

Artículo Original

Plasma Rico en Plaquetas en la viabilidad de colgajos de piel. *Platelets rich plasma in the viability of skin flaps.*

Bertone, P.A¹; Torretta, M.E¹; Boaglio, C.M¹; Ruiz, F²; Suarez, AC¹; Aramayo, A¹; Espamer, D.¹

¹ Departamento de Clínica Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC).

² Departamento de Microbiología e Inmunología. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales. UNRC.

Río Cuarto, Córdoba, Argentina. E-mail: patriciabertone@gmail.com

16

RESUMEN

Los colgajos cutáneos son un recurso quirúrgico y requieren de un aporte vascular adecuado para la viabilidad de la piel. El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) promueve la liberación de factores de crecimiento que reparan los tejidos. El objetivo fue evaluar el efecto del PRP en la neovascularización de la cicatrización de colgajos de piel en conejos. Diseño de tipo experimental. El PRP se obtuvo por doble centrifugación de sangre venosa (n: 12). Se realizaron dos colgajos de avance, en el derecho se aplicó por inyección intradérmica PRP activado con CaCl₂ y en el izquierdo NaCl (0,9%) como control. En Grupo 1 (G1) de un n: 6 antes de la sutura se aisló cada colgajo con una banda plástica. Se realizaron observaciones du-

rante 7 días y se evaluó viabilidad. En Grupo 2 (G2) de un n: 6 se realizaron biopsias de piel a 3, 5, 7, 15 y 30 días que se analizaron por histopatología con tinción Hematoxilina / Eosina (H/E). Se evaluó evolución del proceso cicatrizal y se analizó el número de vasos sanguíneos por observación directa, 40x. La comparación de variables se realizó por Test de Student. En G1 los tratados con PRP presentaron media de supervivencia (88%) mayor que los controles (65%). En G2, desde el día 7 los colgajos tratados presentaron densa vascularización y abundante proliferación de fibroblastos, valores mayores a los controles ($p < 0.05$). Los valores medios para vasos sanguíneos cuando se usa PRP resultaron significativamente mayores ($p < 0,05$) que los controles desde el

día 5. En el modelo evaluado el uso de PRP favorece la viabilidad de colgajos cutáneos en conejos.

Palabras clave: piel, colgajo, cicatrización, neo vascularización

SUMMARY

Skin flaps are a surgical resource and require an adequate vascular supply for the viability of the skin. Platelet Rich Plasma (PRP) promotes the release of growth factors that repair tissues. The objective was to evaluate the effect of PRP on the neovascularization of the healing of skin flaps in rabbits. Design of experimental type. PRP was obtained by double centrifugation of venous blood (n:12). Two advance flaps were made, on the right it was applied by PRP intradermal injection activated with CaCl₂ and on the left NaCl (0.9%) as a control. In Group 1 (G1) with n: 6 before the suture, each flap was isolated with a plastic band. Observations were made for 7 days and viability was evaluated. In Group 2 (G2) with n: 6, skin biopsies were performed at 3, 5, 7, 15 and 30 days, which were analyzed by histopathology with Hematoxylin / Eosin staining. Evolution of the scar process was evaluated and the number of blood vessels analyzed by direct observation, 40x. The comparison of variables was performed by Student's Test. In G1, those treated with PRP had a mean survival rate (88%) higher than the controls (65%). In G2, from day 7 the treated flaps showed dense vasculari-

zation and abundant proliferation of fibroblasts, values higher than the controls (p <0.05). The mean values for blood vessels when using PRP were significantly higher (p <0.05) than the controls since day 5. In the model evaluated, the use of PRP favors the viability of skin flaps in rabbits.

Keywords: skin, flap, healing, neovascularization

INTRODUCCIÓN

Los colgajos cutáneos son un recurso quirúrgico utilizado y de valor en la cirugía reconstructiva de lesiones oncológicas, por quemaduras o traumas y un aporte vascular adecuado es factor importante para la supervivencia del colgajo¹⁻²⁻³.

La sobrevida de los colgajos depende del flujo circulatorio a través de sus tejidos. El intercambio de nutrientes y metabolitos ocurre en los capilares influenciado por la perfusión sanguínea, el tono neurogénico de los vasos, la actividad metabólica de los tejidos y la integridad de la microvasculatura²⁻⁴.

Existen reportes de estímulo inducidos por factores de crecimiento sintéticos para mejorar la sobrevida tisular⁵⁻⁶. Una opción terapéutica para mejorar la sobrevida tisular es la generación de concentrados plasmáticos plaquetarios, que tienen como finalidad la liberación de factores de crecimiento sostenida en el tiempo y resultan ser los iniciadores de la mayoría de los procesos de regeneración²⁻⁷⁻⁸.

Plasma Rico en Plaquetas en la viabilidad de colgajos de piel.

Entre los diferentes factores de crecimiento el factor de crecimiento Endotelio vascular (VEGF) es el responsable de la quimiotaxis y proliferación de células endoteliales, así como también de la hiperpermeabilidad de los vasos sanguíneos acelerando de esta manera el proceso de cicatrización del tejido⁹.

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) es un volumen de plasma autólogo con una concentración de plaquetas que se obtiene de un ciclo doble de centrifugación¹⁰.

El proceso de cicatrización de la piel se divide en cuatro fases superpuestas bien definidas, que incluyen la hemostasia, la inflamación, la proliferación y la remodelación.¹⁻¹¹

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto del PRP en la neo vascularización de la cicatrización de colgajos de piel experimentales en conejos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño de tipo experimental en marco de un proyecto de investigación aprobado y financiado por la Secretaria de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC), todos los procedimientos de estudio en animales fueron aprobados por el Comité de Ética de la UNRC (Res. Rec. N°161/16).

El PRP se obtuvo por centrifugación de sangre venosa autóloga (n:12) en tubos con solución Citrato de Sodio 3,8 % (Volumen 4,5 cc con 0,5 cc Citrato de Sodio).

La primera centrifugación a velocidad de 1200 rpm, 10 minutos por pipeteado se retiró la parte superior del plasma, que se colocó en un segundo tubo y se realizó una segunda centrifugación a 2000 rpm, 10 minutos y se retira con pipeta el PRP que se reserva para su uso. Todo el proceso se desarrolló en condiciones de asepsia y se obtuvieron 3,2 veces más plaquetas que el recuento plaquetario de sangre periférica.

Se utilizaron 12 conejos albinos neozelandeses (*Oryctolagus Cuniculi*) clínicamente sanos, machos y hembras, peso promedio 4,5 Kg. Se empleó anestesia general para realizar en cada conejo dos colgajos de avance en piel de 10x2 cm, paralelo a la columna vertebral. En colgajo derecho se aplicó por inyección intradérmica PRP activado con CaCl₂ y en el izquierdo NaCl (0,9%) como control, ambos tratamientos se realizaron por única vez.

En Grupo 1 (n:6) antes de la sutura se aisló cada colgajo de su lecho colocando una banda plástica. Se realizaron observaciones diarias, se registró fotográficamente hasta los 7 días evaluando viabilidad en porcentaje de tejido viable.

En Grupo 2 (n:6) sin aislamiento de banda plástica. Se realizaron biopsias de la piel de los colgajos a 3, 5, 7, 15 y 30 días, muestras que se analizaron por histopatología. Se utilizó tinción diferencial de hematoxilina y eosina. Se evaluó la evolución del proceso

Plasma Rico en Plaquetas en la viabilidad de colgajos de piel.

cicatrizal con una escala semi cuantitativa y para la neo vascularización se analizó el número de vasos sanguíneos por observación directa al microscopio óptico, cinco campos aleatorios de cada preparado 40x. La comparación entre variables numéricas se realizó a través de Test de Student.

RESULTADOS

Al día 7 post quirúrgico, en el examen macroscópico los colgajos de piel no se habían retraído del área. Las regiones de supervivencia y de necrosis se demarcaron claramente en cada colgajo cutáneo como se visualiza en la *Figura 1*.

La piel viable se observó de aspecto rosado, blanda al tacto, textura normal y sangran-

te al corte, en contraste, en sector necrótico la piel era negra, rígida al tacto y no sangraba al corte. Observaciones que en la *Figura 1* caracterizan un colgajo de piel de conejo tratado (*Figura 1A*) y el control (*Figura 1B*).

En Grupo 1 los colgajos de piel tratados con PRP presentaron una media de supervivencia (88%) mayor que en los controles (65%).

En la evaluación histológica los efectos de PRP en la cicatrización se estimaron por los cambios histológicos, en los colgajos tratados se observó densa vascularización y abundante proliferación de fibroblastos desde el día 7, con valores promedios mayores a los controles ($p < 0.05$) (*Figura 2A* y *Figura 2B*).

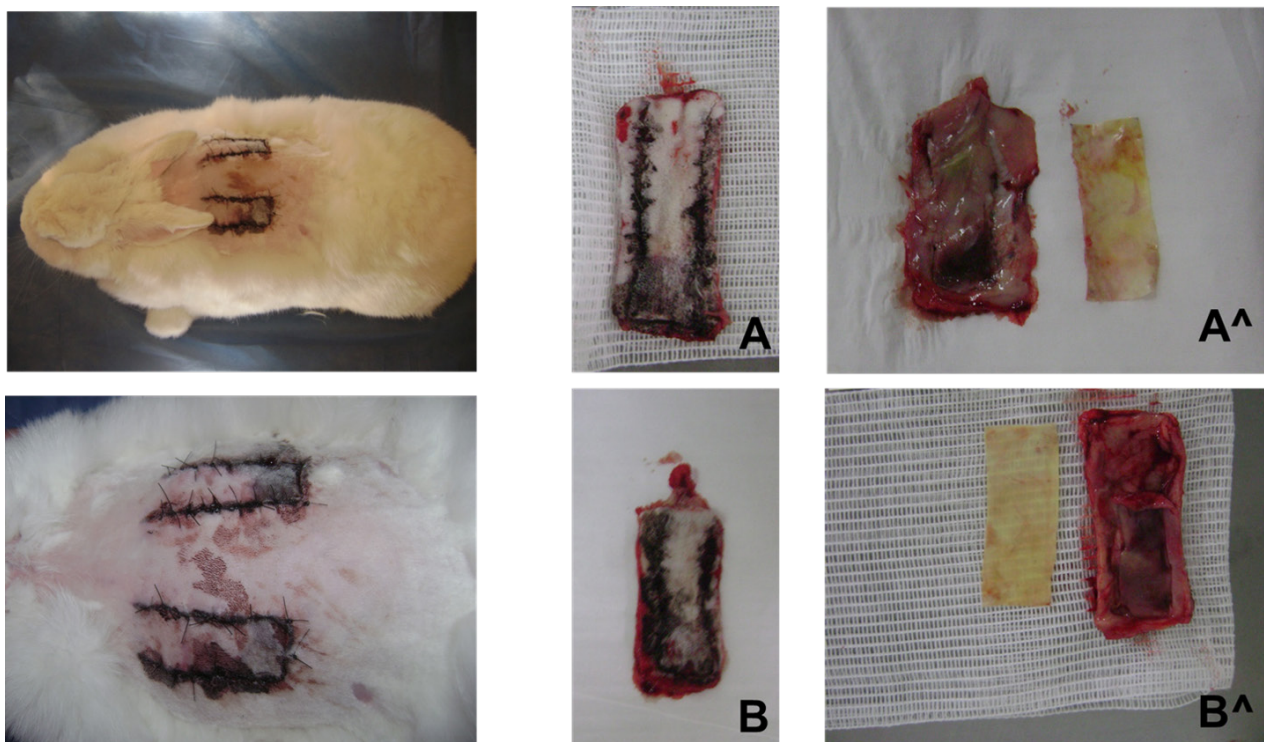


Figura 1. Dorso de conejo del grupo 1 a los 7 días post quirúrgicos, con demarcación de la zona de necrosis de cada colgajo. Aspecto de colgajo de piel de conejo tratado (A) y el control (B). Envés del colgajo tratado (A[^]) y el del colgajo control (B[^]).

Plasma Rico en Plaquetas en la viabilidad de colgajos de piel.

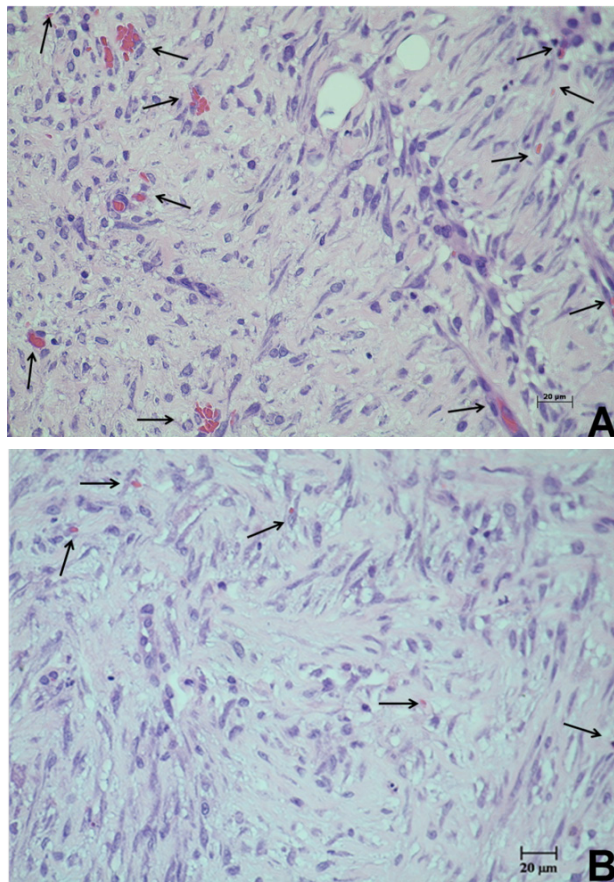


Figura 2. Abundante neo vascularización en corte histológico de piel de conejo a 30 días de tratamiento con PRP, los tratados presentaron mayor cantidad de vasos sanguíneos (Flechas) (A) respecto al control (B). Microfotografía 40x (H/E).

El mayor engrosamiento de la epidermis se halló a los 15 días en los colgajos tratados con PRP, mientras que en los colgajos control en el día 30, lo que indica que la piel inyectada con PRP inicia epitelización más rápido que la piel de los colgajos control.

En particular se evaluó el efecto del PRP sobre la neo vascularización en la dermis papilar y reticular, a los 7 días entre los vasos sanguíneos identificados predominaron los vasos preformados, con evidencia de pequeños brotes capilares.

A los 15 días postquirúrgicos se observó mayor número y calibre de los vasos sanguíneos, plexos capilares y una importante cantidad de vasos neo formados y fibroblastos en las muestras de los animales tratados con PRP.

A los 30 días de iniciado el tratamiento se observaron brotes capilares de mayor diámetro, glóbulos rojos, abundantes fibrocitos, fibroblastos y queratina en los colgajos tratados.

Los valores medios obtenidos en este estudio para vasos sanguíneos cuando se usa PRP en los colgajos cutáneos demostró cifras promedio significativamente mayores ($p < 0,05$) que los controles desde el día 5 como se observa en la representación gráfica (Tabla 1) y numérica (Tabla 2).

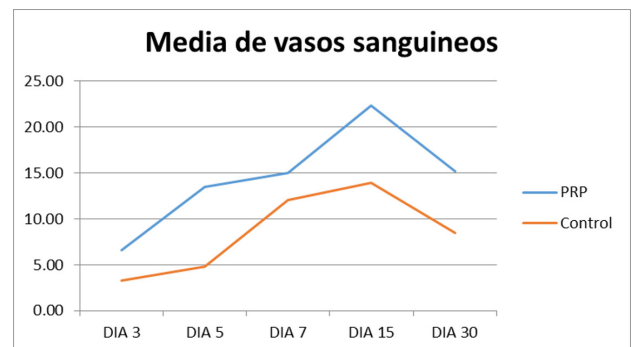


Tabla 1. Gráfico con cifras promedio de vasos sanguíneos significativamente mayores ($p < 0,05$) que los controles a partir del día 5.

	PRP		CONTROL		P
	Promedio Vs	DS	Promedio Vs	DS	
DIA 3	6.58	1.38	3.25	0.72	0.000002083
DIA 5	13.50	1.26	4.83	0.69	0.000000000
DIA 7	15.00	1.78	12.00	1.41	0.000265272
DIA 15	22.33	2.69	13.92	2.18	0.000000069
DIA 30	15.17	2.03	8.50	1.89	0.000000067

Tabla 2. Valores promedio de vasos sanguíneos en los colgajos cutáneos entre control y tratados con PRP a 3, 5, 7, 15 y 30 días.

Al finalizar la experiencia, día 30, las biopsias de piel tratadas con PRP mostraron abundancia de fibras colágenas y reorganización del material fibroso en la dermis papilar compatible con fase de remodelación. Mientras que en los controles la observación histológica resultó compatible con una fase proliferativa de la cicatrización.

DISCUSIÓN

En cirugía reconstructiva la complicación más temida por los cirujanos en la cicatrización de un colgajo de piel es un área significativa de necrosis, es decir la muerte celular por falta de nutrientes, que causa el fracaso del procedimiento quirúrgico realizado²⁻³.

Aunque la necrosis del colgajo puede ser el resultado de infección o agentes tóxicos, la bibliografía consultada²⁻³⁻⁴ acuerda que una irrigación inadecuada es la causa principal en la mayoría de los casos. Como lo describen Langer et al. (2004)⁴ se observó en el modelo experimental la piel viable rosada, caliente y suave al tacto mientras que la necrótica es de color marrón negruzca, fría y gruesa a la manipulación, lo que permitió comparar las zonas de supervivencia de cada colgajo de piel. Si bien estudios²⁻⁴ indican que la necrosis de un colgajo puede no ser evidente hasta 6 días postquirúrgicos y es más probable cuando los colgajos son muy largos o muy estrechos donde experimentan tensión o excesivo movimiento, en este estudio se observó necrosis en los

primeros días ya que se limitó la llegada de irrigación colateral con el modelo experimental de aislamiento con banda plástica empleado.

Los hallazgos de este estudio demostraron que la aplicación de PRP mejora significativamente el área de viabilidad del colgajo y que coincide con evidencia experimental y clínica que respalda la acción moduladora de los factores de crecimiento en la respuesta cicatrizal de las heridas⁵⁻⁶⁻⁸⁻¹⁰.

El efecto del PRP sobre la neo vascularización en la dermis en los primeros días se evidencia con pequeños brotes capilares ya que las células endoteliales de los vasos principales proliferan desde la túnica interna o íntima del vaso sanguíneo, al segundo o tercer día después de la lesión y sirven como una fuente celular para la angiogénesis. Durante este proceso, las células endoteliales de las vénulas preexistentes dan origen a brotes capilares que luego forman túneles, comenzando a fluir sangre por dentro de ellos estableciéndose así la circulación. Los brotes capilares que no forman ese túnel, sufren regresión¹⁻⁷⁻⁹⁻¹¹.

La intensa vascularización observada en este estudio, en los colgajos de conejos tratados con PRP demostró la eficacia de los diferentes factores de crecimiento, sobre todo el VEGF responsable de la quimiotaxis y proliferación de células endoteliales, así como también de la hiper permeabili-

Plasma Rico en Plaquetas en la viabilidad de colgajos de piel.

dad de los vasos sanguíneos acelerando de esta manera el proceso de cicatrización del tejido. La curación avanzada informada después de aplicar PRP en la piel de los colgajos podría ser explicada por una mayor concentración de VEGF en el sitio de la lesión, que estimuló la angiogénesis como fue determinado experimentalmente por Marx¹⁰ y es propuesto con evidencia para apoyar el uso de este concentrado plaquetario⁹. Estos resultados coinciden también con Yang y Zhang⁶ quienes demostraron mayor viabilidad en ratas infiltradas con factor de crecimiento endotelio vascular y con Kriger et al⁵. quienes observaron mejor respuesta usando indistintas vías de administración del mismo factor.

En la etapa de proliferación las células endoteliales y los fibroblastos deben estar presentes, estas células promueven la proliferación y diferenciación de los queratinocitos, esenciales en la reepitelización y en la deposición de colágeno¹⁻¹¹. En este estudio el cierre cutáneo en los colgajos tratados fue más temprano que en el grupo control, ya que la evaluación histológica reveló que en la etapa final muestran una mejor organización del colágeno en comparación con los colgajos no tratados.

CONCLUSIÓN

De acuerdo con el modelo evaluado y los valores promedio de vasos sanguíneos el PRP infiere una respuesta satisfactoria en

la neo vascularización y en consecuencia favorece la viabilidad de colgajos cutáneos en conejos.

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses. ✎

BIBLIOGRAFÍA

- 1 Enoch, S y Leaper, DJ. Basic Science of Wound Healing. Surgery 2007; 26:31-37.
- 2 Pavletic, M. M. 2011. Atlas de manejo de la herida y cirugía reconstructiva en pequeños animales. Tercera edición. Argentina. Prefacio IX. P:2- 9- 16-17-19-20- 306.
- 3 Lebas, D; Wiart T; Gros, C; Modiano P. Use of a rhomboid flap to repair temporal and frontotemporal cutaneous defects: 11 cases. Uso de un colgajo romboidal para reparar defectos cutáneos temporales y frontotemporales: 11 casos. An Dermatol Venereal. 2013; 140:170-5.
- 4 Langer, S; Galla, T y Steinau, HU. Importance of microcirculation in plastic surgery. Importancia de la microcirculación en cirugía plástica. Handchir Mikrochir Plast Chir 2004; 36(4):197-204.
- 5 Kryger, Z; Zhang, F; Dogan, T. The effects of VEGF on survival of random flap in the rat: examination of various routes of administration. Br J Plast Surg 2000; 43: 234-9.
- 6 Yang, LW; Zhang, JX. Vascular endothelial growth factor gene therapy with intramuscular injections of plasmid DNA enhances the survival of random pattern flaps in a rat model. Br J Plast Surg 2005; 58: 339-347.
- 7 Beca, T; Hernández, G; Morante, S; Bascones, A. Plasma rico en plaquetas. Una revisión bibliográfica. Periodon Implantol 2007; 19:39-52.
- 8 Vendramin, F; Franco, D; Franco, T. Utilização do plasma rico em plaquetas autólogo nas cirurgias de enxertos cutâneos em feridas crônicas. Rev Bras Cir Plást 2010; 25(4):589-594.
- 9 Freymiller, E.G. 2004. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. Plasma rico en plaquetas: evidencia para apoyar su uso. J Oral Maxillofac Surg 2004; 62:1046.
- 10 Marx, R. Quantification of Growth factor levels using a simplified method of Platelet-Rich Plasma Gel Preparation. J Oral Maxillofac Surg 2000; 58:300-301.
- 11 Young, A. and McNaught CE. The physiology of wound healing. Surgery 2011; 29(10):475-479.