Es verdad también que una vez tomada la analgesia, es más complicado evaluar el dolor. Para este caso se les explicó también que debían tomar los registros del dolor siempre en el mismo rango horario que el primer día. Por lo que la variación interpersonal se reducía siendo que la dosis en miligramos era la misma para ambos dedos y la misma persona.

Para el análisis de la inflamación postoperatoria, se midió la circunferencia digital (en milímetros) usando una regla milimetrada flexible (Devon Industries 1-800, Inc., Devon, PA) a nivel del pliegue proximal de la uña. Una medida de la circunferencia digital se tomó antes del procedimiento y otra a las 48 horas (fase inflamatoria aguda de la cicatrización) post-quirúrgica en ambos grupos; un solo clínico realizó todas las mediciones (77).

Para limitar la subjetividad en la evaluación de tiempo de recuperación, se consideraron indicadores clínicos de recuperación, como se hizo en los estudios previos con PRP (76,77), en ellos se consideraba que la herida estaba totalmente curada cuando presentaban ausencia de drenaje (sin exudado evidente), cuando el tejido de granulación estaba cubierto por una costra (sin evidencia de tejido de hiper-granulación), cuando no presentaban signos de tejido eritematoso ni evidencia de infección, y el paciente era capaz de utilizar el calzado habitual.

Todos los criterios tenían que cumplirse antes de que se alcanzara la recuperación completa. A partir del quinto día, cuando los participantes eran objeto de revisión, dos clínicos experimentados, a doble ciego, es decir, no sabían qué pie llevaba el correspondiente tratamiento, evaluaron la herida de forma independiente y registraron sus valoraciones, las cuales se pusieron en común posteriormente. De esta forma, se consideró totalmente recuperado cuando los clínicos acordaron con independencia que se habían cumplido todos los criterios.

El tiempo de recuperación fue determinado midiendo el intervalo entre la aplicación del primer apósito (en el momento de la cirugía) y el tiempo en el que se consiguieron completamente los indicadores clínicos.

Los pacientes anotaron todas estas variables para cada dedo y fueron cegados en cuanto a qué pie recibía el tratamiento, además se cegaron todas las partes implicadas en los cuidados post-operatorios, con la excepción del cirujano. Esto incluyó las enfermeras que recogían los cuestionarios de dolor.

10.3. Población a estudio

Las muestras se obtuvieron de pacientes con uñas encarnadas en el dedo gordo de ambos pies que requirieron tratamiento en la Clínica Mon Salut en Canals (Valencia) desde el mes de octubre de 2018 hasta finalizar selección de los 20 pacientes necesarios en Marzo de 2019.

10.4. Criterios de inclusión:

- Personas mayores de 18 años.
- Diagnosticados de onicocriptosis.

10.5. Criterios de exclusión:

- Personas mayores de 65 años.
- Personas con Diabetes Mellitus.
- Personas con heridas abiertas en los dedos del pie.
- Personas con antecedentes personales de alergias a cualquiera de los ingredientes de las soluciones empleadas o contraindicación para su uso.

- Personas con dermatitis atópica o cualquier otra alteración de la piel de los dedos del pie que no garantice su continuidad.
- Personas con enfermedad sistémica mal controlada o que contraindique la intervención.
- Personas con enfermedad periférica vascular.
- Personas con incapacidad cognitiva y/o motora para poder seguir las instrucciones postquirúrgicas.
- Personas en tratamiento con anticoagulantes.
- Personas que no acepten ni firmen el consentimiento informado.

10.6. Cálculo del tamaño muestral:

El tamaño de la muestra se calculó con el software ENE 3.0 (GlaxoSmithKline, Universidad Autónoma de Barcelona, España) tomando como referencia un estudio en el que se investigó la diferencia de hemorragia post-quirúrgica entre la matricectomía parcial por métodos no incisionales (Suppan I) y curas con pomada de Nitrofurazona y curas con PRP(76). Al finalizar el estudio el porcentaje de hemorragia descrito por estos autores fue de 93,9% por lo que nosotros estimamos que es clínicamente significativo reducir este porcentaje a un 50%, y para un test de 2 colas, un error α de 0,01, y una potencia de análisis deseada de 80% ($\beta = 20\%$) se obtuvo para nuestro estudio un tamaño muestral mínimo de 19 pacientes a incluir tanto en el grupo control como en el grupo de intervención.

10.7. Análisis Estadístico

Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias y porcentajes.

Las variables cuantitativas se describen como su media, desviación estándar (DE), rango y con un intervalo de confianza del 95%.

Se realizó la prueba de ShapiroWilk para determinar si las variables cuantitativas del estudio provenían de una distribución normal.

Se realizó el cálculo el Test Exacto de Fisher con un intervalo de confianza del 95% y un valor de significación estadística $p < 0,05$ para comparar las variables cualitativas de los dos grupos del estudio.

Se usó la t de student pareada o la prueba no paramétrica de Wilcoxon para muestras relacionadas para comparar los resultados obtenidos en las variables cuantitativas y se utilizará la t de student independiente o el test no paramétrico con la prueba de U de Mann-Whitney (Wilcoxon-Mann-Whitney) para establecer si hay diferencias en las variables cuantitativas entre los dos grupos a estudio.

Los datos se analizaron con un software estadístico IBM SPSS Statistics, versión 19 (SPSS Inc, Chicago, Illinois). El nivel estadísticamente significativo se fijó en una $p < 0,05$, con un intervalo de confianza del 95%.

10.8. Aspectos Éticos

Se han seguido los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos de la Declaración de Helsinki adoptada en la 18ª Asamblea de la Asociación Médica Mundial (AMM) (Helsinki, Finlandia, Junio 1964) (378), modificada en la 52ª Asamblea General (Edimburgo, Escocia, Octubre 2000) (379), con nota de clarificación del párrafo 29 (Asamblea General de la AMM, Tokio 2004) (380) última versión revisada en la 59ª Asamblea General de la AMM realizada en Seúl (Corea, Octubre 2008) (381) y los sujetos dieron su consentimiento informado escrito al objeto de que conociesen que se estaba realizando un estudio sobre la hemorragia del procedimiento, el dolor presentado por el paciente en cada una de las intervenciones, la inflamación postquirúrgica del procedimiento y el tiempo de cicatrización de la herida quirúrgica que presentaba un paciente tras la intervención con cada uno de los agentes terapéuticos empleados en las curas.

El estudio contó con la autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) N° EudraCT 2016-002048-18 y el informe favorable del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital San Carlos de Madrid N° EUDRACT: 2016-002048-18 Código Interno: 16/401-R.

Durante el proceso de autorización del ensayo clínico se elaboraron los consentimientos informados y las recomendaciones en documentos imprimibles para la lectura y firma de los pacientes. Y han sido aprobados por el CEIC.

Los pacientes fueron informados por el podólogo, el podólogo ayudante y la enfermera del proceso al que iban a ser sometidos y se encargaron de recoger los documentos pertenecientes al mismo y a comprobar su correcta funcionalidad. No se precisó de monitor externo.

La clínica precisó contratar un Seguro de Responsabilidad Civil especial para el ensayo, durante el tiempo necesario hasta finalizar la obtención de la muestra completa, y tanto el investigador como las instalaciones donde se desarrolló el ensayo clínico tuvieron que presentar sus acreditaciones para el correcto desarrollo del mismo en el CEIC, siendo todo lo anterior aprobado con código interno del CEIC 16/401-R.

Por último se pidió al CEIC que catalogara el ensayo clínico como de bajo nivel de intervención, aprobándose también.

Con todo lo expuesto, el "Ensayo Clínico Aleatorizado, Simple Ciego, para determinar la eficacia y seguridad de la fibrina rica en plaquetas y leucocitos en las curas de las matricectomías químicas con fenol al 88% en sujetos con onicocriptosis comparado con curas estándar con pomada de Nitrofurazona 0.2 g (Seid SA, España)" fue aprobado adecuadamente por los organismos que rigen el desarrollo de los ensayos clínicos en el Estado Español y la Comunidad Europea.

Para finalizar, el estudio cumplió la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

11. RESULTADOS

En la tabla 1 observamos los valores estadísticos de normalidad tanto para el grupo control como para el experimental de las variables edad, peso, talla, índice de masa corporal (IMC), tiempo de curación en días de la herida quirúrgica, hemorragia postquirúrgica, inflamación, el dolor postquirúrgico del primer, segundo y tercer día y la analgesia en miligramos, calculados mediante el test de Shapiro-Wilk.

Observamos que las variables en el grupo control; tiempo de curación, hemorragia postquirúrgica, inflamación, dolor día 1, día 2, día 3 y analgesia, no poseen una significación estadística de normalidad ($P < 0,05$), y la edad, peso, talla y IMC, obtendrían un significación de normalidad ($P > 0,05$).

En el grupo experimental, las variables peso, IMC, tiempo de curación, hemorragia postquirúrgica, inflamación, dolor postquirúrgico del día 2, día 3 y analgesia no poseen una significación de normalidad ($P < 0,05$), mientras que a diferencia del grupo control el día 1 de dolor postquirúrgico obtendría valores de significación de normalidad, así como las variables edad y talla de los pacientes que también poseerían una significación de normalidad ($P > 0,05$).

Tabla1: Normalidad de las variables estudiadas para grupo control y experimental.

	GRUPO CONTROL	p Valor *	GRUPO EXPERIMENTAL	p Valor *
	TOTAL (n=20)		TOTAL (n=20)	
	E	P	E	P
Edad	0,918	0,092	0,939	0,226
Peso	0,924	0,118	0,899	0,039
Talla	0,951	0,386	0,200	0,279
IMC	0,049	0,061	0,010	0,010
Tiempo de curación (DIAS)	0,772	<0,001	0,874	0,014
Hemorragia postquirúrgica 48h	0,433	<0,001	0,7200	<0,001
Inflamación 48h (mm de circunferencia de dedo)	0,887	0,024	0,898	0,038
Dolor Día 1	0,885	0,021	0,922	0,110
Dolor Día 2	0,791	0,001	0,780	0,001
Dolor Día 3	0,565	<0,001	0,634	<0,001
Analgesia (mgr)	0,716	<0,001	0,629	<0,001

Abreviaturas: IMC, índice de masa corporal; mgr = miligramos; n= número de sujetos;

E, Estadístico P, Significación. Significación estadística para un valor $p < 0,05$, con un intervalo de confianza del 95%, * Shapiro-Wilk

En la tabla 2 se muestran los datos demográficos de la muestra estudiada por género y muestra total, expresados con la media \pm DS y el IC95% de cada variable. Las variables edad, altura, peso e IMC se han comparado según el género de los participantes. Se puede observar que los resultados de la edad son de $48,63 \pm 14,68$ (38,45-58,79) años para los hombres y de $44,78 \pm 11,63$ (40,75-48,81) años para las mujeres, encontrándose que no hay diferencia estadísticamente significativa entre ambos ($p=0,432$).

Respecto a la variable Peso observamos que los valores para el grupo hombres es de $72,88 \pm 8,25$ (67,16-78,59) kg. y los de las mujeres $63,66 \pm 7,81$ (60,95-66,36) kg., encontrándose una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos con un valor $p=0,005$.

Con la variable altura nos pasa lo mismo que con la variable Peso, obteniendo unos valores para el grupo de los hombres de $1,80 \pm 0,06$ (1,76-1,85) cm. y de $1,63 \pm 0,06$ (1,60-1,66) cm. encontrándose una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos con un valor $p=0,001$.

Sin embargo, si observamos los datos demográficos de IMC obtenemos unos valores para el grupo de los hombres de $22,41 \pm 2,18$ (20,91-23,92) y de $23,89 \pm 3,99$ (22,50-25,27) y en este caso no existen diferencias estadísticamente significativas ($p=0,324$).

Las diferencias observadas pueden considerarse normales como consecuencia de la diversa y diferente antropometría entre hombres y mujeres.

Tabla 2. Características sociodemográficas de la población de estudio, atendiendo al sexo.

Variable: Sexo	Hombre (n=4) Media±DE (IC95%)	Mujer (n=16) Media±DE (IC95%)	Total (n=20) Media±DE (IC95%)	p valor*
Edad (años)	48,63±14,68 (38,45-58,79)	44,78±11,63 (40,75-48,81)	45,55±12,19 (41,77-49,33)	0,432*
Peso (kg)	72,88±8,25 (67,16-78,59)	63,66±7,81 (60,95-66,36)	65,50±8,64 (62,82-68,18)	0,005*
Altura (cm)	1,80±0,06 (1,76-1,85)	1,63±0,06 (1,60-1,66)	1,66±0,10 (1,63-1,69)	0,001**
IMC	22,41±2,18 (20,91-23,92)	23,89±3,99 (22,50-25,27)	23,59±3,72 (22,44-24,74)	0,324*

Abreviaturas: DE, Desviación estándar; kg, kilogramos; cm, centímetros; IC95%,

Intervalo de Confianza al 95%, * U de Mann-Whitney, ** t de student independiente.

Significación estadística para un valor $p < 0,05$ con un intervalo de confianza del 95%.

En la tabla 3 se muestran los resultados de las variables cuantitativas del estudio atendiendo al tipo de tratamiento en el grupo control con pomada de nitrofurazona 0,2 gramos y en el grupo experimental con la Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos (FRPL) expresados con la media \pm Desviación Estándar, los Límites inferior y superior (LI-LS), la mediana y el rango intercuartil (RI) de cada variable.

En el grupo control se observa que el tiempo de curación tiene una media de $22,10 \pm 2,69$ (20,92-23,28) con una mediana de 21 (2) días, y en el grupo experimental la media del tiempo de curación es de $14,53 \pm 1,66$ (13,62-15,08) con una mediana de 14 (2) días existiendo diferencias estadísticamente significativas con un valor $p < 0,001$.

Para la variable hemorragia postquirúrgica se ha empleado la conversión a cifras siguiendo el siguiente modelo, (leve=0), (moderado=1), y (abundante =2) y observamos que tiene una media de $1,25 \pm 0,55$ (1,01 – 1,49) con una mediana de 1,00 (1) en el grupo control y una media de $0,15 \pm 0,37$ (-0,01- 0,31) con una mediana de 0,00 (0) en el grupo experimental, de modo que existen diferencias estadísticamente significativas con un valor $p < 0,001$.

En cuanto a la inflamación postquirúrgica medida en milímetros, se observa que en el grupo control resulta una media de $85,00 \pm 3,81$ (83,33 – 86,67) y una mediana de 84,50 (3,5) mm, y en el grupo experimental resulta un media de $84,20 \pm 5,54$ (81,77 – 86,62)84,50 (3,25) con mm, no existiendo en este caso diferencias estadísticamente significativas para esta variable con un valor $p = 0,925$.

Respecto a la variable dolor postquirúrgico del primer día, observamos que resulta una media de $3,30 \pm 2,66$ (2,14 – 4,46) con una mediana de 3,00 (4,25) para el grupo control y una media de $3,30 \pm 2,54$ (2,19 – 4,41) con una mediana de 3,00 (2,5) para el grupo experimental, no obteniendo una significación estadística con un valor $p = 1,000$.

Para la variable dolor postquirúrgico del segundo día, observamos que resulta una media de $1,65 \pm 1,84$ (0,84 – 2,46) y una mediana de 1,00 (3,25) para el grupo control y una media de $1,45 \pm 1,82$ (0,65 – 2,25) con una mediana de 0,50 (2,25), de manera que no se obtienen diferencias estadísticamente significativas con un valor $p=0,758$.

En el último día registrado de dolor, la variable dolor postquirúrgico del tercer día, observamos que el grupo control posee una media de $0,60 \pm 1,23$ (0,06 – 1,14) con una mediana de 0,00 (1) y para el grupo experimental resulta una media de $1,05 \pm 1,90$ (0,22 – 1,88) y una mediana de 0,00 (1,25), no obteniendo tampoco diferencias estadísticamente significativas para este tercer día con un valor $p=0,678$.

Por último, para la variable analgesia expresada en miligramos, observamos que el grupo control tiene una media de $725 \pm 1057,24$ (261,65 – 1188,34) con una mediana de 0 (1000) mg. y el grupo experimental tiene una media de $325 \pm 591,05$ (65,96 – 584,03) con una mediana de 0 (500) mg. No mostrando en los resultados una diferencia estadísticamente significativa en esta variable con un valor $p=0,147$.

Tabla 3: Resultados de las variables cuantitativas a estudio atendiendo al tipo de tratamiento en cada grupo.

Variables	GRUPO CONTROL (n=20)	GRUPO EXPERIMENTAL (n=20)	Valor p
	Media ± DS (LI-LS) Mediana (RI)	Media ± DS (LI-LS) Mediana (RI)	
Tiempo de curación (DIAS)	22,10 ± 2,69 (20,92-23,28) 21 (2)	14,53 ± 1,66 (13,62-15,08) 14 (2)	<0,001*
Hemorragia postquirúrgica (0-1-2) Leve=0 Moderado=1 Abundante=2	1,25 ± 0,55 (1,01 – 1,49) 1,00 (1)	0,15 ± 0,37 (-0,01- 0,31) 0,00 (0)	<0,001*
Inflamación (mm de circunferencia de dedo)	85,00 ± 3,81 (83,33 – 86,67) 84,50 (3,5)	84,20 ± 5,54 (81,77 – 86,62) 84,50 (3,25)	0,925*

Dolor posquirúrgico DIA 1 EVA10	3,30 ± 2,66 (2,14 – 4,46) 3,00 (4,25)	3,30 ± 2,54 (2,19 – 4,41) 3,00 (2,5)	1,000 *
Dolor posquirúrgico DIA2 EVA10	1,65 ± 1,84 (0,84 – 2,46) 1,00 (3,25)	1,45 ± 1,82 (0,65 – 2,25) 0,50 (2,25)	0,758*
Dolor posquirúrgico DIA 3 EVA10	0,60 ± 1,23 (0,06 – 1,14) 0,00 (1)	1,05 ± 1,90 (0,22 – 1,88) 0,00 (1,25)	0,678*
Analgesia (mgr)	725 ± 1057,24 (261,65 – 1188,34) 0 (1000)	325 ± 591,05 (65,96 – 584,03) 0 (500)	0,147*

Abreviaturas: DS, Desviación estándar; RI, Rango Intercuartil. *Mann-Whitney U Test,

**t student independiente; EVA 10 = Escala Analógica Visual. Significación estadística

para un valor $p < 0,05$, con un intervalo de confianza del 95%; mgr = miligramos

11.1. Evolución de un dedo control en días.

Podemos observar en la siguiente serie de imágenes la evolución en fotografías del dedo control de un paciente, de esta manera se observa en primer lugar la fotografía prequirúrgica (Fig.9), posteriormente, se observa la fotografía de la cura del séptimo día (Fig.10), dónde los pacientes acuden a consulta cada 48 horas para valorar el momento en el cual se cumplen todos los requisitos para considerar la cura completa del dedo en cuestión y determinar así los días de cicatrización del mismo (Fig.11).

Figuras 12-14. Evolución del dedo control de un paciente.

		
<p>(Fig.12) Prequirúrgico del paciente (dedo control)</p>	<p>(Fig.13) Cura del 7º día del dedo control.</p>	<p>(Fig.14) Última cura del dedo control: 22 días</p>

Abreviaturas: Fig.=Figura

11.2. Evolución de un dedo experimental en días.

Podemos observar en la siguiente serie de imágenes la evolución en fotografías del dedo experimental de un paciente, de esta manera se observa en primer lugar la fotografía prequirúrgica (Fig.12), posteriormente, se observa la fotografía de la cura del séptimo día (Fig.13), dónde los pacientes acuden a consulta cada 48 horas para valorar el momento en el cual se cumplen todos los requisitos para considerar la cura completa del dedo en cuestión y determinar así los días de cicatrización del mismo (Fig.14).

Figuras 15-17. Evolución del dedo experimental de un paciente.

		
<p>(Fig.15) Prequirúrgico del paciente (dedo experimental)</p>	<p>(Fig.16) Cura del 7º día del dedo con FRPL.</p>	<p>(Fig.17) Última cura del dedo con FRPL: 14 días.</p>

Abreviaturas: Fig.=Figura

En la tabla 4 se muestran los resultados de las variables cualitativas del estudio atendiendo al tipo de tratamiento en el grupo control con pomada de Nitrofurazona 0,2 g. y en el grupo experimental con la Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos (FRPL) expresados con la Frecuencia y el Porcentaje de cada variable.

Se realiza el cálculo de las variables con el Test Exacto de Fisher con un intervalo de confianza del 95% y un valor de significación estadística $p < 0,05$.

Observamos que al comparar las variables del grupo control con el grupo experimental no se obtienen resultados estadísticamente significativos en ninguna de las mismas.

Para la variable sexo, al comparar la presencia de onicocriptosis en el hombre del grupo control y del grupo experimental no hay diferencias estadísticamente significativas con un valor $p = 1,000$ y al comparar el grupo control de mujeres con el grupo experimental tampoco observamos diferencias significativas con un valor $p = 1,000$.

En la variable dedo intervenido, al comparar la intervención del dedo derecho del grupo control y del grupo experimental, no observamos diferencias estadísticas significativas con un valor $p = 0,343$. En el dedo izquierdo al comparar los dedos intervenidos en el grupo control y el grupo experimental tampoco observamos diferencias significativas con un valor $p = 0,343$.

Cuando observamos la variable borde operado del Hallux, en la comparación del grupo control para el borde medial del dedo y el grupo experimental no observamos diferencias estadísticamente significativas con un valor $p = 1,000$.

Y en el borde lateral pasa lo mismo, al comparar la intervención del borde lateral en el grupo control y experimental no encontramos diferencias estadísticamente significativas con un valor $p=1,000$.

En la variable estadio de la onicocriptosis (I-IIa), al comparar el estadio I presente de la onicocriptosis en el grupo control y en el grupo experimental no obtenemos diferencias significativas con un valor $p=1,000$ y para la presencia del estadio IIa de onicocriptosis en el grupo control y el experimental tampoco observamos diferencias significativas con un valor $p=1,000$.

Para la variable presencia de dolor postquirúrgico se obtiene que no hay diferencias significativas al comparar el grupo control y el experimental para la presencia de dolor con un valor $p=1,000$ y para la no presencia de dolor postquirúrgico y la comparación entre el grupo control y experimental tampoco obtenemos una diferencia estadísticamente significativa con un valor $p=1,000$.

En la variable necesidad de analgesia resulta al comparar el grupo control con el experimental que no hay diferencias estadísticamente significativas para la necesidad de tomar analgésicos con un valor $p=0,514$. Por otro lado, al analizar la no necesaria toma de analgésicos y al comparar el grupo control con el experimental observamos que tampoco hay diferencias significativas con un valor $p=0,514$.

Por último, en la variable presencia de infección, comparamos la presencia de la complicación postquirúrgica en el grupo control como en el experimental no resultando diferencias estadísticamente significativas con un valor $p=1,000$.

Por otro lado, al comparar la no presencia de la complicación postquirúrgica en el grupo control y experimental tampoco observamos diferencias significativas con un valor $p=1,000$.

Tabla 4: Resultados de las variables cualitativas a estudio atendiendo al tipo de tratamiento en cada grupo.

Variables		GRUPO	GRUPO	VALOR P*
		CONTRO L (n=20)	EXPERIMENTA L (n=20)	
		Frecuencia Porcentaje	Frecuencia Porcentaje	
SEXO	Hombre	4 (20%)	4 (20%)	1,000
	Mujer	16 (80%)	16 (80%)	
DEDO INTERVENIDO	Derecho	12 (60%)	8 (40%)	0,343
	Izquierd o	8 (40%)	12 (60%)	
BORDE OPERADO	Medial	10 (50%)	10 (50%)	1,000
	Lateral	10 (50%)	10 (50%)	
ESTADIO DE LA UÑA	I	20 (100%)	19 (95%)	1,000
	IIA	0 (0%)	1 (5%)	

DOLOR POSTQUIRÚRGICO	SI	16 (80%)	17 (85%)	1,000
	NO	4 (20%)	3 (15%)	
NECESIDAD DE ANALGESIA	SI	9 (45%)	6 (30%)	0.514
	NO	11 (55%)	14 (70%)	
PRESENCIA DE INFECCIÓN	SI	0 (0%)	0 (0%)	1.000
	NO	20 (100%)	20 (100%)	

Abreviaturas: *Test exacto de Fisher; Significación estadística para un valor $p < 0,05$, con un intervalo de confianza del 95%

12. DISCUSIÓN

Las opciones quirúrgicas para el tratamiento de la onicocriptosis son variadas, entre ellas la fenolización segmentada de la matriz es una de las más extendidas, pero presenta una serie de deficiencias que siguen sin resolverse como la cicatrización retardada, entre 3 y 6 semanas, presentando poco sangrado y dolor por su efecto cauterizador y neurolítico; y las técnicas no incisionales para la excisión de la matriz ungueal Heifetz-Suppan I (382) que consiguen una pronta recuperación con unos cuidados mínimos pero cursan con un sangrado postquirúrgico más abundante que las matricectomías química (76,351–353). Los ensayos clínicos que han sido realizados para evaluar la efectividad de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas en el tratamiento de heridas agudas y crónicas expresan la importancia del rol de las plaquetas en el proceso de cicatrización, especialmente en la hemostasia, inflamación aguda, y las fases de proliferación, constatando que las plaquetas tienen niveles concentrados de factores de crecimiento naturales que tienen el potencial de acelerar la curación (76,77).

Actualmente, el gel de plaquetas autólogo (GPA) se está utilizando clínicamente en varias especialidades quirúrgicas a instancias de mejorar la curación de los tejidos, determinando que el uso de GPA es efectivo para reducir la equimosis, el sangrado y el edema; además la mayoría de los estudios están de acuerdo en que el GPA acelera el crecimiento vascular, aumenta la proliferación de fibroblastos y la producción de colágeno, pero no parece que acelera la epitelización; y en algunos de estos estudios, los investigadores mencionan que los pacientes informaron de una disminución significativa en el dolor después de la aplicación del biomaterial hemoderivado, pero pocos estudios han analizado esta variable utilizando escalas objetivas de dolor (77).

Sin embargo, el uso de GPA ha recibido conclusiones mixtas en los informes clínicos, y su uso clínico sigue siendo controvertido. El uso de GPA también recibe preocupaciones concernientes a su seguridad; sin embargo, este gel es un concentrado de plaquetas que contiene productos sanguíneos no alogénicos o de animales (trombina humana o bovina), evitando así reacciones anafilácticas, coagulación patológica autoinmune o transmisiones de enfermedades (77).

En nuestro caso, hemos utilizado por primera vez en la cirugía ungueal el FRPL, que según los estudios realizados en otro tipo de cirugías y sus análisis bioquímicos han superado el poder curativo de cualquier otro biomaterial autólogo y basado en concentración de plaquetas (76,323,356–374).

Los estudios de Dohan et al (2006) y Choukroun et al (2006) demostraron que el nuevo compuesto FRPL es una nueva generación de concentrados de plaquetas, la actividad biológica de la molécula de fibrina es suficiente en sí misma para explicar la capacidad cicatricial significativa de la FRPL y el modo de conformar el coágulo confiere a la membrana de FRPL una arquitectura fisiológica particularmente favorable para mejorar el proceso de curación (271).

En su primer análisis bioquímico, Choukroun et al. (2006) indicaron que este biomaterial consiste en un ensamblaje íntimo de citoquinas, cadenas glicánicas y glicoproteínas estructurales atrapadas dentro de una red de fibrina de polimerización lenta (273).

Dohan et al. (2006) demuestra que los componentes bioquímicos tienen efectos sinérgicos bien conocidos en los procesos de curación, como por ejemplo, la fibronectina, como guía de proliferación y migración celular, potencia los efectos estimulantes de los factores de crecimiento derivados de las plaquetas (272).

Por lo tanto, estos datos preliminares implicaban que el FRPL no solo sería una nueva generación de gel de plaquetas, sino un biomaterial de curación concentrado completamente utilizable (272).

Además, en sus investigaciones iniciales Dohan et al. (2006) y Choukroun et al. (2006) observaron que la FRPL no era solamente un concentrado de plaquetas sino también un nodo inmune capaz de estimular mecanismos de defensa y que era probable que la regulación inflamatoria observada en los sitios quirúrgicos tratados con FRPL fuese el resultado de la liberación progresiva y controlada de las citoquinas atrapadas en la red de fibrina durante la degradación de esta matriz inicial (273,274).

La experiencia clínica de los estudios de Dohan et al. (2006) confirmó que la FRPL se puede considerar como un biomaterial curativo y cuenta con todos los elementos necesarios que permiten una curación óptima, estos elementos consisten en una matriz de fibrina polimerizada lentamente en una estructura tetramolecular, la incorporación de plaquetas, leucocitos y citoquinas, como elementos fundamentales, y la presencia de células madre circulantes (274).

Concerniente al GPA, se realizaron dos estudios publicados en 2008 y 2010 por Córdoba-Fernández et al. (76,77), en los que se realizaba la siguiente metodología y que relacionaremos con el desarrollo de la metodología de nuestro estudio.

En ambos estudios, se evaluaron pacientes con onicocriptosis en el dedo gordo de ambos pies. Los pacientes que no cumplían los requisitos, como, problemas circulatorios, problemas de coagulación, problemas de cicatrización y/o un recuento anormal de plaquetas en sangre periférica, o no quisieran formar parte del estudio se excluyeron del ensayo clínico (76,77).

Los criterios fueron que los pacientes presentaran onicocriptosis en estadio I o IIa según la clasificación de Mozena, afectación del borde menor de 3mm (58). Los pacientes con eritema, drenaje, y dolor agudo se trataban con tratamiento conservador antes de la cirugía, quitando la espícula de la uña clavada y con antisépticos locales, hasta que los signos y síntomas clínicos desaparecieran. Los pacientes con problemas de circulación, enfermedades de coagulación, problemas de cicatrización y un recuento anormal de plaquetas en sangre periférica se excluyeron del ensayo (76,77).

En nuestro estudio utilizamos los mismos requisitos de inclusión de pacientes que en los dos estudios anteriores con GPA.

En el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2008) la muestra final del estudio consistió en 35 pacientes (70 pies), de los cuales 18 hombres y 17 mujeres, con una significación \pm DE en años de 43.88 ± 23.36 años. El estudio se llevó a cabo entre Noviembre de 2004 y Mayo de 2006 (76).

En el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010) la muestra final del estudio consistió en 35 pacientes (70 pies), de los cuales 19 eran hombres (54.29%) y 16 (45.71%) mujeres, con un promedio de 33.8 a 23.36 años. Y se llevó a cabo entre febrero de 2007 y septiembre de 2009 (77).

En nuestro estudio de 2019 la muestra final del estudio fue de 20 pacientes (40 pies), previamente habíamos realizado un cálculo del tamaño muestral necesario para obtener resultados estadísticos fiables y que hemos presentado con anterioridad, la distribución fue de 16 mujeres y 4 hombres con una media de edad + DE = $44,78 \pm 11,63$ para las mujeres y $48,63 \pm 14,68$ para los hombres. Y también se firmó un consentimiento informado autorizado por el Comité de Ética del Hospital Clínico San Carlos de Madrid. Y se llevó a cabo entre Octubre de 2018 y Abril de 2019.

En cuanto a la técnica quirúrgica y las curas, se usó en ambos estudios de Córdoba-Fernández et al. (2008 y 2010) el mismo procedimiento, la anestesia local se logró con 3 a 4 ml de mepivacaína al 2% (Scandinibsa, Laboratorios Inibsa SA, Barcelona, España) utilizando la técnica de bloqueo de Hallux y el procedimiento quirúrgico consistió en una extracción parcial de la lámina ungueal, seguida de la separación del lecho y la matriz con un escalpelo, siguiendo la técnica Suppan I (76,77).

En nuestro estudio, utilizamos la misma técnica anestésica, pero para la eliminación de la matriz ungueal utilizamos la técnica de fenol 88% descrita por Becerro-de-Bengoa-Vallejo R. et al. (75) que presenta una cicatrización retardada en condiciones normales (71,346) y que precisamente por este motivo se planteó la aplicación del nuevo biomaterial FRPL.

El procedimiento en ambos estudios de Córdoba-Fernández et al. (2008 y 2010) se llevó a cabo en ambos bordes del Hallux y se seleccionaron intra-operatoriamente de forma aleatoria (lanzando una moneda; Cara, pie derecho, tratamiento con GPA y pie izquierdo, tratamiento con pomada de nitrofurazona; Cruz, pie derecho, tratamiento con pomada de nitrofurazona y pie izquierdo, tratamiento con GPA) (76,77).

En nuestro estudio realizamos la misma intervención aleatoria, pero solo operamos un canal ungueal de cada dedo.

En el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2008) todos los pacientes recibieron profilaxis antibiótica con 250mg o 500 mg de cefuroxima axetil un hora y media antes del procedimiento y otra dosis 12 horas después de él (76).

En el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010), todos los pacientes recibieron profilaxis antibiótica con cefalexina 2 g, Kefloridinaforte (Lilly, Madrid, España) por vía oral en 1 dosis única 60 minutos antes del procedimiento (77).

En nuestro estudio no realizamos ninguna profilaxis antibiótica por excluir a los pacientes con esta indicación del estudio, además debido a que el biomaterial que utilizamos, según los estudios realizados por Dohan et al. (2006) y Choukroun et al. (2006 es un biomaterial que estimula los procedimientos de defensa por su estructura y liberación prolongada de las sustancias integradas en ella, entre ellas los leucocitos (273,274).

Para la obtención del gel de plaquetas, en ambos estudios de Córdoba-Fernández et al. (2008 y 2010) se usó el protocolo propuesto por Anitua et al. (2004) y propuesto por el Ministerio Español de Salud para el uso del servicio de salud nacional con el sistema PRGF (Instituto de Biotecnología, Victoria, España) (76,77,357).

Para la obtención de nuestro biomaterial utilizamos el procedimiento diseñado por Choukroun et al. (2006) (271), se diferencia en la estructura que adopta la FRLP, la incorporación de los elementos necesarios para una buena cicatrización y la liberación gradual de estas sustancias integradas en ella durante al menos 7 días después de su colocación (273).

Los ensayos de Córdoba-Fernández et al. (2008 y 2010) fueron aleatorios, simple ciego, con diseño cruzado y control positivo del tratamiento (no se usó placebo), cada paciente fue sometido a dos condiciones experimentales diferentes, el control positivo del tratamiento se realizó con la administración de una pomada soluble en agua, Furacin (Seid SA, Barcelona, Spain).

En ambos estudios se repitió el mismo sistema de curas; los dos tratamientos de cada pie, se repitieron después de las 48 horas, y después del 5º día el tratamiento consistió en la aplicación de una solución antiséptica con povidona yodada; diariamente se revisó la herida quirúrgica hasta que se consideró curada (76,77).

En nuestro estudio utilizamos como control positivo también la pomada Furacin (Seid SA, Barcelona, Spain), pero nos ceñimos a la ficha técnica del mismo utilizando la pomada durante 7 días posteriores a la intervención y a las indicaciones del nuevo biomaterial cuya liberación gradual de las sustancias ya hemos comentado con anterioridad se producían durante 7 días aproximadamente. De manera que las curas las realizamos de forma diferente, en el dedo experimental y para controlar que no hubiesen indicios de infección, levantamos la cura a las 48 horas y colocábamos el biomaterial de nuevo 5 días más, en el caso del dedo control se aplicó la pomada durante 7 días consecutivos. Finalmente después de estos 7 días de tratamiento con pomada y FRPL, se aplicó povidona yodada hasta que los parámetros de curación establecidos se consiguieron.

Respecto a la medición de las variables, en ambos estudios de Córdoba-Fernández et al. (2008 y 2010), se midieron los días de cicatrización de la misma forma, se establecieron los parámetros para determinar el tiempo de recuperación para limitar la subjetividad, y se estableció que se determinaría curado cuando había ausencia de drenaje, el tejido de granulación estaba cubierto por una costra y sin evidencia de infección (76,77).

En ambos estudios de Córdoba-Fernández et al. (2008 y 2010), desde el quinto día, cuando los participantes se presentaron para la cura, dos clínicos con experiencia se cegaron a doble ciego en el cuidado de heridas y evaluaron la herida de forma independiente.

Se consideró el tiempo de recuperación cuando ambos clínicos acordaron de forma independiente que se habían cumplido todos los criterios. El tiempo de recuperación fue el intervalo entre la aplicación del primer apósito (en el momento de la cirugía) y los indicadores clínicos se alcanzaron completamente (76,77).

En nuestro estudio hemos adoptado los mismos parámetros de curación que en estos dos estudios, pero la valoración de las curas por los dos investigadores se realizó a partir del séptimo día tal y como hemos comentado anteriormente.

En el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2008), después de 48 horas, se evaluó cualitativamente y comparativamente la hemorragia postquirúrgica, y fueron establecidas tres categorías: leve (el apósito de polipropileno en contacto con la herida y la gasa en contacto con él estaban parcialmente manchados); moderado (el apósito mostró una ligera mancha en la parte trasera o los lados, el apósito antiadherente estaba completamente manchado y la gasa en contacto con él estaba parcialmente manchada); y abundante (el apósito externo estaba completamente o casi completamente manchado) (76).

La presencia o ausencia de sangrado secundario fue establecido por el color del apósito (rojo profundo, vendaje húmedo o vendaje seco de color rojo oscuro) para saber si había habido un retraso o un fallo parcial de los mecanismos de la hemostasia de 15 a 30 minutos después de la eliminación del torniquete y sin un golpe o traumatismo para explicarlo (76).

Además en este estudio, se hizo una biopsia a dos pacientes después de 48 horas del tratamiento control y el tratamiento experimental con GPA (76).

En el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010), se evaluó el dolor postoperatorio, se usó una escala visual cromática análoga para la autoevaluación del dolor (escala de 0 ausencia de dolor a 10 dolores insoportables), la intensidad del dolor se registró subjetivamente para ambos grupos, según los colores de blanco a oscuro, correspondientes a los números de 0 a 10, durante los 3 días posteriores a la cirugía y el dolor postoperatorio se trató con 500 mg de paracetamol, Termalgin (Novartis Farmacéutica SA, Barcelona, España), por vía oral cada 6 a 8 horas (no más de 4 g / d) cuando el dolor medido con la escala cromática fue menor de 5 y 1000 mg cuando era más de 5, cada paciente recibió instrucciones de informar el nivel de dolor y cómo correlacionar la ingesta del analgésico con él; el medicamento analgésico siempre fue tomado después de registrar el dolor y todos los pacientes completaron un cuestionario donde se puntuó la intensidad del dolor de acuerdo con la escala en cada uno de sus pies durante los 3 días posteriores a la cirugía (77).

También se realizó en el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010) el análisis de la inflamación postoperatoria, mediante la circunferencia digital (en milímetros), utilizando una regla flexible, se midió al nivel del pliegue proximal de la uña, se realizó una medición de la circunferencia digital antes del procedimiento y a las 48 horas (fase inflamatoria aguda de la cicatrización) en ambos grupos ; un solo investigador realizó todas las mediciones y los pacientes fueron cegados en cuanto a que pie recibió el tratamiento (77).

En nuestro estudio, recogimos de una sola vez todos los parámetros recogidos en los dos estudios previos con curas con el GPA de Córdoba-Fernández et al. (2008 y 2010), de manera que englobamos la recogida de datos de los días de cicatrización o curación, según hemos explicado anteriormente, y de la hemorragia tal y como se hizo en el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2008), no realizamos biopsia en este caso, ya que los estudios de Dohan et al. (2006) del FRPL ya habían demostrado el aumento de fibroblastos al aplicar el biomaterial (272–274).

El dolor lo medimos con la escala analógica de dolor (EVA), explicando a los pacientes como debía puntuarse según su percepción y la medicación (paracetamol de 500 mg) se administró solo si para la percepción del paciente fuese necesaria, diferimos en esto con el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010), para que la objetividad del dolor fuese más personalizada y esperando que la intervención de la medicación no influyese en tanta medida como en el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010), creemos que así la objetividad es más evidente que obligando a las personas a tomar la medicación según su valoración en la escala de dolor.

Respecto a la medición de la inflamación, seguimos la misma metodología que en el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010), con regla milimetrada, se tomó una medida a antes de la intervención y otra después 48 horas después de la misma.

Y por último observamos la presencia o no de infección mediante los parámetros descritos por Keith et al. (2005), que describen los puntos objetivables de presencia de infección, también llamados parámetros Delphy (383).

En cuanto a los resultados obtenidos, en el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2008), para la variable hemorragia postquirúrgica resultó estadísticamente significativo ($P < 0.001$), (93,9% de los pacientes presentaron abundante sangrado con el tratamiento de control y 18,2% con el tratamiento experimental (76) y para la variable tiempo de cicatrización, los resultados diferían entre los dos grupos, a favor del grupo experimental, con una media más baja, no resultando estadísticamente significativo (76).

Así pues, en el estudio realizado por Córdoba-Fernández et al. (2008) se confirmó la efectividad del hemoderivado como uso hemostático, especialmente si se tiene en cuenta que el tratamiento se aplicó en dos heridas, ambos bordes de las uñas, en las que no se realizó ningún tipo de cierre primario, pero las observaciones sobre la cicatrización no fue clínicamente significativa, aunque se encontró que el tiempo de cicatrización difirió entre los dos tratamientos, a favor del gel plaquetario, con una media más baja, y esta diferencia fue corroborada histológicamente en los dos pacientes que se les practicó biopsia (76).

Por lo tanto, en el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2008) concluyeron en que el uso de gel plaquetario podía aportar una serie de ventajas para disminuir el riesgo en el manejo quirúrgico de todo tipo de pacientes, reduciendo su morbilidad perioperatoria (76).

En el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010), la diferencia promedio de la circunferencia digital, proceso inflamatorio, fue ligeramente mayor en el grupo experimental que en el grupo control, pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa y la evolución de las mediciones del dolor observadas en la escala durante los primeros 3 días postoperatorios fue similar en ambos grupos.

El resultado de la prueba de Wilcoxon mostró que las diferencias promedio en el dolor en los 3 días postoperatorios no difirieron significativamente entre los grupos (grupo control, mediana: 3,45 y rango: 13,15; mediana GPA: 3,75 y rango: 17,29; $P=0,103$) (77).

Analizando las variables anteriormente descritas, en el estudio de Córdoba-Fernández et al. (2010) concluyen en que el GPA no mejora la cirugía de las uñas encarnadas de los pies, se determinó que con la combinación de profilaxis antibiótica, el tratamiento y la povidona yodada al final del tratamiento se eliminó la mortalidad experimental del riesgo de infección, teniendo en cuenta que la cirugía de las uñas se considera cirugía sucia; y finalmente concluyeron en que este tipo de biomaterial no mejora el proceso de curación de la cirugía de la uña encarnada y que la evidencia para apoyar su uso es deficiente, precisando de más estudios para determinar la efectividad y saber si su uso en otros procedimientos quirúrgicos puede mejorar la morbilidad y acelerar las actividades de la vida diaria de los paciente que se someten a cirugía (77).

En nuestro estudio, tal y como hemos presentado en el apartado resultados, observamos diferencias estadísticamente significativas con este nuevo biomaterial en las variables tiempo de cicatrización, hemorragia y presencia de infección, no resultando significativas las variables inflamación postquirúrgica y dolor.

Por lo tanto, podemos afirmar que nuestros resultados, le confieren a la FRPL la condición de biomaterial apto para el uso de la cirugía ungueal con métodos químicos, Fenol 88%, proceso que no se había comprobado hasta ahora y que con nuestros resultados, obtenemos una diferencia con respecto a los biomateriales utilizados anteriormente.

La principal diferencia, como hemos comentado anteriormente, es la estructura que adopta la FRLP, la incorporación de los elementos necesarios para una buena cicatrización y la liberación gradual de estas sustancias integradas en ella durante al menos 7 días después de su colocación (273), obteniendo además del tapón hemostático ya referido en los estudios anteriores con GPA, una diferencia en el tiempo de curación de la herida quirúrgica, reduciendo la media de curación en grupo control de 22 días a 14 en el grupo experimental, y la no presencia de ningún paciente con infección nos confirma lo evidenciado por Choukroun et al. (2006) en sus estudios clínicos en los que se determina que el FRPL actúa también como un nodo inmune, hecho que nos hace innecesaria la profilaxis antibiótica con este biomaterial en condiciones normales (45).

12.1. Limitaciones

La limitación de este estudio es que se ha realizado en sujetos sanos por lo que no sabemos si en personas con determinada patología sistémica o local, los resultados obtenidos podrían ser extrapolables a este otro tipo de población/es.

12.2. Futuras líneas de investigación

Creemos que deberíamos centrarnos en posteriores estudios en los días de inflamación más que en la cantidad de inflamación, hemos observado que la diferencia de inflamación en el grupo control y experimental en los diferentes estudios no es significativa en los primeros 3 días, pero quizá cabría la posibilidad de valorar la inflamación a lo largo de más días, valorando de esta manera si la inflamación de los biomateriales utilizados es más corta y curativa que sin ellos. Nos planteamos también, por último, la aplicación del coágulo de una sola vez, sin cambiarlo a las 48 horas posquirúrgicas, porque en la evidencia de los ensayos observados se ha comprobado tanto en los estudios anteriores como en este que la presencia de infección queda prácticamente reducida a cero.

13. CONCLUSIONES

Se demuestra que la aplicación tópica de Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos (FRPL), durante la cirugía de la uña encarnada por métodos químicos, Técnica Fenol al 88%, obtiene una mejora post-operatoria en nuestros pacientes con respecto a las curas estándar con nitrofurazona, la hemorragia postoperatoria y los días de cicatrización en el grupo tratado con FRPL disminuye significativamente, por otro lado el dolor postoperatorio y la inflamación postoperatoria en el grupo tratado con L-PRF no ha evidenciado diferencias significativas comparado con el grupo control. Y finalmente no hay diferencias en el número de infecciones postquirúrgicas en ambos grupos.

14. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA

El resultado del presente estudio ha finalizado con la publicación de un artículo original en la prestigiosa revista Journal of Clinical Medicine, primer decil (384).

Factor de impacto 5,583 y posición 15 de 154 en el ranking Medicine General & Internal.

“Garrido-Castells X, Becerro-de-Bengoa-Vallejo R, Calvo-Lobo C, Losa-Iglesias ME, Palomo-López P, Navarro-Flores E, et al. Effectiveness of Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin versus Nitrofurazone on Nail Post-Surgery Bleeding and Wound Cicatrization Period Reductions: A Randomized Single Blinded Clinical Trial. J Clin Med . 2019 Sep;8(10). Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31569623>”



15. BIBLIOGRAFÍA

1. Haneke E. Anatomie, biologie, physiologie und grundzüge der pathologie des nagelorgans. *Hautarzt*. 2014 Apr;65(4):282–90.
2. Zaias N. Embryology of the Human Nail. *Arch Dermatol* . 1963 Jan [cited 2020 Feb 7];87(1):37–53.
3. Okada M, Nishimukai H, Okiura T, Sugino Y. Lyonization pattern of normal human nails. *Genes to Cells* . 2008 May 1 [cited 2020 Feb 7];13(5):421–8. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2443.2008.01178.x>
4. Morgan A, Baran R, Haneke E. Anatomy of the nail unit in relation to the distal digit. In: *Nail surgery: a text and atlas* . Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2001. p. 1–28.
5. de Berker D, Angus B. Proliferative compartments in the normal nail unit. *Br J Dermatol* . 1996 Oct ;135(4):555–9.
6. Higashi N. Melanocytes of nail matrix and nail pigmentation. *Arch Dermatol* . 1968 May ;97(5):570–4.
7. Haneke E. *Surgical Anatomy of the Nail Apparatus* . Vol. 24, *Dermatologic Clinics*. 2006 . p. 291–6. A
8. Perrin C, Michiels JF, Pisani A, Ortonne JP. Anatomic distribution of melanocytes in normal nail unit: an immunohistochemical investigation. *Am J Dermatopathol* . 1997 Oct ;19(5):462–7.
9. Theunis A, Richert B, Sass U, Lateur N, Sales F, André J. Immunohistochemical study of 40 cases of longitudinal melanonychia. *Am J Dermatopathol* . 2011 Feb ;33(1):27–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20940616>
10. Lacour JP, Dubois D, Pisani A, Ortonne JP. Anatomical mapping of Merkel cells in normal human adult epidermis. *Br J Dermatol*. 1991;125(6):535–42.
11. De Berker D, Wojnarowska F, Sviland L, Westgate GE, Dawber RPR, Leigh IM. Keratin expression in the normal nail unit: Markers of regional differentiation. *Br J Dermatol*. 2000;142(1):89–96.
12. Sellheyer K, Nelson P. The ventral proximal nail fold: stem cell niche of the nail and equivalent to the follicular bulge--a study on developing human skin. *J Cutan Pathol* . 2012 Sep ;39(9):835–43.
13. Zook EG. Anatomy and physiology of the perionychium . Vol. 16, *Clinical Anatomy*. 2003 . p. 1–8.
14. Lee D-Y, Park J-H, Shin H-T, Yang J-M, Jang K-T, Kwon GY, et al. The presence and localization of onychodermis (specialized nail mesenchyme) containing onychofibroblasts in the nail unit: a morphological and immunohistochemical study. *Histopathology* . 2012 Jul ;61(1):123–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22394390>

15. Okazaki M, Yoshimura K, Fujiwara H, Suzuki Y, Harii K. Induction of Hard Keratin Expression in Non-Nail-Matrical Keratinocytes by Nail-Matrical Fibroblasts through Epithelial-Mesenchymal Interactions. *Plast Reconstr Surg*. 2003 Jan;111(1):286–90.
16. Perrin C. The nail dermis: from microanatomy to constitutive modelling. *Histopathology* . 2015 May 1 ;66(6):864–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25387989>
17. Frenz C, Fritsch H, Hoch J. Plastinationshistologische Untersuchungen zur Insertion der Pars terminalis der Aponeurosis dorsalis an den dreigliedrigen Fingern. *Ann Anat*. 2000;182(1):69–73.
18. McGonagle D, Tan AL, Benjamin M. The nail as a musculoskeletal appendage--implications for an improved understanding of the link between psoriasis and arthritis. *Dermatology* . 2009 Jan ;218(2):97–102. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19060455>
19. Baran R, Juhlin L. Bone dependent nail formation. *Br J Dermatol* . 1986 Mar;114(3):371–5.
20. Germann H, Barran W, Plewig G. Morphology of corneocytes from human nail plates. *J Invest Dermatol* . 1980 Mar ;74(3):115–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6987316>
21. Cane A, Spearman R. A histochemical study of keratinization in the domestic fowl (*Gallus gallus* L). *J Zool*. 1967 Nov 1;153:337–52.
22. Schumacher E, Dindorf W, Dittmar M. Exposure to toxic agents alters organic elemental composition in human fingernails. *Sci Total Environ* . 2009 Mar 15 ;407(7):2151–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19157522>
23. Olabanji SO, Ajose OA, Makinde NO, Buoso MC, Ceccato D, De Poli M, et al. Characterization of human fingernail elements using PIXE technique. *Nucl Instruments Methods Phys Res Sect B Beam Interact with Mater Atoms*. 2005;240(4):895–907.
24. Min JZ, Hatanaka S, Yu H, Higashi T, Inagaki S, Toyo'oka T. Determination of DL-amino acids, derivatized with R(-)-4-(3-isothiocyanatopyrrolidin-1-yl)-7-(N,N-dimethylaminosulfonyl)-2,1,3-benzoxadiazole, in nail of diabetic patients by UPLC-ESI-TOF-MS. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* . 2011 Nov 1 ;879(29):3220–8.
25. Daniel CR, Piraccini BM, Tosti A. The nail and hair in forensic science . Vol. 50, *Journal of the American Academy of Dermatology*. Mosby Inc.; 2004 . p. 258–61. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14726882>
26. Ohno T, Sakamoto M, Kurosawa T, Dakeishi M, Iwata T, Murata K. Total mercury levels in hair, toenail, and urine among women free from occupational exposure and their relations to renal tubular function. *Environ Res* . 2007 Feb ;103(2):191–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16890218>

27. Reddy K, Lowenstein EJ. Forensics in dermatology: part II. *J Am Acad Dermatol* . 2011 May ;64(5):811–24; quiz 825–6.
28. Adair BM, Hudgens EE, Schmitt MT, Calderon RL, Thomas DJ. Total arsenic concentrations in toenails quantified by two techniques provide a useful biomarker of chronic arsenic exposure in drinking water. *Environ Res* . 2006 Jun ;101(2):213–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16188251>
29. Vecht-Hart CM, Bode P, Trouerbach WT, Collette HJA. Calcium and magnesium in human toenails do not reflect bone mineral density. *Clin Chim Acta* . 1995 Apr 30 ;236(1):1–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7664460>
30. Haneke E. Fluconazole levels in human epidermis and blister fluid. *Br J Dermatol* . 1990 Aug ;123(2):273–4.
31. Haneke E. [Retention of ketoconazole in the skin following oral treatment]. *Hautarzt*. 1987/02/01. 1987;38(2):93–6.
32. Allouche M, Hamdoum M, Mangin P, Castella V. Genetic identification of decomposed cadavers using nails as DNA source. *Forensic Sci Int Genet* . 2008 Dec ;3(1):46–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19083867>
33. Fernández-Rodríguez A, Iturralde MJ, Simón L, Capilla J, Sancho M. Genetic analysis of fingernail debris: Application to forensic casework. *Int Congr Ser*. 2003 Jan 31;1239:921–4.
34. Nakanishi A, Moriya F, Hashimoto Y. Effects of environmental conditions to which nails are exposed on DNA analysis of them. *Leg Med (Tokyo)* . 2003 Mar ;5 Suppl 1:S194-7.
35. Blatière V. L'ongle incarné ou onychocryptose. *Presse Med* . 2014;43(11):1230–9.
36. Haneke E. Controversies in the treatment of ingrown nails. *Dermatol Res Pract*. 2012;2012(May 2012).
37. Martinez-Nova A, Sanchez-Rodriguez R, Alonso-Pena D. A new onychocryptosis classification and treatment plan. *J Am Podiatr Med Assoc*. 2007;97(5):389–93.
38. Levy LA. Prevalence of chronic podiatric conditions in the US. National Health Survey 1990. *J Am Podiatr Med Assoc*. 1992 Apr;82(4):221–3.
39. Cho SY, Kim YC, Choi JW. Epidemiology and bone-related comorbidities of ingrown nail: A nationwide population-based study. *J Dermatol* . 2018 Dec ;45(12):1418–24.
40. Aguilar KZ, Pineda FG, Bozalongo E. Manejo de la onicocriptosis en atención primaria . caso clínico. 2016;39(6):38–40.
41. Katz AM. Congenital ingrown toenails. *J Am Acad Dermatol*. 1996 Mar;34(3):519–20.

42. Baran R, Bureau H. Congenital malalignment of the big toe-nail as a cause of ingrowing toe-nail in infancy. Pathology and treatment (a study of thirty cases). *Clin Exp Dermatol*. 1983 Nov;8(6):619–23.
43. Pearson HJ, Bury RN, Wapples J, Watkin DF. Ingrowing toenails: is there a nail abnormality? A prospective study. *J Bone Joint Surg Br*. 1987 Nov;69(5):840–2.
44. Kose O, Celiktas M, Kisin B, Ozyurek S, Yigit S. Is there a relationship between forefoot alignment and ingrown toenail? A case-control study. *Foot Ankle Spec*. 2011 Feb;4(1):14–7.
45. Heifitz CJ. Ingrown toenail - A clinical study. *Am J Surg*. 1937;38:298–315
46. Erdogan FG, Tufan A, Guven M, Goker B, Gurler A. Association of hypermobility and ingrown nails. *Clin Rheumatol*. 2012;31(9):1319–22.
47. Cologlu H, Kocer U, Sungur N, Uysal A, Kankaya Y, Oruc M. A new anatomical repair method for the treatment of ingrown nail: prospective comparison of wedge resection of the matrix and partial matrixectomy followed by lateral fold advancement flap. *Ann Plast Surg*. 2005 Mar;54(3):306–11; discussion 312.
48. Nzuzi SM. Common nail disorders. *Clin Podiatr Med Surg* . 1989 Apr;6(2):273–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2650841>
49. Langford DT, Burke C, Robertson K. Risk factors in onychocryptosis. *Br J Surg*. 1989;76(1):45–8.
50. Cambiaghi S, Pistritto G, Gelmetti C. Congenital hypertrophy of the lateral nail folds of the hallux in twins. *Br J Dermatol* . 1997 Apr ;136(4):635–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9155980>
51. Heidelbaugh JJ, Lee H. Management of the ingrown toenail. Vol. 79, *American Family Physician*. American Academy of Family Physicians; 2009.
52. James CW, McNelis KC, Cohen DM, Szabo S, Bincsik AK. Recurrent ingrown toenails secondary to indinavir/ritonavir combination therapy. *Ann Pharmacother* . ;35(7–8):881–4.
53. Nicolopoulos J, Howard A. Docetaxel-induced nail dystrophy. *Australas J Dermatol*. 2002;43(4):293–6.
54. Higgins EM, Hughes JR, Snowden S, Pembroke AC. Cyclosporin-induced periungual granulation tissue. *Br J Dermatol* . 1995 May ;132(5):829–30. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7772496>
55. Figueiras D de A, Ramos TB, Marinho AK de OF, Bezerra MSM, Cauas RC. Paronychia and granulation tissue formation during treatment with isotretinoin. *An Bras Dermatol*. 2016 Mar 1;91(2):223–5.
56. Weaver TD, Jespersen DL. Multiple onychocryptosis following treatment of onychomycosis with oral terbinafine. *Cutis* . 2000 Sep ;66(3):211–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11006857>

57. Rauch C, Cherkaoui-Rbati M. Physics of nail conditions: why do ingrown nails always happen in the big toes? *Phys Biol* . 2014;11(6):066004. Available from: <http://iopscience.iop.org/1478-3975/11/6/066004/article/>
58. Mozena JD. The Mozena Classification System and treatment algorithm for ingrown hallux nails. *J Am Podiatr Med Assoc* . 2002 Mar ;92(3):131–5.
59. Martinez-Nova A. *Podologia: Atlas de Cirugía Ungueal*. 1st ed. Editorial Médica Paramericana SA, editor. Madrid; 2006. 27–36, 111–118 p.
60. Espensen EH, Nixon BP, Armstrong DG. Chemical matrixectomy for ingrown toenails: Is there an evidence basis to guide therapy? *J Am Podiatr Med Assoc*. 2002 May;92(5):287–95.
61. Hunter DM, Timerding BL, Leonard RB, McCalmont TH, Schwartz E. Effects of isopropyl alcohol, ethanol, and polyethylene glycol/industrial methylated spirits in the treatment of acute phenol burns. *Ann Emerg Med*. 1992 Nov;21(11):1303–7.
62. Sugden P, Levy M, Rao G. Onychocryptosis-phenol burn fiasco. *Burns*. 2001;27:289.
63. Boll O. Surgical correction of ingrowing nails. 35:8-9. *J Nat Assoc Chir*. 1945;35:8–9.
64. MM Gottlieb JG. The permanent removal of nails by evulsion and chemical cauterization. *Curr Chirop*. August,1953.
65. SP Nyman. The phenol-alcohol technique for toenail excision. *JNJ Chir Soc*. 1956;
66. RJ Suppan JR. A Non Debilitating Surgical Procedure for “Ingrown toenail.” *J Am Podiatry Assoc* 52 (11) :900,1962
67. Green A. A modification of phenol-alcohol technique for toenail correction. *JAPA*. 1964;54(684):5.
68. Cooper CTJ. Phenol-alcohol nail procedure: postoperative care. A comparative study. *J Am Podiatry Assoc*. 1965 Sep;55(9):661–3.
69. JC Dagnall. The history, development and current status of nail matrix phenolisation. *Chiropodist*. 1981;36:315-24
70. McGlamry Ed. Nail matrix phenolization. *BrJ Chirop*. 1978;43(221).
71. Greenwald L, Robbins H. The chemical matrixectomy: a commentary. *JAPA*. 1981;71:88.
72. Boberg JS, Frederiksen MS, Harton FM. Scientific analysis of phenol nail surgery. *J Am Podiatr Med Assoc*. 2002;92(10):575–9.
73. Bostanci S, Ekmekci P, Gurgey E. Chemical matrixectomy with phenol for the treatment of ingrowing toenail: a review of the literature and follow-up of 172 treated patients. *Acta Derm Venereol*. 2001;81(3):181–3.

74. Islam S, Lin EM, Drongowski R, Teitelbaum DH, Coran AG, Geiger JD, et al. The effect of phenol on ingrown toenail excision in children. *J Pediatr Surg*. 2005 Jan;40(1):290–2.
75. Becerro De Bengoa Vallejo R, Losa Iglesias ME, Viejo Tirado F, Serrano Pardo R. Cauterization of the germinal nail matrix using phenol applications of differing durations: A histologic study. *J Am Acad Dermatol* . 2012;67(4):706–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2012.05.002>
76. Córdoba-Fernandez A, Rayo-Rosado R, Juárez-Jiménez JM. 1. Córdoba-Fernandez A, Rayo-Rosado R, Juárez-Jiménez JM. Platelet gel for the surgical treatment of onychocryptosis. *J Am Podiatr Med Assoc* . 2008;98(4):296–301. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18685050>
77. Córdoba-Fernández A, Rayo-Rosado R, Juárez-Jiménez JM. The use of autologous platelet gel in toenail surgery: A within-patient clinical trial. *J Foot Ankle Surg*. 2010;49(4):385–9.
78. Cohen S, Levi-Montalcini R. A Nerve Growth-Stimulating Factor Isolated From Snake Venom. *Proc Natl Acad Sci*. 1956 Sep;42(9):571–4.
79. Cohen S. Isolation of a mouse submaxillary gland protein accelerating incisor eruption and eyelid opening in the new-born animal. *J Biol Chem*. 1962 May;237:1555–62.
80. Raines EW, Ross R. Platelet-derived growth factor. I. High yield purification and evidence for multiple forms. *J Biol Chem*. 1982 May;257(9):5154–60.
81. Bowen-Pope DF, Ross R. Platelet-derived growth factor. II. Specific binding to cultured cells. *J Biol Chem*. 1982 May;257(9):5161–71.
82. Ueno C, Hunt TK, Hopf HW. Using physiology to improve surgical wound outcomes. *Plast Reconstr Surg*. 2006 Jun;117(7 Suppl):59S-71S.
83. Komarcevic A. [The modern approach to wound treatment]. *Med Pregl*. 2000;53(7–8):363–8.
84. Ferguson MWJ, O’Kane S. Scar-free healing: from embryonic mechanisms to adult therapeutic intervention. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 2004 May;359(1445):839–50.
85. Jonsson K, Jensen JA, Goodson WH 3rd, Scheuenstuhl H, West J, Hopf HW, et al. Tissue oxygenation, anemia, and perfusion in relation to wound healing in surgical patients. *Ann Surg*. 1991 Nov;214(5):605–13.
86. Langemo D, Anderson J, Hanson D, Hunter S, Thompson P, Posthauer ME. Nutritional considerations in wound care. *Adv Skin Wound Care*. 2006;19(6):297-298,300,303.
87. Thomas DR. Specific nutritional factors in wound healing. *Adv Wound Care*. 1997;10(4):40–3.
88. Koveker GB. Growth factors in clinical practice. *Int J Clin Pract*. 2000 Nov;54(9):590–3.

89. Thöml H, Diem H HT. *Physiology and pathophysiology of blood; Color Atlas of Hematology*. Thieme. Stuttgart; 2004.
90. Engebretsen L, Steffen K, Alsousou J, Anitua E, Bachl N, Devilee R, et al. IOC consensus paper on the use of platelet-rich plasma in sports medicine. *Br J Sports Med*. 2010 Dec;44(15):1072–81.
91. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med*. 2009 Nov;37(11):2259–72.
92. Harmon K, Hanson R, Bowen J, Greenberg S, Magaziner E, Vandenbosch J, et al. Guidelines for the Use of Platelet Rich Plasma. *International Cellular Medical Society* . 2013;41(2):356–64.
93. Ferrando J, Fernández-Sartorio C G, de Cossío AC NE. Tratamiento de la alopecia androgenética con factores de crecimiento plaquetario. *Monogr Dermatología*. 2016;42:491–7.
94. Kevy S V, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J Extra Corpor Technol*. 2004 Mar;36(1):28–35.
95. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, et al. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol*. 2007 Apr;78(4):661–9.
96. Galliera E, Corsi MM, Banfi G. Platelet rich plasma therapy: inflammatory molecules involved in tissue healing. *J Biol Regul Homeost Agents*. 2012;26(2 Suppl 1):35S-42S.
97. Andia I, Abate M. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates. *Regen Med*. 2013 Sep;8(5):645–58.
98. Andia I. Platelet-rich plasma biology. In: Rubina Alves, Ramón Grimalt, editors. *Clinical Indications and Treatment Protocols with Platelet-Rich Plasma in Dermatology* . Barcelona: Ediciones Mayo; 2016. p. 3–15. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=Ozu2tAEACAAJ>
99. Ferrari M, Zia S, Valbonesi M, Henriquet F, Venere G, Spagnolo S, et al. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. *Int J Artif Organs*. 1987 Jan;10(1):47–50.
100. Conde Montero E, Fernandez Santos ME, Suarez Fernandez R. Platelet-rich plasma: applications in dermatology. *Actas Dermosifiliogr*. 2015 Mar;106(2):104–11.
101. Lynch MD, Bashir S. Applications of platelet-rich plasma in dermatology: A critical appraisal of the literature. *J Dermatolog Treat*. 2016;27(3):285–9.
102. Andia I, Rubio-Azpeitia E, Martin JI, Abate M. Current Concepts and Translational Uses of Platelet Rich Plasma Biotechnology. In: *Biotechnology* . InTech; 2015. p. 13.

103. Li ZJ, Choi H-I, Choi D-K, Sohn K-C, Im M, Seo Y-J, et al. Autologous platelet-rich plasma: a potential therapeutic tool for promoting hair growth. *Dermatol Surg.* 2012 Jul;38(7 Pt 1):1040–6.
104. Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2013 Mar;66(3):301–11.
105. Salazar-Alvarez AE, Riera-del-Moral LF, Garcia-Arranz M, Alvarez-Garcia J, Concepcion-Rodriguez NA, Riera-de-Cubas L. Use of platelet-rich plasma in the healing of chronic ulcers of the lower extremity. *Actas Dermosifiliogr.* 2014;105(6):597–604.
106. Picard F, Hersant B, Bosc R, Meningaud J-P. Should we use platelet-rich plasma as an adjunct therapy to treat “acute wounds,” “burns,” and “laser therapies”: A review and a proposal of a quality criteria checklist for further studies. *Wound Repair Regen.* 2015;23(2):163–70.
107. Cobos R, Aizpuru F, Parraza N, Anitua E, Orive G. Effectiveness and efficiency of platelet rich plasma in the treatment of diabetic ulcers. *Curr Pharm Biotechnol.* 2015;16(7):630–4.
108. Sclafani AP, Azzi J. Platelet Preparations for Use in Facial Rejuvenation and Wound Healing: A Critical Review of Current Literature. *Aesthetic Plast Surg.* 2015 Aug;39(4):495–505.
109. Conde Montero E. PRP in wound healing. In: Alves R, Grimalt R, editors. *Clinical Indications and Treatment Protocols with Platelet-Rich Plasma in Dermatology*. Barcelona: Ediciones Mayo; 2016. p. 59–72. Available from: <https://books.google.co.id/books?id=Ozu2tAEACAAJ>
110. Sclafani AP, McCormick SA. Induction of dermal collagenesis, angiogenesis, and adipogenesis in human skin by injection of platelet-rich fibrin matrix. *Arch Facial Plast Surg.* 2012;14(2):132–6.
111. Kim DH, Je YJ, Kim CD, Lee YH, Seo YJ, Lee JH, et al. Can Platelet-rich Plasma Be Used for Skin Rejuvenation? Evaluation of Effects of Platelet-rich Plasma on Human Dermal Fibroblast. *Ann Dermatol.* 2011 Nov;23(4):424–31.
112. Bou L. PRP in cosmetic dermatology. In: Alves R, Grimalt R, editors. *Clinical Indications and Treatment Protocols with Platelet-rich Plasma in Dermatology*. Ediciones Mayo; 2016. p. 45–57.
113. Girão L. PRP and other applications in dermatology. In: Alves R, Grimalt R, editors. *Clinical Indications and Treatment Protocols with Platelet-Rich Plasma in Dermatology*. Barcelona: Ediciones Mayo; 2016. p. 73–78.
114. Giordano S, Romeo M, Lankinen P. Platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: Does it work? Evidence from meta analysis. *J Cosmet Dermatol.* 2017 Sep;16(3):374–81.

115. Ayatollahi A, Hosseini H, Gholami J, Mirminachi B, Firooz F, Firooz A. Platelet rich plasma for treatment of non-scarring hair loss: systematic review of literature. *J Dermatolog Treat*. 2017 Nov;28(7):574–81.
116. Wroblewski AP, Mejia HA, Wright VJ. Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. *Oper Tech Orthop* . 2010;20(2):98–105. Available from: <http://dx.doi.org/10.1053/j.oto.2009.10.006>
117. Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res*. 2006 Apr;17(2):212–9.
118. Myung PS, Takeo M, Ito M, Atit RP. Epithelial Wnt ligand secretion is required for adult hair follicle growth and regeneration. *J Invest Dermatol*. 2013 Jan;133(1):31–41.
119. Magalon J. Medical devices for the production of PRP: main aspects to be considered. In: Alves R, Grimalt R, editors. *Clinical Indications and Treatment Protocols with Platelet-Rich Plasma in Dermatology*. Barcelona: Ediciones Mayo; 2016. p. 17–28.
120. Kumaran MS. Platelet-rich plasma in dermatology: boon or a bane? *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2014;80(1):5–14.
121. Anitua E, Sanchez M, Orive G. The importance of understanding what is platelet-rich growth factor (PRGF) and what is not. Vol. 20, *Journal of shoulder and elbow surgery*. United States; 2011. p. e23-4; author reply e24.
122. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *J Cutan Aesthet Surg*. 2014;7(4):189–97.
123. Ehrenfest DMD, Sammartino G, Shibli JA, Wang H, Zou D, Bernard J. Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma - PRP , or Platelet-Rich Fibrin - PRF): the international classification of the POSEIDO. 2013;1(1):17–27.
124. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009 Mar;27(3):158–67.
125. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Mishra A, Borzini P, Inchingolo F, Sammartino G, et al. In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012 Jun;13(7):1131–7.
126. Mishra A, Harmon K, Woodall J, Vieira A. Sports medicine applications of platelet rich plasma. *Curr Pharm Biotechnol*. 2012 Jun;13(7):1185–95.
127. Magalon J, Chateau AL, Bertrand B, Louis ML, Silvestre A, Giraud L, et al. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ open Sport Exerc Med*. 2016;2(1):e000060.

128. De Pascale MR, Sommese L, Casamassimi A, Napoli C. Platelet derivatives in regenerative medicine: an update. *Transfus Med Rev.* 2015 Jan;29(1):52–61.
129. Wang H-L, Avila G. Platelet Rich Plasma: Myth or Reality? *Eur J Dent.* 2007 Oct;01(04):192–4.
130. Vendramin FS, Franco D, Franco TR. Methods to obtain autologous platelet-rich plasma gel. *Rev Bras Cir Plást.* 2009;24(2):212–8.
131. Oliveira-Filho MA de, Almeida LE, Pereira JA, Nassif PAN, Czezko NG, Kume MH, et al. Platelet-rich plasma in rabbits: Introduction of one experimental animal model. *ABCD Arq Bras Cir Dig (São Paulo).* 2008;21(4):175–9.
132. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998 Jun;85(6):638–46.
133. Fufa D, Shealy B, Jacobson M, Kevy S, Murray MM. Activation of platelet-rich plasma using soluble type I collagen. *J Oral Maxillofac Surg.* 2008 Apr;66(4):684–90.
134. Vendramin FS, Franco D, Schamall RF, Romero Franco T. Use of autologous platelet-rich plasma (PRP) in skin grafts in rabbits. *Rev Bras Cir Plást.* 2010;25(1):4–10.
135. Tate K, Crane D. Platelet rich plasma grafts in musculoskeletal medicine. *J Prolother.* 2010;371–6. Available from: http://www.ucmmed.com/literatur/ort_proteal_literatur/ort_kas_tissue_06_prp_grafts.pdf
136. Everts PAM, Knape JTA, Weibrich G, Schonberger JPAM, Hoffmann J, Overvest EP, et al. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *J Extra Corpor Technol.* 2006 Jun;38(2):174–87.
137. Crane D, Everts P. Platelet rich plasma (PRP) matrix grafts. *Pract Pain Manag.* 2008;8(1):11–26.
138. Creaney L, Hamilton B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: the state of play. *Br J Sports Med.* 2008 May;42(5):314–20.
139. Longo UG, Loppini M, Berton A, Spiezia F, Maffulli N, Denaro V. Tissue engineered strategies for skeletal muscle injury. *Stem Cells Int.* 2012;2012:175038.
140. Schepull T, Kvist J, Norrman H, Trinks M, Berlin G, Aspenberg P. Autologous platelets have no effect on the healing of human achilles tendon ruptures: a randomized single-blind study. *Am J Sports Med.* 2011 Jan;39(1):38–47.
141. Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Kluter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002 Dec;31(6):615–9.
142. Barnes GL, Kostenuik PJ, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Growth factor regulation of fracture repair. *J Bone Miner Res.* 1999 Nov;14(11):1805–15.

143. Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem.* 1991 Apr;45(4):319–26.
144. Rosier RN, O’Keefe RJ, Hicks DG. The potential role of transforming growth factor beta in fracture healing. *Clin Orthop Relat Res.* 1998 Oct;(355 Suppl):S294–300.
145. Wang JS. Basic fibroblast growth factor for stimulation of bone formation in osteoinductive or conductive implants. *Acta Orthop Scand Suppl.* 1996 Apr;269:1–33.
146. Friesel RE, Maciag T. Molecular mechanisms of angiogenesis: fibroblast growth factor signal transduction. *FASEB J Off Publ Fed Am Soc Exp Biol.* 1995 Jul;9(10):919–25.
147. Canalis E, McCarthy TL, Centrella M. Effects of platelet-derived growth factor on bone formation in vitro. *J Cell Physiol.* 1989 Sep;140(3):530–7.
148. Steenfos HH. Growth factors and wound healing. *Scand J Plast Reconstr Surg hand Surg.* 1994 Jun;28(2):95–105.
149. Giannoudis P V, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury.* 2005 Nov;36 Suppl 3:S20–7.
150. Schuckert K-H, Jopp S, Osadnik M. Modern bone regeneration instead of bone transplantation: a combination of recombinant human bone morphogenetic protein-2 and platelet-rich plasma for the vertical augmentation of the maxillary bone—a single case report. *Tissue Eng Part C Methods.* 2010 Dec;16(6):1335–46.
151. Bhumiratana S, Vunjak-Novakovic G. Concise review: personalized human bone grafts for reconstructing head and face. *Stem Cells Transl Med.* 2012 Jan;1(1):64–9.
152. Tayapongsak P, O’Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994 Feb;52(2):161–5; discussion 166.
153. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg.* 1997 Nov;55(11):1294–9.
154. Batista MA, Leivas TP, Rodrigues CJ, Arenas GCF, Belitardo DR, Guarniero R. Comparison between the effects of platelet-rich plasma and bone marrow concentrate on defect consolidation in the rabbit tibia. *Clinics (Sao Paulo).* 2011;66(10):1787–92.
155. Creeper F, Lichanska AM, Marshall RI, Seymour GJ, Ivanovski S. The effect of platelet-rich plasma on osteoblast and periodontal ligament cell migration, proliferation and differentiation. *J Periodontal Res.* 2009 Apr;44(2):258–65.

156. Pieri F, Lucarelli E, Corinaldesi G, Fini M, Aldini NN, Giardino R, et al. Effect of mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on the healing of standardized bone defects in the alveolar ridge: a comparative histomorphometric study in minipigs. *J Oral Maxillofac Surg.* 2009 Feb;67(2):265–72.
157. Markopoulou CE, Markopoulos P, Dereka XE, Pepelassi E, Vrotsos IA. Effect of homologous PRP on proliferation of human periodontally affected osteoblasts. In vitro preliminary study. Report of a case. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2009;9(3):167–72.
158. Kim E-S, Kim J-J, Park E-J. Angiogenic factor-enriched platelet-rich plasma enhances in vivo bone formation around alloplastic graft material. *J Adv Prosthodont.* 2010 Mar;2(1):7–13.
159. Arvidson K, Abdallah BM, Applegate LA, Baldini N, Cenni E, Gomez-Barrena E, et al. Bone regeneration and stem cells. *J Cell Mol Med.* 2011 Apr;15(4):718–46.
160. Kanthan SR, Kavitha G, Addi S, Choon DSK, Kamarul T. Platelet-rich plasma (PRP) enhances bone healing in non-united critical-sized defects: a preliminary study involving rabbit models. *Injury.* 2011 Aug;42(8):782–9.
161. Nassan M. Evaluation of Intra-Osseous Defects Regeneration Treated by Platelet Rich Plasma Using Silver- Stained Nucleolar Organizer Regions (Agnors). *J Am Sci.* 2012 Jan 1;8:301–7.
162. Jensen TB, Rahbek O, Overgaard S, Soballe K. Platelet rich plasma and fresh frozen bone allograft as enhancement of implant fixation. An experimental study in dogs. *J Orthop Res.* 2004 May;22(3):653–8.
163. Roldan JC, Jepsen S, Miller J, Freitag S, Rueger DC, Acil Y, et al. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. *Bone.* 2004 Jan;34(1):80–90.
164. Yamada Y, Ueda M, Hibi H, Nagasaka T. Translational research for injectable tissue-engineered bone regeneration using mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: from basic research to clinical case study. *Cell Transplant.* 2004;13(4):343–55.
165. Borrelli V, Sterpetti A V, Coluccia P, Randone B, Cavallaro A, Santoro D'Angelo L, et al. Bimodal concentration-dependent effect of thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release in culture. *J Surg Res.* 2001 Oct;100(2):154–60.
166. Karp JM, Tanaka TS, Zohar R, Sodek J, Shoichet MS, Davies JE, et al. Thrombin mediated migration of osteogenic cells. *Bone.* 2005 Sep;37(3):337–48.
167. Gruber R, Karreth F, Kandler B, Fuerst G, Rot A, Fischer MB, et al. Platelet-released supernatants increase migration and proliferation, and decrease osteogenic differentiation of bone marrow-derived mesenchymal progenitor cells under in vitro conditions. *Platelets.* 2004 Feb;15(1):29–35.

168. Leong DKC, Benedict BCLT, Chew KTL. Autologous growth factors: A biological treatment in sports medicine. *Proc Singapore Healthc.* 2010;19(3):229-36.
169. Tay AG, Farhadi J, Suetterlin R, Pierer G, Heberer M, Martin I. Cell yield, proliferation, and postexpansion differentiation capacity of human ear, nasal, and rib chondrocytes. *Tissue Eng.* 2004;10(5-6):762-70.
170. Mizuta H, Kudo S, Nakamura E, Otsuka Y, Takagi K, Hiraki Y. Active proliferation of mesenchymal cells prior to the chondrogenic repair response in rabbit full-thickness defects of articular cartilage. *Osteoarthr Cartil.* 2004 Jul;12(7):586-96.
171. Akeda K, An HS, Okuma M, Attawia M, Miyamoto K, Thonar EJ-MA, et al. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthr Cartil.* 2006 Dec;14(12):1272-80.
172. Kruger JP, Hondke S, Endres M, Pruss A, Siclari A, Kaps C. Human platelet-rich plasma stimulates migration and chondrogenic differentiation of human subchondral progenitor cells. *J Orthop Res.* 2012 Jun;30(6):845-52.
173. van Buul GM, Koevoet WLM, Kops N, Bos PK, Verhaar JAN, Weinans H, et al. Platelet-rich plasma releasate inhibits inflammatory processes in osteoarthritic chondrocytes. *Am J Sports Med.* 2011 Nov;39(11):2362-70.
174. Sanchez M, Azofra J, Anitua E, Andia I, Padilla S, Santisteban J, et al. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. *Med Sci Sports Exerc.* 2003 Oct;35(10):1648-52.
175. Everts PAM, Devilee RJJ, Brown Mahoney C, Eeftinck-Schattenkerk M, Box HAM, Knape JTA, et al. Platelet gel and fibrin sealant reduce allogeneic blood transfusions in total knee arthroplasty. *Acta Anaesthesiol Scand.* 2006 May;50(5):593-9.
176. Berghoff WJ, Pietrzak WS, Rhodes RD. Platelet-rich plasma application during closure following total knee arthroplasty. *Orthopedics.* 2006 Jul;29(7):590-8.
177. Gardner MJ, Demetrakopoulos D, Klepchick PR, Mooar PA. The efficacy of autologous platelet gel in pain control and blood loss in total knee arthroplasty. An analysis of the haemoglobin, narcotic requirement and range of motion. *Int Orthop.* 2007 Jun;31(3):309-13.
178. Kon E, Filardo G, Delcogliano M, Presti M Lo, Russo A, Bondi A, et al. Platelet-rich plasma: new clinical application: a pilot study for treatment of jumper's knee. *Injury.* 2009 Jun;40(6):598-603.
179. Kon E, Buda R, Filardo G, Di Martino A, Timoncini A, Cenacchi A, et al. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2010 Apr;18(4):472-9.

180. Mei-Dan O, Carmont MR, Laver L, Mann G, Maffulli N, Nyska M. Platelet-rich plasma or hyaluronate in the management of osteochondral lesions of the talus. *Am J Sports Med.* 2012 Mar;40(3):534–41.
181. Spakova T, Rosocha J, Lacko M, Harvanova D, Gharaibeh A. Treatment of knee joint osteoarthritis with autologous platelet-rich plasma in comparison with hyaluronic acid. *Am J Phys Med Rehabil.* 2012 May;91(5):411–7.
182. Radice F, Yanez R, Gutierrez V, Rosales J, Pinedo M, Coda S. Comparison of magnetic resonance imaging findings in anterior cruciate ligament grafts with and without autologous platelet-derived growth factors. *Arthroscopy.* 2010 Jan;26(1):50–7.
183. Murray MM, Spindler KP, Abreu E, Muller JA, Nedder A, Kelly M, et al. Collagen-platelet rich plasma hydrogel enhances primary repair of the porcine anterior cruciate ligament. *J Orthop Res.* 2007 Jan;25(1):81–91.
184. Valentí Nin JR, Mora Gasque G, Valentí Azcárate A, Aquerreta Beola JD, Hernandez Gonzalez M. Has Platelet-Rich Plasma Any Role in Anterior Cruciate Ligament Allograft Healing? *Arthrosc - J Arthrosc Relat Surg.* 2009;25(11):1206–13. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arthro.2009.06.002>
185. Murray MM, Palmer M, Abreu E, Spindler KP, Zurakowski D, Fleming BC. Platelet-rich plasma alone is not sufficient to enhance suture repair of the ACL in skeletally immature animals: an in vivo study. *J Orthop Res.* 2009 May;27(5):639–45.
186. Rupreht M, Jevtic V, Sersa I, Vogrin M, Jevsek M. Evaluation of the tibial tunnel after intraoperatively administered platelet-rich plasma gel during anterior cruciate ligament reconstruction using diffusion weighted and dynamic contrast-enhanced MRI. *J Magn Reson Imaging.* 2013 Apr;37(4):928–35.
187. Wu W, Chen F, Liu Y, Ma Q, Mao T. Autologous injectable tissue-engineered cartilage by using platelet-rich plasma: experimental study in a rabbit model. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007 Oct;65(10):1951–7.
188. Saito M, Takahashi KA, Arai Y, Inoue A, Sakao K, Tonomura H, et al. Intraarticular administration of platelet-rich plasma with biodegradable gelatin hydrogel microspheres prevents osteoarthritis progression in the rabbit knee. *Clin Exp Rheumatol.* 2009;27(2):201–7.
189. Gotterbarm T, Richter W, Jung M, Berardi Vilei S, Mainil-Varlet P, Yamashita T, et al. An in vivo study of a growth-factor enhanced, cell free, two-layered collagen-tricalcium phosphate in deep osteochondral defects. *Biomaterials.* 2006 Jun;27(18):3387–95.
190. Sun Y, Feng Y, Zhang CQ, Chen SB, Cheng XG. The regenerative effect of platelet-rich plasma on healing in large osteochondral defects. *Int Orthop.* 2010 Apr;34(4):589–97.

191. Wahlstrom O, Linder CH, Ansell A, Kalen A, Soderstrom M, Magnusson P. Acidic preparations of lysed platelets upregulate proliferative pathways in osteoblast-like cells as demonstrated by genome-wide microarray analysis. *Platelets*. 2011;22(6):452–60.
192. Filardo G, Kon E, Buda R, Timoncini A, Di Martino A, Cenacchi A, et al. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011 Apr;19(4):528–35.
193. Shi M, Ishikawa M, Kamei N, Nakasa T, Adachi N, Deie M, et al. Acceleration of skeletal muscle regeneration in a rat skeletal muscle injury model by local injection of human peripheral blood-derived CD133-positive cells. *Stem Cells*. 2009 Apr;27(4):949–60.
194. De Carli A, Volpi P, Pelosini I, Ferretti A, Melegati G, Mossa L, et al. New therapeutic approaches for management of sport-induced muscle strains. *Adv Ther*. 2009 Dec;26(12):1072–83.
195. Hamilton BH, Best TM. Platelet-enriched plasma and muscle strain injuries: challenges imposed by the burden of proof. *Clin J Sport Med Off J Can Acad Sport Med*. 2011 Jan;21(1):31–6.
196. Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, Muriel JM, Lovering RM. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. *Am J Sports Med*. 2009 Jun;37(6):1135–42.
197. Kasemkijwattana C, Menetrey J, Bosch P, Somogyi G, Moreland MS, Fu FH, et al. Use of growth factors to improve muscle healing after strain injury. *Clin Orthop Relat Res*. 2000 Jan;(370):272–85.
198. Musaro A, McCullagh K, Paul A, Houghton L, Dobrowolny G, Molinaro M, et al. Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat Genet*. 2001 Feb;27(2):195–200.
199. Alsousou J, Thompson M, Hulley P, Noble A, Willett K. The biology of platelet-rich plasma and its application in trauma and orthopaedic surgery: a review of the literature. *J Bone Joint Surg Br*. 2009 Aug;91(8):987–96.
200. Wright-Carpenter T, Klein P, Schaferhoff P, Appell HJ, Mir LM, Wehling P. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: a pilot study on sportsmen with muscle strains. *Int J Sports Med*. 2004 Nov;25(8):588–93.
201. Cugat R, Carrillo J, Serra I. Articular cartilage defects reconstruction by plasma rich growth factors. In: Timeo Editore, editor. *Basic science, clinical repair and reconstruction of articular cartilage defects: current status and prospects*. Bologne (Italy); 2006. p. 801–7.
202. Castricini R, Longo UG, De Benedetto M, Panfoli N, Pirani P, Zini R, et al. Platelet-rich plasma augmentation for arthroscopic rotator cuff repair: a randomized controlled trial. *Am J Sports Med*. 2011 Feb;39(2):258–65.

203. Jo CH, Kim JE, Yoon KS, Lee JH, Kang SB, Lee JH, et al. Does platelet-rich plasma accelerate recovery after rotator cuff repair? A prospective cohort study. *Am J Sports Med.* 2011 Oct;39(10):2082–90.
204. Rodeo SA, Delos D, Williams RJ, Adler RS, Pearle A, Warren RF. The effect of platelet-rich fibrin matrix on rotator cuff tendon healing: a prospective, randomized clinical study. *Am J Sports Med.* 2012 Jun;40(6):1234–41.
205. Tinsley BA, Ferreira J V., Dukas AG, Mazzocca AD. Platelet-Rich Plasma Nonoperative Injection Therapy—A Review of Indications and Evidence. *Oper Tech Sports Med.* 2012 Jun 1 [cited 2020 Jan 8];20(2):192–200. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1060187212000366>
206. Maffulli N, Wong J, Almekinders LC. Types and epidemiology of tendinopathy. *Clin Sports Med.* 2003 Oct;22(4):675–92.
207. Alfredson H. Chronic midportion Achilles tendinopathy: an update on research and treatment. *Clin Sports Med.* 2003 Oct;22(4):727–41.
208. Jarvinen TAH, Kannus P, Maffulli N, Khan KM. Achilles tendon disorders: etiology and epidemiology. *Foot Ankle Clin.* 2005 Jun;10(2):255–66.
209. Lopez-Gavito E, Gomez-Carlin LA, Parra-Tellez P, Vazquez-Escamilla J. [Platelet-rich plasma for managing calcaneus tendon tendinopathy and plantar fasciitis]. *Acta Ortop Mex.* 2011;25(6):380–5.
210. Baksh N, Hannon CP, Murawski CD, Smyth NA, Kennedy JG. Platelet-rich plasma in tendon models: a systematic review of basic science literature. *Arthroscopy.* 2013 Mar;29(3):596–607.
211. Bosch G, Moleman M, Barneveld A, van Weeren PR, van Schie HTM. The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions. *Scand J Med Sci Sports.* 2011 Aug;21(4):554–61.
212. Spang JT, Tischer T, Salzmann GM, Winkler T, Burgkart R, Wexel G, et al. Platelet concentrate vs. saline in a rat patellar tendon healing model. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011 Mar;19(3):495–502.
213. Lyras DN, Kazakos K, Tryfonidis M, Agrogiannis G, Botaitis S, Kokka A, et al. Temporal and spatial expression of TGF- β 1 in an Achilles tendon section model after application of platelet-rich plasma. *Foot Ankle Surg.* 2010 Sep;16(3):137–41.
214. Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med.* 2006 Nov;34(11):1774–8.
215. Scarpone MA, Moria Davenport D, Rauker N. PRP as a treatment alternative for Symptomatic Rotator Cuff Tendinopathy for patients failing conservative treatment.
216. Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med.* 2007 Feb ;35(2):245–51.

217. Gaweda K, Tarczyska M, Krzyzanowski W. Treatment of achilles tendinopathy with platelet-rich plasma. *Int J Sports Med*. 2010;31(8):577–83.
218. De Almeida AM, Demange MK, Sobrado MF, Rodrigues MB, Pedrinelli A, Hernandez AJ. Patellar tendon healing with platelet-rich plasma: A prospective randomized controlled trial. *Am J Sports Med*. 2012 Jun;40(6):1282–8.
219. Kaux JF, Crielaard JM. Platelet-rich plasma application in the management of chronic tendinopathies. Vol. 79, *Acta Orthopaedica Belgica*. 2013. p. 10–5.
220. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials*. 2007 Nov ;28(31):4551–60.
221. Andia I, Abate M. Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates. *Regen Med*. 2013 Sep ;8(5):645–58.
222. Borena BM, Martens A, Broeckx SY, Meyer E, Chiers K, Duchateau L, et al. Regenerative Skin Wound Healing in Mammals: State-of-the-Art on Growth Factor and Stem Cell Based Treatments. *Cell Physiol Biochem*. 2015 ;36(1):1–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25924569>
223. Suthar M, Gupta S, Bukhari S, Ponemone V. Treatment of chronic non-healing ulcers using autologous platelet rich plasma: a case series. *J Biomed Sci*. 2017 Feb 27 ;24(1):16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28241824>
224. Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: Support for its use in wound healing. *Yale Journal of Biology and Medicine*. 2010 Mar; 83(1):1-9.
225. Yung YL, Fu SC, Cheuk YC, Qin L, Ong MTY, Chan KM, et al. Optimisation of platelet concentrates therapy: Composition, localisation, and duration of action. Vol. 7, *Asia-Pacific Journal of Sports Medicine, Arthroscopy, Rehabilitation and Technology*. Elsevier (Singapore) Pte Ltd; 2017. p. 27–36.
226. Jee C-H, Eom N-Y, Jang H-M, Jung H-W, Choi E-S, Won J-H, et al. Effect of autologous platelet-rich plasma application on cutaneous wound healing in dogs. *J Vet Sci*. 2016 Mar ;17(1):79–87.
227. Sardari K, Emami MR, Kazemi H, Movasagi AR, Goli AA, Lotfi A, et al. Effects of platelet-rich plasma (PRP) on cutaneous regeneration and wound healing in dogs treated with dexamethasone. *Comp Clin Path*. 2011 Apr;20(2):155–62.
228. Carter CA, Jolly DG, Worden CE, Hendren DG, Kane CJM. Platelet-rich plasma gel promotes differentiation and regeneration during equine wound healing. *Exp Mol Pathol*. 2003;74(3):244–55.
229. Dionyssiou D, Demiri E, Foroglou P, Cheva A, Saratzis N, Aivazidis C, et al. The effectiveness of intralesional injection of platelet-rich plasma in accelerating the healing of chronic ulcers: an experimental and clinical study. *Int Wound J*. 2013 Aug ;10(4):397–406.

230. Lee H-W, Reddy MS, Geurs N, Palcanis KG, Lemons JE, Rahemtulla FG, et al. Efficacy of Platelet-Rich Plasma on Wound Healing in Rabbits. *J Periodontol*. 2008 Apr;79(4):691–6.
231. Brissett AE, Hom DB. The effects of tissue sealants, platelet gels, and growth factors on wound healing. *Current Opinion in Otolaryngology and Head and Neck Surgery*. 2003 Aug;11(4):245-50.
232. Krupski WC, Reilly LM, Perez S, Moss KM, Crombleholme PA, Rapp JH. A prospective randomized trial of autologous platelet-derived wound healing factors for treatment of chronic nonhealing wounds: a preliminary report. *J Vasc Surg*. 1991 Oct;14(4):526.
233. Behm B, Babilas P, Landthaler M, Schreml S. Cytokines, chemokines and growth factors in wound healing. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2012 Jul;26(7):812-20.
234. Griffeth RJ, García-Párraga D, Mellado-López M, Crespo-Picazo JL, Soriano-Navarro M, Martínez-Romero A, et al. Platelet-rich plasma and adipose-derived mesenchymal stem cells for regenerative medicine-associated treatments in bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *PLoS One* . 2014 ;9(9):e108439. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25251412>
235. Babaei V, Afradi H, Gohardani HZ, Nasser F, Azarafza M, Teimourian S. Management of chronic diabetic foot ulcers using platelet-rich plasma. *J Wound Care*. 2017 Dec 1;26(12):784–7.
236. Hersant B, SidAhmed-Mezi M, Bosc R, Meningaud J-P. Autologous Platelet-Rich Plasma/Thrombin Gel Combined with Split-Thickness Skin Graft to Manage Postinfectious Skin Defects: A Randomized Controlled Study. *Adv Skin Wound Care* . 2017 Nov ;30(11):502–8.
237. Cieslik-Bielecka A, Skowroński R, Jędrusik-Pawłowska M, Pierchała M. The application of L-PRP in AIDS patients with crural chronic ulcers: A pilot study. *Adv Med Sci* . 2018 Mar ;63(1):140–6.
238. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001;107(1):229–36.
239. Frykberg RG, Driver VR, Carman D, Lucero B, Borris-Hale C, Fylling CP, et al. Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet-rich plasma gel: a prospective case series. *Ostomy Wound Manage*. 2010 Jun;56(6):36–44.
240. Driver VR, Hanft J, Fylling CP, Beriou JM. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy Wound Manag* . 2006 ;52(6):68–87.
241. Steenvoorde P, van Doorn LP, Naves C, Oskam J. Use of autologous platelet-rich fibrin on hard-to-heal wounds. *J Wound Care*. 2008;17(2):60–3.

242. Roubelakis MG, Trohatou O, Roubelakis A, Mili E, Kalaitzopoulos I, Papazoglou G, et al. Platelet-rich plasma (PRP) promotes fetal mesenchymal stem/stromal cell migration and wound healing process. *Stem cell Rev reports* . 2014 Jun ;10(3):417–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24500853>
243. Mazzucco L, Medici D, Serra M, Panizza R, Rivara G, Orecchia S, et al. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study. *Transfusion* . 2004 Jul ;44(7):1013–8.
244. Amable PR, Carias RBV, Teixeira MVT, da Cruz Pacheco I, Corrêa do Amaral RJF, Granjeiro JM, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther* . 2013 Jun 7 ;4(3):67.
245. McAleer JP, Sharma S, Kaplan EM, Persich G. Use of autologous platelet concentrate in a nonhealing lower extremity wound. *Adv Skin Wound Care*. 2006;19(7):354–63.
246. Carter MJ, Fyelling CP, Parnell LKS. Use of platelet rich plasma gel on wound healing: a systematic review and meta-analysis. *Eplasty* . 2011 ;11:e38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22028946>
247. Na J-I, Choi J-W, Choi H-R, Jeong J-B, Park K-C, Youn S-W, et al. Rapid healing and reduced erythema after ablative fractional carbon dioxide laser resurfacing combined with the application of autologous platelet-rich plasma. *Dermatol Surg* . 2011 Apr ;37(4):463–8.
248. Farghali HA, AbdElKader NA, Khattab MS, AbuBakr HO. Evaluation of subcutaneous infiltration of autologous platelet-rich plasma on skin-wound healing in dogs. *Biosci Rep* . 2017 ;37(2).
249. Cho J-W, Kim S-A, Lee K-S. Platelet-rich plasma induces increased expression of G1 cell cycle regulators, type I collagen, and matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. *Int J Mol Med* . 2012 Jan ;29(1):32–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21964487>
250. DeRossi R, Coelho ACADO, De Mello GS, Frazílio FO, Leal CRB, Facco GG, et al. Effects of platelet-rich plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Cir Bras*. 2009 Jul;24(4):276–81.
251. Kim J-H, Park C, Park H-M. Curative effect of autologous platelet-rich plasma on a large cutaneous lesion in a dog. *Vet Dermatol* . 2009 Apr ;20(2):123–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19159413>
252. Schreml S, Szeimies RM, Prantl L, Landthaler M, Babilas P. Wound healing in the 21st century. Vol. 63, *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2010. p. 866–81.
253. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol*. 2007 Jan;25(1):9–18.

254. Karayannopoulou M, Psalla D, Kazakos G, Loukopoulos P, Giannakas N, Savvas I, et al. Effect of locally injected autologous platelet-rich plasma on second intention wound healing of acute full-thickness skin defects in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol* . 2015;28(3):172–8.
255. Karayannopoulou M, Papazoglou LG, Loukopoulos P, Kazakos G, Chantes A, Giannakas N, et al. Locally injected autologous platelet-rich plasma enhanced tissue perfusion and improved survival of long subdermal plexus skin flaps in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol* . 2014 ;27(5):379–86. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25088504>
256. Zhang F, Waller W, Lineaweaver WC. Growth factors and flap survival. *Microsurgery*. 2004;24(3):162-7.
257. Takikawa M, Sumi Y, Ishihara M, Kishimoto S, Nakamura S, Yanagibayashi S, et al. PRP&F/P MPs improved survival of dorsal paired pedicle skin flaps in rats. *J Surg Res* . 2011 Sep ;170(1):e189-96.
258. Li W, Enomoto M, Ukegawa M, Hirai T, Sotome S, Wakabayashi Y, et al. Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene expression and improve survival rates. *Plast Reconstr Surg* . 2012 Apr ;129(4):858–66.
259. Molina-Miñano F, López-Jornet P, Camacho-Alonso F, Vicente-Ortega V. The use of plasma rich in growth factors on wound healing in the skin: experimental study in rabbits. *Int Wound J* . 2009 Apr ;6(2):145–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19432664>
260. Jinming W, Caiyue L, Baojin W, Antang L, Yingfan Z, Hui W, et al. Effects of Platelet-Rich Plasma on Tissue Expansion in Rabbits. *Aesthetic Plast Surg*. 2017 Apr 1;41(2):454–60.
261. Lian Z, Yin X, Li H, Jia L, He X, Yan Y, et al. Synergistic effect of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma in streptozotocin-induced diabetic rats. *Ann Dermatol*. 2014 Feb ;26(1):1–10.
262. Park YG, Lee IH, Park ES, Kim JY. Hydrogel and Platelet-Rich Plasma Combined Treatment to Accelerate Wound Healing in a Nude Mouse Model. *Arch Plast Surg* . 2017 May ;44(3):194–201.
263. Sell SA, Wolfe PS, Spence AJ, Rodriguez IA, McCool JM, Petrella RL, et al. A preliminary study on the potential of manuka honey and platelet-rich plasma in wound healing. *Int J Biomater* . 2012 ;2012:313781. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23304152>
264. Maxson S, Lopez EA, Yoo D, Danilkovitch-Miagkova A, LeRoux MA. Concise Review: Role of Mesenchymal Stem Cells in Wound Repair. *Stem Cells Transl Med*. 2012 Feb;1(2):142–9.
265. Isakson M, de Blacam C, Whelan D, McArdle A, Clover AJP. Mesenchymal Stem Cells and Cutaneous Wound Healing: Current Evidence and Future Potential. *Stem Cells Int* . 2015 ;2015:831095.

266. Peerbooms JC, van Laar W, Faber F, Schuller HM, van der Hoeven H, Gosens T. Use of platelet rich plasma to treat plantar fasciitis: design of a multi centre randomized controlled trial. *BMC Musculoskelet Disord* . 2010 Apr 14 ;11:69. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20398269>
267. Rožman P, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. Vol. 16, *Acta Dermatovenerologica Alpina, Pannonica et Adriatica*. 2007. p. 156–65.
268. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone JV, et al. Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: Workable options for every size practice. Vol. 40, *Journal of Oral Implantology*. 2014. p. 500–10.
269. Grambart ST. *Sports Medicine and Platelet-rich Plasma: Nonsurgical Therapy*. Vol. 32, *Clinics in Podiatric Medicine and Surgery*. W.B. Saunders; 2015. p. 99–107.
270. Borzini P, Mazzucco L, Giampaolo A, Hassan HJ. Platelet gel - the Italian way: a call for procedure standardization and quality control. *Transfus Med* . 2006 Aug ;16(4):303–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16879159>
271. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3).
272. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* . 2006 Mar ;101(3):e45-50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16504850>
273. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3).
274. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3):56–60.
275. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endodontology*. 2006;101(3):299–303.
276. Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: The good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology*. 2005 Nov;15(11):599-607.
277. Tsirogianni AK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Wound healing: Immunological aspects. *Injury*. 2006 Apr;37(1).

278. Adamson R. Role of macrophages in normal wound healing: an overview. *Journal of wound care*. 2009 Aug;18(8):349-51.
279. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone JV, et al. Platelet-rich preparations to improve healing. Part II: platelet activation and enrichment, leukocyte inclusion, and other selection criteria. *J Oral Implantol* . 2014 Aug ;40(4):511–21.
280. Ghasemzadeh M, Hosseini E. Intravascular leukocyte migration through platelet thrombi: directing leukocytes to sites of vascular injury. *Thromb Haemost* . 2015 Jun ;113(6):1224–35.
281. Lundquist R, Dziegiel MH, Ågren MS. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin. *Wound Repair and Regeneration*. 2008 May-Jun;16(3):356-63.
282. Lundquist R, Holmstrøm K, Clausen C, Jørgensen B, Karlsmark T. Characteristics of an autologous leukocyte and platelet-rich fibrin patch intended for the treatment of recalcitrant wounds. *Wound Repair Regen*; 21(1):66–76.
283. Clipet F, Tricot S, Alno N, Massot M, Solhi H, Cathelineau G, et al. In vitro effects of Choukroun's platelet-rich fibrin conditioned medium on 3 different cell lines implicated in dental implantology. *Implant Dent* . 2012 Feb ;21(1):51–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21986450>
284. Vahabi S, Vaziri S, Torshabi M, Rezaei Esfahrood Z. Effects of Plasma Rich in Growth Factors and Platelet-Rich Fibrin on Proliferation and Viability of Human Gingival Fibroblasts. *J Dent (Tehran)* . 2015 Jul ;12(7):504–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26877740>
285. Roy S, Driggs J, Elgharably H, Biswas S, Findley M, Khanna S, et al. Platelet-rich fibrin matrix improves wound angiogenesis via inducing endothelial cell proliferation. *Wound Repair Regen* . 2011 Nov; 19(6):753–66.
286. Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. *J Oral Implantol* .2014;40(6):679–89. Available from: <http://www.joionline.org/doi/abs/10.1563/aaid-joi-D-14-00138>
287. Miron RJ, Bosshardt DD. OsteoMacs: Key players around bone biomaterials. *Biomaterials*. 2016 Mar;82:1-19.
288. Sinder BP, Pettit AR, McCauley LK. Macrophages: Their Emerging Roles in Bone . Vol. 30, *Journal of Bone and Mineral Research*. John Wiley and Sons Inc.; 2015. p. 2140–9.
289. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig* . 2016 Dec ;20(9):2353–60.
290. Ng F, Boucher S, Koh S, Sastry KSR, Chase L, Lakshmiathy U, et al. PDGF, TGF-beta, and FGF signaling is important for differentiation and growth of mesenchymal stem cells (MSCs). *Blood*. 2008;112(2):295–307.

291. Pierce GF, Tarpley JE, Tseng J, Bready J, Chang D, Kenney WC, et al. Detection of platelet-derived growth factor (PDGF)-AA in actively healing human wounds treated with recombinant PDGF-BB and absence of PDGF in chronic nonhealing wounds. *J Clin Invest* . 1995 Sep ;96(3):1336–50. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7657809>
292. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile W V, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol* . 1997 Dec ;68(12):1186–93.
293. Epstein FH, Border WA, Noble NA. Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *New England Journal of Medicine*. 1994 Nov 10;331(19):1286-92.
294. Bowen T, Jenkins RH, Fraser DJ. MicroRNAs, transforming growth factor beta-1, and tissue fibrosis. *J Pathol* . 2013 Jan ;229(2):274–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23042530>
295. Shamloo A, Xu H, Heilshorn S. Mechanisms of vascular endothelial growth factor-induced pathfinding by endothelial sprouts in biomaterials. *Tissue Eng - Part A*. 2012 Feb 1;18(3–4):320–30.
296. Leach JK, Kaigler D, Wang Z, Krebsbach PH, Mooney DJ. Coating of VEGF-releasing scaffolds with bioactive glass for angiogenesis and bone regeneration. *Biomaterials* . 2006 Jun ;27(17):3249–55.
297. Giannobile W V., Hernandez RA, Finkelman RD, Ryan S, Kiritsy CP, D’Andrea M, et al. Comparative effects of platelet-derived growth factor-BB and insulin-like growth factor-I, individually and in combination, on periodontal regeneration in *Macaca fascicularis*. *Journal of Periodontal Research*. Blackwell Munksgaard; 1996 Jul;31(5):301-12.
298. Bayer A, Lammel J, Rademacher F, Groß J, Siggelkow M, Lippross S, et al. Platelet-released growth factors induce the antimicrobial peptide human beta-defensin-2 in primary keratinocytes. *Exp Dermatol* . 2016 ;25(6):460–5.
299. Suzuki S, Morimoto N, Ikada Y. Gelatin gel as a carrier of platelet-derived growth factors. *J Biomater Appl*. 2013 Nov;28(4):595–606.
300. Li Q, Pan S, Dangaria SJ, Gopinathan G, Kolokythas A, Chu S, et al. Platelet-rich fibrin promotes periodontal regeneration and enhances alveolar bone augmentation. *Biomed Res Int*. 2013;2013:1–13.
301. Horii K, Kanayama T, Miyamoto H, Kohgo T, Tsuchimochi T, Shigetomi T, et al. Platelet-rich fibrin has a healing effect on chemotherapy-induced mucositis in hamsters. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* . 2014 Apr ;117(4):445–53. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24485786>
302. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *Br J Oral Maxillofac Surg* . 2013 Jul ;51(5):438–43.

303. Chen Y, Niu Z, Xue Y, Yuan F, Fu Y, Bai N. Improvement in the repair of defects in maxillofacial soft tissue in irradiated minipigs by a mixture of adipose-derived stem cells and platelet-rich fibrin. *Br J Oral Maxillofac Surg* . 2014 Oct ;52(8):740–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24993354>
304. Reksodiputro M, Widodo D, Bashiruddin J, Siregar N, Malik S. PRFM enhance wound healing process in skin graft. *Facial Plast Surg* . 2014 Dec ;30(6):670–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25536135>
305. Liu B, Tan XY, Liu YP, Xu XF, Li L, Xu HY, et al. The adjuvant use of stromal vascular fraction and platelet-rich fibrin for autologous adipose tissue transplantation. *Tissue Eng - Part C Methods*. 2013 Jan 1;19(1):1–14.
306. Soyer T, Ayva Ş, Boybeyi Ö, Aslan MK, Çakmak M. The effect of platelet rich fibrin on growth factor levels in urethral repair. *J Pediatr Surg* . 2013 Dec ;48(12):2545–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24314201>
307. Sun C-K, Zhen Y-Y, Leu S, Tsai T-H, Chang L-T, Sheu J-J, et al. Direct implantation versus platelet-rich fibrin-embedded adipose-derived mesenchymal stem cells in treating rat acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* . 2014 May 15 ;173(3):410–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24685001>
308. Chen YL, Sun CK, Tsai TH, Chang LT, Leu S, Zhen YY, et al. Adipose-derived mesenchymal stem cells embedded in platelet-rich fibrin scaffolds promote angiogenesis, preserve heart function, and reduce left ventricular remodeling in rat acute myocardial infarction. *Am J Transl Res*. 2015 Jul 7;7(5):781–803.
309. Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM, Carile F, Tia M, Bucci P. Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin. *J Oral Implantol* . 2011 Dec ;37(6):681–90.
310. Hoaglin DR, Lines GK. Prevention of localized osteitis in mandibular third-molar sites using platelet-rich fibrin. Vol. 2013, *International Journal of Dentistry*. 2013.
311. Suttapreyasri S, Leepong N. Influence of platelet-rich fibrin on alveolar ridge preservation. *J Craniofac Surg*. 2013 Jul;24(4):1088–94.
312. Yelamali T, Saikrishna D. Role of platelet rich fibrin and platelet rich plasma in wound healing of extracted third molar sockets: a comparative study. *J Maxillofac Oral Surg* . 2015 Jun ;14(2):410–6.
313. Anilkumar K, Geetha A, Umasudhakar, Ramakrishnan T, Vijayalakshmi R, Pameela E. Platelet-rich-fibrin: A novel root coverage approach. *J Indian Soc Periodontol* . 2009 Jan ;13(1):50–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20376243>
314. Jankovic S, Aleksic Z, Klokkevold P, Lekovic V, Dimitrijevic B, Kenney EB, et al. Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *Int J Periodontics Restorative Dent* . 2012 Apr ;32(2):e41-50.

315. Eren G, Tervahartiala T, Sorsa T, Atilla G. Cytokine (interleukin-1beta) and MMP levels in gingival crevicular fluid after use of platelet-rich fibrin or connective tissue graft in the treatment of localized gingival recessions. *J Periodontol Res*. 2016 Aug 1;51(4):481–8.
316. Jain V, Triveni MG, Kumar ABT, Mehta DS. Role of platelet-rich-fibrin in enhancing palatal wound healing after free graft. *Contemp Clin Dent* . 2012 Sep ;3 (Suppl 2):S240-3.
317. Kulkarni MR, Thomas BS, Varghese JM, Bhat GS. Platelet-rich fibrin as an adjunct to palatal wound healing after harvesting a free gingival graft: A case series. *J Indian Soc Periodontol*. 2014;18(3):399–402.
318. Femminella B, Iaconi MC, Di Tullio M, Romano L, Sinjari B, D’Arcangelo C, et al. Clinical Comparison of Platelet-Rich Fibrin and a Gelatin Sponge in the Management of Palatal Wounds After Epithelialized Free Gingival Graft Harvest: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol* . 2016 Feb ;87(2):103–13.
319. Pathak H, Mohanty S, Urs AB, Dabas J. Treatment of oral mucosal lesions by scalpel excision and platelet-rich fibrin membrane grafting: A review of 26 sites. *J Oral Maxillofac Surg*. 2015 Sep 1;73(9):1865–74.
320. Ajwani H, Shetty S, Gopalakrishnan D, Kathariya R, Kulloli A, Dolas RS, et al. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin biomaterial and open flap debridement in the treatment of two and three wall intrabony defects. *J Int oral Heal JIOH* . 2015 Apr ;7(4):32–7.
321. di Lauro AE, Abbate D, Dell’Angelo B, Iannaccone GA, Scotto F, Sammartino G. Soft tissue regeneration using leukocyte-platelet rich fibrin after exeresis of hyperplastic gingival lesions: two case reports. *J Med Case Rep* . 2015 Nov 2 ;9:252.
322. Munoz F, Jiménez C, Espinoza D, Vervelle A, Beugnet J, Haidar Z. Use of leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) in periodontally accelerated osteogenic orthodontics (PAOO): Clinical effects on edema and pain. *J Clin Exp Dent* . 2016 Apr ;8(2):e119-24.
323. Danielsen P, Jørgensen B, Karlsmark T, Jorgensen LN, Agren MS. Effect of topical autologous platelet-rich fibrin versus no intervention on epithelialization of donor sites and meshed split-thickness skin autografts: a randomized clinical trial. *Plast Reconstr Surg* . 2008 Nov ;122(5):1431–40.
324. O’Connell SM, Impeduglia T, Hessler K, Wang XJ, Carroll RJ, Dardik H. Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers. *Wound Repair Regen*. 2008 Nov;16(6):749–56.
325. Jørgensen B, Karlsmark T, Vogensen H, Haase L, Lundquist R. A pilot study to evaluate the safety and clinical performance of Leucopatch, an autologous, additive-free, platelet-rich fibrin for the treatment of recalcitrant chronic wounds. *Int J Low Extrem Wounds* . 2011 Dec ;10(4):218–23.

326. Löndahl M, Tarnow L, Karlsmark T, Lundquist R, Nielsen AM, Michelsen M, et al. Use of an autologous leucocyte and platelet-rich fibrin patch on hard-to-heal DFUs: a pilot study. *J Wound Care* . 2015 Apr ;24(4):172–4, 176–8.
327. Chignon-Sicard B, Georgiou CA, Fontas E, David S, Dumas P, Ihrat T, et al. Efficacy of leukocyte-and platelet-rich fibrin in wound healing: A randomized controlled clinical trial. *Plast Reconstr Surg*. 2012 Dec;130(6).
328. Desai CB, Mahindra UR, Kini YK, Bakshi MK. Use of Platelet-Rich Fibrin over Skin Wounds: Modified Secondary Intention Healing. *J Cutan Aesthet Surg* . 2013 Jan ;6(1):35–7.
329. Danielsen PL, Agren MS, Jorgensen LN. Platelet-rich fibrin versus albumin in surgical wound repair: a randomized trial with paired design. *Ann Surg* . 2010 May ;251(5):825–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20395860>
330. Sclafani AP. Safety, efficacy, and utility of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery. *Arch Facial Plast Surg* . ;13(4):247–51.
331. Gorlero F, Glorio M, Lorenzi P, Bruno-Franco M, Mazzei C. New approach in vaginal prolapse repair: mini-invasive surgery associated with application of platelet-rich fibrin. *Int Urogynecol J* . 2012 Jun ;23(6):715–22.
332. Soyer T, Çakmak M, Aslan MK, Şenyücel MF, Kisa Ü. Use of autologous platelet rich fibrin in urethracutaneous fistula repair: Preliminary report. *Int Wound J*. 2013 Jun;10(3):345–7.
333. Guinot A, Arnaud A, Azzis O, Habonimana E, Jasienski S, Frémond B. Preliminary experience with the use of an autologous platelet-rich fibrin membrane for urethroplasty coverage in distal hypospadias surgery. *J Pediatr Urol*. 2014;10(2):300–5.
334. Braccini F, Chignon-Sicard B, Volpei C, Choukroun J. Modern lipostructure: the use of platelet rich fibrin (PRF). *Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord)* . 2013 ;134(4–5):231–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25252580>
335. Zumstein MA, Rumian A, Lesbats V, Schaer M, Boileau P. Increased vascularization during early healing after biologic augmentation in repair of chronic rotator cuff tears using autologous leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF): a prospective randomized controlled pilot trial. *J Shoulder Elb Surg* . 2014 Jan ;23(1):3–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24331121>
336. Habesoglu M, Oysu C, Sahin S, Sahin-Yilmaz A, Korkmaz D, Tosun A, et al. Platelet-rich fibrin plays a role on healing of acute-traumatic ear drum perforation. *J Craniofac Surg* . 2014 Nov ;25(6):2056–8.
337. Sclafani AP, Romo T, Ukrainsky G, McCormick SA, Litner J, Kevy S V, et al. Modulation of wound response and soft tissue ingrowth in synthetic and allogeneic implants with platelet concentrate. *Arch Facial Plast Surg* ;7(3):163–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15897404>

338. Andia I, Abate M. Platelet-rich plasma in the treatment of skeletal muscle injuries. Vol. 15, *Expert Opinion on Biological Therapy*. Informa Healthcare; 2015. p. 987–99.
339. Del Fabbro M, Corbella S, Taschieri S, Francetti L, Weinstein R. Autologous platelet concentrate for post-extraction socket healing: a systematic review. *Eur J Oral Implantol* . 2014 ;7(4):333–44.
340. P A, Patil P, Kumar R V, Kripal K. Role and Efficacy of L-PRFmatrix in the Regeneration of Periodontal Defect: A New Perspective. *J Clin Diagn Res* . 2014 Dec ;8(12):ZD03-5.
341. Cieslik-Bielecka A, Dohan Ehrenfest DM, Lubkowska A, Bielecki T. Microbicidal properties of Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma/Fibrin (L-PRP/L-PRF): new perspectives. Vol. 26, *Journal of biological regulators and homeostatic agents*. 2012.
342. Canedo IF, Sánchez NB, Troya M De. Matricectomía química con fenol Chemical Matricectomy with Phenol. 2016;104(1):80–1.
343. Yale JF. Phenol-Alcohol Technique for Correction of Infected Ingrown Toenail. *J Am Podiatr Med Assoc*. 2007;97(4):310–8.
344. Wallace W, Milne D, Andrew T. Gutter treatment for ingrowing toenails. *Br Med J*. 1979;2(168):71.
345. Gallocher J. The phenol/alcohol method of nail matrix sterilization. *N Z Med J*. 1977;86(140):1.
346. Drago J, Jacobs A, Oloff L. A comparative study of postoperative care with pheno nail procedures. *J Foot Surg*. 1983;22:332.
347. Unlu R, Alagoz M, Uysal A, Al. E. Phenol Intoxication in a child. *J Craniofac Surg*. 2004;15:1010.
348. Moridani MY, Siraki A, O'Brien PJ. Quantitative structure toxicity relationships for phenols in isolated rat hepatocytes. *Chem Biol Interact*. 2003;145(2):213–23.
349. Lin T, Lee S, Lai C, Al. E. Phenol Burn. *Burns*. 2006;36:517.
350. Horch R, Spilker G, Stark G. Phenol burns and intoxications. *Burns*. 1994;20:45.
351. Morkane A, Robertson R, Inglis G. Segmental phenolization of ingrowing toenails: a randomized controlled study. *Br J Surg*. 1984;71(526):7–10.
352. Kimata Y, Uetake M, Tsukada S, Al. E. Follow-up study of patients treated for ingrown nails with the nail matrix phenolization method. *Plast Reconstr Surg*. 1995;95:719.
353. Kordiak J, Santorek-Strumillo E, Brocki M, Al. E. The methods of treatment of an ingrown toenail. *Arch Med Sci*. 2005;1:183.

354. Issa MM, Tanner WA. Approach to ingrowing toenails: the wedge resection/segmental phenolization combination treatment. *Br J Surg* . 1988 Feb ;75(2):181–3.
355. Tait GR, Tuck JS. Surgical or phenol ablation of the nail bed for ingrowing toenails: a randomised controlled trial. *J R Coll Surg Edinb* . 1987 Dec ;32(6):358–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3448191>.
356. Martínez-Zapata MJ, Martí-Carvajal A, Solà I, Bolibar I, Angel Expósito J, Rodríguez L, et al. Efficacy and safety of the use of autologous plasma rich in platelets for tissue regeneration: a systematic review. *Transfusion* . 2009 Jan ;49(1):44–56. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18954394>
357. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* . 2004 Jan ;91(1):4–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14691563>
358. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* . ;16(5):585–601. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19128254>
359. Pairot Tayapongsak, Brien DAO, Monteiro B, Arceo-diaz LYNY. Reconstruction With Particulate Cancellous Bone and Marrow. *J Oral Maxillofac Surg*. 1994;52:161–5.
360. Morales MJ, Marx RE. Plates for Temporary Mandibular Reconstruction. 1992;(Fig 2):307–9.
361. Green DM, Klink B. Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue. *Plast Reconstr Surg* . 1998 Apr ;101(4):1161–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9514368>
362. Valbonesi M, Giannini G, Migliori F, Dalla Costa R, Galli A. The role of autologous fibrin-platelet glue in plastic surgery: a preliminary report. *Int J Artif Organs* . 2002 Apr ;25(4):334–8.
363. Giuffrè G, Caputo G, Misso S, Peluso F. Platelet-rich plasma treatment and hemostasis in patients with hemorrhagic risk. *Minerva Stomatol* . ;55(11–12):599–609. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17211365>
364. Cillo JE, Marx RE, Stevens MR. Evaluation of autologous platelet-poor plasma gel as a hemostatic adjunct after posterior iliac crest bone harvest. *J Oral Maxillofac Surg* . 2007 Sep ;65(9):1734–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17719390>
365. Englert SJ, Estep TH, Ellis-Stoll CC. Autologous platelet gel applications during cardiovascular surgery: effect on wound healing. *J Extra Corpor Technol* . 2005 Jun ;37(2):148–52.
366. Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, Kushida S, Notodihardjo FZ, Kusumoto K. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts. *Plast Reconstr Surg* . 2008 Nov ;122(5):1352–60.

367. Kazakos K, Lyras DN, Verettas D, Tilkeridis K, Tryfonidis M. The use of autologous PRP gel as an aid in the management of acute trauma wounds. *Injury* . 2009 Aug ;40(8):801–5.
368. Hom DB, Linzie BM, Huang TC. The healing effects of autologous platelet gel on acute human skin wounds. *Arch Facial Plast Surg* . ;9(3):174–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17519207>
369. Henderson JL, Cupp CL, Ross EV, Shick PC, Keefe MA, Wester DC, et al. The effects of autologous platelet gel on wound healing. *Ear Nose Throat J* . 2003 Aug ;82(8):598–602. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14503096>
370. Zavadil DP, Satterlee CC, Costigan JM, Holt DW, Shostrom VK. Autologous platelet gel and platelet-poor plasma reduce pain with total shoulder arthroplasty. *J Extra Corpor Technol* . 2007 Sep ;39(3):177–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17972452>
371. Anzarut A, Guenther CR, Edwards DC, Tsuyuki RT. Completely autologous platelet gel in breast reduction surgery: a blinded, randomized, controlled trial. *Plast Reconstr Surg*. 2007 Apr 1 ;119(4):1159–66. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17496586>
372. Nin JRV, Gasque GM, Azcárate AV, Beola JDA, Gonzalez MH. Has platelet-rich plasma any role in anterior cruciate ligament allograft healing? *Arthroscopy* . 2009 Nov ;25(11):1206–13.
373. Qian L, Wei S-J, Zhang D, Hu X, Xu Z, Wilson B, et al. Potent anti-inflammatory and neuroprotective effects of TGF-beta1 are mediated through the inhibition of ERK and p47phox-Ser345 phosphorylation and translocation in microglia. *J Immunol* . 2008 Jul 1 ;181(1):660–8.
374. McNicol A, Israels SJ. Beyond hemostasis: the role of platelets in inflammation, malignancy and infection. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* . 2008 Jun ;8(2):99–117. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18537597>
375. Borie E, Garcia Olivi D, Orsi IA, Garlet K, Weber B, Beltran V, et al. Platelet-rich fibrin application in dentistry: a literature review. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(5):7922–9.
376. Argimonn J, Jimenez J. Estudios experimentales II: otros diseños. In: *Métodos de investigación clínica y epidemiológica*, Edited by JM Argimon Pallás, J Jiménez Villa, Elsevier España, S.A, Madrid. 2004.
377. Bijur PE, Silver W, Gallagher EJ. Reliability of the visual analog scale for measurement of acute pain. *Acad Emerg Med* . 2001 Dec [cited 2016 Apr 10];8(12):1153–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11733293>
378. (AMM) AMM. Declaración de Helsinki adoptada en la 18ª Asamblea de la Asociación Médica Mundial (AMM) (Helsinki, Finlandia, Junio 1964),. In 1964.
379. (AMM) AMM. Declaración de Helsinki (2000). Enmendada por la 52 Asamblea General en Edimburgo. Escocia, Octubre (2000).

380. (AMM) AMM. (Asamblea General de la AMM, Tokio 2004). 2004.
381. (AMM) AMM. 59^a Asamblea General de la AMM realizada en Seúl (Corea, Octubre 2008). 2008;
382. Weisfeld M. Illustrated technique for the complete removal of nail matrix and hyponychium without skin incisions (Suppan nail technique no. 2). *J Am Podiatry Assoc.* 1975 May;65(5):481–9.
383. Cutting KF, White RJ. Criteria for identifying wound infection--revisited. *Ostomy Wound Manage.* 2005 Jan;51(1):28–34.
384. Garrido-Castells X, Becerro-de-Bengoa-Vallejo R, Calvo-Lobo C, Losa-Iglesias ME, Palomo-López P, Navarro-Flores E, et al. Effectiveness of Leukocyte and Platelet-Rich Fibrin versus Nitrofurazone on Nail Post-Surgery Bleeding and Wound Cicatrization Period Reductions: A Randomized Single Blinded Clinical Trial. *J Clin Med* . 2019 Sep;8(10).