Influencia de la edad y sexo de los pacientes en la determinación de la dosis administrada de plaquetas en la terapeútica de plasma rico en factores de crecimiento

Ballester Ferrandis, JF.[1]
Sanchaz Siles, M.[2]
Pia Pascual, P.[3]
Camacho Alonso, F.[4]

1 Director de Esorib.
2 Profesor de Esorib.
3 Profesor Medicina Oral Universidad de Murcia.
4 Profesor Titular Medicina Oral Universidad de Murcia.

Resumen

Objetivo: determinar si es posible suministrar una dosis terapéutica correcta de plasma rico en plaquetas sin un CULTER previo tomando en consideración la edad y el sexo del paciente, o por el contrario la dispersión de los valores plaquetarios por ml/3 en la población sana es tal que un CULTER previo a la toma de sangre es la única vía para conocer la dosis real administrada.
Material y método: se analizó el recuento plaquetario por ml/3 de 152 pacientes seleccionados al azar, de los cuales 98 eran mujeres y 54 eran hombres con edades comprendidas entre los 15 y 96 años, a todos los pacientes se les extrajo 5ml/3 de sangre a las 8:00 AM en en ayunas.
Resultados: observamos que existen cifras muy variables de número de plaquetas en función de la edad y sexo. Entre 300.001 y 500.000 plaquetas tienen el 41.67% de las personas entre 14-29 años y un 11.86% de las personas de 65-79 años. Para la misma cifra de plaquetas en función del género observamos que también existen diferencias por sexos, un 11,29% de los hombres y un 20,41% de las mujeres presentaron ese recuento.
Conclusiones: el recuento plaquetario es muy variable entre individuos de la misma edad y sexo y entre individuos de diferentes edades y sexos. El recuento plaquetario de sangre periférica es la única vía para poder adecuar la dosis suministrada a la dosis terapéutica en el tratamiento de osteoinducción con plasma rico en factores de crecimiento en implantología y cirugía oral.

Palabras Clave: Dosis plaquetaria terapeútica, PRFG, PRF, MPM, Centrifugación de sangre, Factores de crecimiento plaquetarios.

Abstract

Background: To determine whether it is possible to deliver a correct therapeutic dose of platelet-rich plasma without a prior CULTER taking into consideration the age and sex of the patient; or on the other hand, the dispersion of platelet values per ml/3 in the healthy population, is such that a CULTER prior

to blood extraction is the only way to know the actual administered dose.
Material & Method: The platelet count per ml/3 of 152 randomly selected patients (98 females and 54 males aged between 15 and 96 years) was analyzed, extracting 5ml/3 of blood from each patient at 8:00am on an empty stomach.
Results: We observed that the number of platelets varies widely depending on age and sex. 41.67% of people aged between 14 and 29, and 11.86% of people between 65 and 79, have between 300,001 and 500,000 platelets. We also observed that, for the same number of platelets, there are also differences depending on the sex; 11.29% of males and 20.41% of females had this count.
Conclusions: The platelet count is highly variable between individuals of the same age and sex, and also between individuals of different ages and sexes. The peripheral blood platelet count is the only way to adjust the delivered dose to the therapeutic dose in the treatment of osteoinduction with plasma rich in growth factors in implantology and oral surgery.

Keywords: Therapeutic platelet dose, PRGF, PRF, MPM, blood centrifugation, platelet growth factors.

Introducción

La regeneración ósea basada en las técnicas de los factores de crecimiento ha experimentado un gran desarrollo en los últimos años, pero, a pesar de ello, existen cuestiones básicas sin resolver.

La revisión bibliográfica ha puesto de manifiesto una enorme dispersión entre las técnicas para la obtención de los concentrados de factores plaquetarios así como falta de acuerdo en la definición de dosis terapéutica y dosis letal y ausencia total de rigor al contabilizar el número de plaquetas en cada una de las técnicas.

Si aceptamos tanto el efecto osteoinductor de los factores de crecimiento plaquetarios como la existencia de una dosis terapéutica y una letal, es evidente la importancia de determinar de manera fiable la dosis administrada.

Sólo los datos plaquetarios del paciente obtenidos en el CULTER

permiten determinar cuántas plaquetas serán contenidas en un ml/3. En consecuencia, si se alcanzara un acuerdo respecto a la dosis terapéutica podríamos determinar, de manera individualizada, la cantidad exacta de ml/3 de sangre que serían necesarios extraer a cada uno de nuestros pacientes.

En la actualidad existen numerosos procedimientos para la obtención de los factores de crecimiento (PRP, PRF, PRFG y MPM). Estos procedimientos tienen en común el ser una suspensión concentrada de plaquetas (principal fuente de almacenamiento de los factores de crecimiento), procedente de la centrifugación de la sangre hipocoagulada.

A día de hoy estas técnicas presentan muchas variables sin definir de manera correcta: velocidades de centrifugación, tiempo de centrifugación, cantidad de sangre a extraer.

Nuestro estudio solo persigue determinar de manera precisa el número de plaquetas que se obtienen al utilizar cualquiera de estos métodos.

Tras revisar la bibliografía disponible existen cuestiones clave que aun no están contestadas:

- ¿Los concentrados plaquetarios deben administrarse a toda la población en general o a pacientes deficitarios?
- ¿Cuál es el número óptimo de plaquetas que debe suministrarse a un paciente?
- ¿Existe una dosis terapéutica óptima?
- ¿Existe una dosis letal, es decir una dosis a partir de la cual los efectos obtenidos sean indeseados?
- ¿Cuál es la farmacocinética de los factores de crecimiento plaquetarios?
- ¿Cuál es su tiempo terapéutico?
- ¿Debe suministrarse una dosis única o una multidosis, y con qué frecuencia?
- ¿Cuánto debe durar el tratamiento?
- ¿Los receptores de los factores de crecimiento plaquetarios son específicos o inespecíficos?

Los valores normales de plaquetas en individuos sanos están comprendidos entre los 150.000 ml/3 y los 400.000 ml/3, no sólo hay diferencias entre los valores de los individuos, sino que estos valores en el propio individuo serán cambiantes en el tiempo, si el individuo padece alguna enfermedad: mieloma, insuficiencia renal, enfermedad de Von Willebrand..., si su estado nutricional es deficiente, si se ha visto sometido a alguna intervención quirúrgica, si está medicándose: ácido acetil salicílico, prednisona, aines...

De las múltiples cuestiones sin resolver en este trabajo sólo estudiaremos:

- Los valores plaquetarios en la población sana.
- Variación de los valores plaquetarios en función de la edad.
- Variación de los valores plaquetarios en función del sexo.

Material y método

Criterios de inclusión: población sana sin enfermedades sistémicas, ni consumo de fármacos que puedan alterar los valores plaquetarios.

Criterios de exclusión: pacientes con enfermedades sistémicas, diatesis hemorrágicas o fármacos que puedan alterar el número y/o la función plaquetaria.

Se analizó el recuento plaquetario por ml/3 de 152 pacientes seleccionados al azar.

Del total de la muestra definitiva, 98 eran mujeres y 54 eran hombres con edades comprendidas entre los 15 y 96 años.
A todos los pacientes se les extrajo 5ml/3 de sangre a las 8:00 am en ayunas.

Resultados

Al cruzar el recuento plaquetario con la edad de los pacientes se observa que existe importantes diferencias entre los distintos grupos de edad (tabla 1).

También podemos apreciar que el numero de plaquetas varía en función del sexo (tabla 2). En la tabla 3 se observa el recuento plaquetario de la muestra total independientemente de la edad y el sexo. En la tabla 4 se observan valores obtenidos cuando cruzamos la edad y el sexo.

Tabla 1. Agrupación en función de edad y número de plaquetas ml/3

Número Plaquetario/ml	14-29 años	30-44 años	45-54 años	55-64 años	65-79 años	80años
0 - 200.000	8,33%	11,54%	7,69%	10%	16,95%	29,17%
200.000 - 250.000	33,33%	42,31%	38,46%	5%	33,90%	29,17%
250.001 - 300.000	16,67%	30,77%	38,46%	50%	37,29%	29,17%
300.001 - 500.000	41,67%	15,38%	15,38%	35%	11,86%	12,50%

Tabla 2. Agrupación en función de sexo y número de plaquetas ml/3

Número plaquetario	Hombres	Mujeres
0 - 200.000	25,81%	9,18%
200.001 - 250.000	27,42%	31,63%
250.001 - 300.000	35,48%	38,78%
300.001 - 500.000	11,29%	20,41%

Tabla 3. Recuento plaquetario de la muestra independientemente de la edad y el sexo

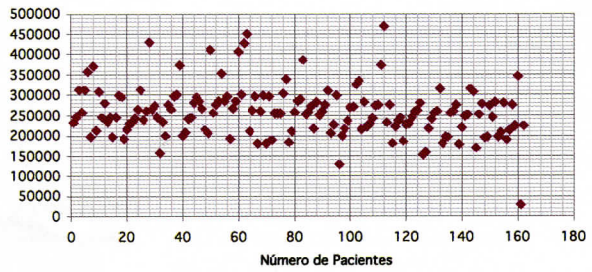

Tabla 4. Recodificamos la variable edad en distintas décadas.
Cuando cruzamos la variable edad recodificada con el sexo contamos con esta muestra:

EDAD	SEXO Hombre N	Hombre %	Mujer N	Mujer %	Total N	Total %
<= 20 años	6	1,5	4	1,0	10	2,6
De 20 a 30	18	4,6	23	5,9	41	10,5
De 30 a 40	23	5,9	31	7,9	54	13,8
De 40 a 50	21	5,4	35	9,0	56	14,3
De 50 a 60	30	7,7	38	9,7	68	17,4
De 60 a 70	16	4,1	39	10,0	55	14,1
Más de 70	48	12,3	59	15,1	107	27,4
Total	162	41,4	229	58,6	391	100,0

Gráfico 1. Medias por sexos

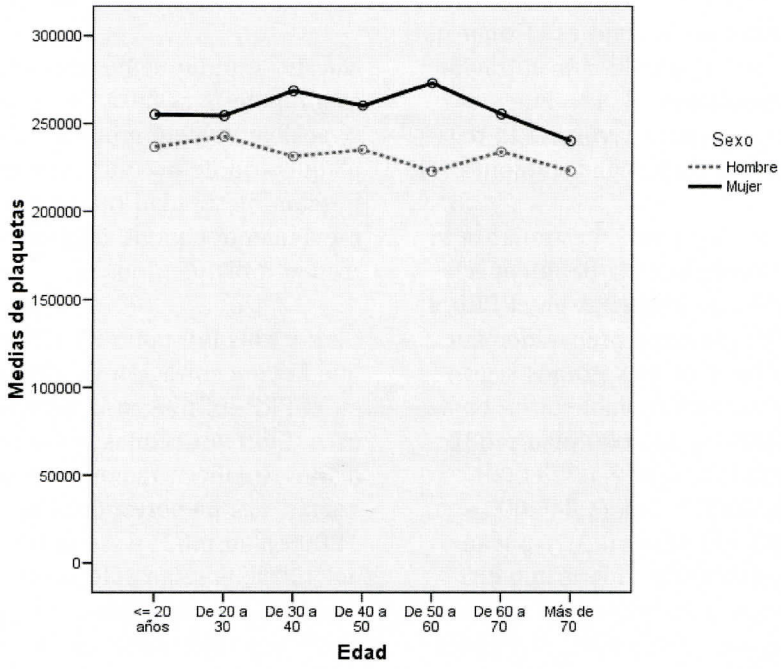

Tabla 5. ANOVA de dos factores, sexo y edad

Estadísticos descriptivos

EDAD	SEXO Hombre Media	N	Mujer Media	N	Total Media	N
<= 20 años	236833	6	255000	4	244100	10
De 20 a 30	242556	18	254435	23	249220	41
De 30 a 40	231304	23	268516	31	252667	54
De 40 a 50	235143	21	260114	35	250750	56
De 50 a 60	222867	30	272895	38	250824	68
De 60 a 70	233938	16	255308	39	249091	55
Más de 70	223104	48	240183	59	232521	107
Total	229525	162	256759	229	245475	391

Se presenta un gráfico de las medias en el que se puede observar que las medias de las mujeres están por encima de la de los hombres independientemente del grupo de edad (gráfico 1).
Se procedió a realizar algunos análisis estadísticos más sobre la muestra como la normalidad, homocedasticidad y ANOVA (tabla 5).

Otros Datos Estadísticos

Normalidad

Primero examinamos la normalidad de los datos:
Examinamos si podemos afirmar que el recuento plaquetario no se ajusta a una distribución normal. No hay evidencias suficientes para afirmar que hay tal desajuste (K-S(391) = 0,063, p = 0,001), de modo que podemos asumir normalidad en los datos.

Cuando examinamos el supuesto de normalidad en cada grupo de edad y sexo tampoco encontramos ningún desajuste tomando un nivel de significación de 0,001[1] (p desde 0,006 hasta 0,200).

Homocedasticidad (igualdad de varianzas)

También se cumple el supuesto de igualdad de varianzas poblacionales al mantenerse la hipótesis nula de que la variabilidad plaquetaria es igual en todos los grupos de edad y sexo (F(13,377) = 1,439, p = 0,139).

ANOVA de dos factores Sexo X Edad.

La variable dependiente es el recuento plaquetario. Las dos

variables independientes son el sexo y los grupos de edad.

Se encuentra un efecto de la variable sexo ($F(1,377) = 11,135$, $p < 0,001, \eta^2 = 0,029$). Hay evidencias de medias poblacionales diferentes donde las mujeres superan a los hombres (media muestral de las mujeres = 256.759 y media muestral de los hombres = 229.525). No hay, sin embargo, efecto de la edad ($F(6,377) = 0,985$, $p = 0,435$), por lo que no hay evidencias de que las medias poblacionales difieran en recuento plaquetario. Tampoco hay efecto de la interacción ($F(6,377) = 0,765$, $p = 0,598$) (tabla 5).

Discusión

Las diferentes técnicas para la obtención de factores de crecimiento (prp, prf, prfg...) se han utilizado y se siguen utilizando en numerosos actos quirúrgicos tanto por su participación en procesos de regeneración ósea y de tejidos blandos como transportador de biomateriales o hueso autólogo o bien como membrana.

Los resultados obtenidos gracias a nuestro estudio determinan que si nos centramos en la edad los valores más bajos se obtuvieron en la población de más de 80 años y los más altos en la población comprendida entre los 14 y 29 años. En lo referente al sexo las mujeres presentaban porcentajes mayores que los hombres tanto en los valores más bajos como en los más altos.

De los artículos revisados muy pocos hacen mención al número de plaquetas.

Lo primero de todo es afirmar que aún no se sabe la concentración de cada factor de crecimiento adecuado para favorecer la regeneración ósea o para inhibirla (1).

Weibrich y cols (2) estudiaron la posible influencia de la concentración de plaquetas en el PRP y MPM. Obtienen preparados que clasifican en tres grupos según la concentración plaquetaria: baja (164.000 – 373.000 plaq/ml/3), media (503.000 – 1.729.000 plaq/ml/3) y alta (1.845.000 – 3.200.000 plaq/ml/3). Aplican preparados de cada grupo en conejos para valorar la regeneración ósea y ven que los preparados de baja concentración no aumentan el hueso sustancialmente y que el grupo de concentraciones mayores tiene una acción citotóxica sobre los osteoblastos, tal vez por el efecto citotóxico de los factores de crecimiento a altas concentraciones (se ha visto que el TGF- a altas concentraciones es antimitogénico). El mejor efecto lo obtienen los preparados de concentración media (entre 503.000 y 1.729.000plaq/ml/3), cuyo rango es muy limitado, alrededor de 1.000.000 p/ml/3.

Marx RE (3) afirma que concentraciones menores de1.000.000 de plaq/ml/3 no van a mejorar la regeneración y mucho mayores no se ha demostrado que funcionen. Supone que los individuos tienen una concentración de plaquetas de 200.000 plaq/ml/3/ por lo que para la obtención de un PRP y MPM con 1.000.000 plaq/ml/3 propone la centrifugación de 5 ml/3 de sangre en lo que obtendría un PRP y MPM terapéutico.

Nuestro estudio demuestra que esta hipótesis es falsa ya que es imposible predeterminar el valor plaquetario de un individuo en función de su edad o sexo sin previamente haberle realizado un recuento plaquetario.

Choi y cols (4), también afirmaron que la concentración de plaquetas en el PRP influye en la formación ósea. Cultivan células óseas con distintas concentraciones de plaquetas. Las menores, del 1%, tenía 11.000 plaq/ml/3, y las mayores, del 100%, poseían 1.100.000 plaq/ml/3. A los 7 días, que es lo que viven las plaquetas, vieron que con concentraciones muy altas la viabilidad y la proliferación de las células óseas disminuían, mientras que se estimulaban con concentraciones del 1% al 5% (11.000 y 55.000 plaq/ml/3). Estos hechos están en contradicción con Weibrich y cols (2) y de Marx y cols (3)). En el PPP y MPM de su estudio, la respuesta era aún más citotóxica. Tal vez el plasma tenga algo que ver, ya que también tiene factores de crecimiento.

Jensen y cols (5) coinciden en los estudios de Weibrich y cols (2) en que concentraciones plaquetarias altas, de 1.750.000 plaq/ml/3, pueden hacer que disminuya la regeneración ósea.

Graziani y cols. (6) de nuevo obtuvieron resultados similares. Comparando los efectos de diferentes concentraciones de PRP y MPM (2.5x (625.000 plaq/ml/3),

3.5x (825.000 plaq/ml/3) y 4.2-5.5x (1.050.000 y 1.375.000 plaq/ml/3)) sobre osteoblastos y fibroblastos, concluyen que incrementos plaquetarios del 2.5x (625.000 plaq/ml/3) son los mejores para promover la diferenciación celular coincidiendo con los estudios de Weibrich y cols (2004) (2) y en contradicción con Marx y cols (2001) (3).

En nuestro estudio, para obtener 1.000.000 de plaquetas los ml/3 varían entre los 6,6ml/3 para los individuos con 150.000 plaquetas y 2,2 ml/3 para los pacientes con 450.000 plaquetas siendo imposible determinar el número de plaquetas en función de la edad y el sexo de este modo la hipótesis de Marx y cols (3), que preconiza la centrifugación de 5 ml/3 es incorrecta.

Weibrich y cols (2) Granziani y cols (6), Marx RE(3), Choi y cols (4), Jeensen y cols(5), todos coinciden en que los valores plaquetarios influyen en el éxito de estas técnicas(aunque mantienen diferencias en cual seria la dosis terapéutica).Sin embargo en ninguno de sus estudios especifican como determinan el número de plaquetas que están utilizando.

Nuestro estudio demuestra que el número de plaquetas de un paciente es imposible definirlo sin un CULTER o recuento plaquetario ya que puede variar entre los 150.000 y 450.000 plaquetas siendo estos los valores normales, lo que significa que para obtener 1.000.000 de plaquetas por ml/3 en unos pacientes sería necesario extraer 3 veces más sangre que en otros.

Conclusión

En la terapia de regeneración de los tejidos a través de los factores de crecimiento plaquetarios cabe preguntarse: ¿Existe una dosis terapéutica? Si la respuesta fuera positiva, la siguiente pregunta sería: ¿Cuántos mililitros cúbicos son necesarios para alcanzar la dosis terapéutica?

Aunque no se ha alcanzado unanimidad en cual sería la dosis terapéutica plaquetaria de acuerdo a los resultados obtenidos, la dosis terapéutica estaría entre 600.000 y 1.000.000 plaq/ml/3 con resultados ineficaces a bajas dosis y resultados citotóxicos a mayores concentraciones. Por lo tanto no es posible esperar los mismos resultados extrayendo a todos los pacientes 5 ml/3.

Con los resultados obtenidos en nuestro estudio podemos afirmar que: ni la edad ni el sexo determinan en el valor plaquetario y que salvo contadas excepciones el gran número de la población de sexo femenino y masculino presentan valores plaquetarios comprendidos entre los 180.000 y 300.000 plaquetas ml/3 con total dispersión, lo que imposibilita atribuir un valor medio en función del sexo o la edad.

Por lo que podemos afirmar que, en el caso de admitir la existencia de una dosis terapéutica, previo a cualquier centrifugación de sangre en cualquiera de las técnicas de obtención de factores de crecimiento plaquetarios y con independencia de cual se considere el valor plaquetario terapéutico, es necesario e imprescindible el practicarle al paciente un CULTER o recuento plaquetario, único método para determinar el número de centímetros cúbicos a extraer necesarios para alcanzar dicha dosis terapéutica.

Sin realizar un recuento plaquetario previo a la centrifugación no podemos precisar la dosis que se está suministrando y en consecuencia poder valorar los resultados obtenidos así como tampoco comparar los estudios entre diferentes técnicas o diferentes concentraciones plaquetarias en una misma técnica.

Preguntas

- Defina dosis terapéutica y dosis letal de un medicamento.
- Enumere enfermedades que disminuyen los valores plaquetarios de quien las padece.
- Según Weibrich y col ¿Cuál es la dosis terapéutica plaquetaria en la regeneración tisular guiada?
- ¿Cuál es la opinión del Dr. Marx Re, cuando suministramos concentrados inferiores a 1.000.000 de plaquetas por ml/3?
- Según el Dr. Choi ¿qué le ocurre a los cultivos de células óseas cuando se utilizan concentraciones superiores a 1.100.000 plaquetas por ml/3?
- Según Graziani ¿Cuál es la concentración óptima de pla-

quetas para estimular la diferenciación celular?

- Enumere cuatro autores que coinciden en afirmar que los valores plaquetarios influyen en el éxito de la técnica.
- ¿Qué prueba es imprescindible para conocer la dosis plaquetaria administrada?
- ¿Cuál es la dosis plaquetaria suministrada al centrifugar 5 ml de sangre?
- ¿Hay diferencias en cuanto al sexo en el número de plaquetas por mililitro cúbico?

Bibliografía

1 Roldán JC, Jepsen S, Miller J, Freitag S, Rueger DC, Açil Y. Bone formation in the presence of platelet-rich plasma vs. bone morphogenetic protein-7. Bone 2004; 34: 84-87.

2 Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. Bone 2004; 34: 665-667.

3 Marx RE. Platelet rich plasma (PRP): What is PRP and What is not PRP? Impl Dent 2001; 10 (4): 225-228.

4 Choi BH, Zhu SJ, Kim BY, Huh JY, Lee SH, Jung JH. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. Int J Oral Maxillofac Surg 2005; 34: 420-424.

5 Jensen SS, Broggini N, Weibrich G et al. Bone regeneration in standardized bone defects with autografts or bone subtitutes in combination with platelet concentrate: a histologic and histomorphometric study in the mandibles of minipigs. Int J Oral Maxillofac Implants 2005; 20: 703-712.

6 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 Impl Res 2006; 17 (2): 212-221.