

Plasma rico en factores de crecimiento (PRGF): los fundamentos moleculares para sus aplicaciones terapéuticas en diferentes tejidos y patologías

Eduardo Anitua^{a,b}, Roberto Prado^{a,b}, Ander Pino^{a,b}, Francisco Muruzabal^{a,b}, Sabino Padilla^{a,b}

^aBTI-Biotechnology Institute ImasD, Vitoria, España

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

1. INTRODUCCIÓN

En el contexto del desarrollo, regeneración y reparación de los tejidos, donde la interacción celular de los factores de crecimiento y de la matriz extracelular es fundamental, los factores de crecimiento actúan de forma combinatoria, sinérgica y multidireccional en lugar de hacerlo de una forma unidireccional. Apoyando esta visión de 360 grados, múltiples estudios *in vitro*, *in vivo* y ensayos clínicos que utilizan productos autólogos derivados de la sangre o factores de crecimiento que están presentes en las matrices de fibrina, han confirmado que estos productos y sus biomoléculas ejercen efectos multidireccionales sobre los mecanismos que rigen la reparación del tejido con múltiples efectos biológicos: angiogénico, antiapoptótico, condrogénico, quimiotáctico, biosintético, miogénico, neurogénico, inmunomodulatorio y antiinflamatorio, antifibrótico, y antiálgico. Así, como ya se ha comentado anteriormente, estas matrices potencian el proceso de reparación endógeno, en múltiples tipos de lesiones, tanto en defectos inflamatorios no estériles como estériles, como son la artrosis, tendinopatías, lesiones de cartilago, neuropatías periféricas, quemaduras y úlceras en la piel, úlceras corneales y síndrome de ojo seco, entre otras (*Figura 1*).

2. LA REGENERACIÓN ÓSEA

Los estudios *in vitro* muestran que el PRGF-Endoret estimula de manera significativa la proliferación y la migración de las células responsables de la regeneración ósea y por lo tanto su reclutamiento para la regeneración ósea. Está documentada la estimulación de la migración celular mediante factores de crecimiento como el VEGF, PDGF e IGF, mientras que también ha sido demostrado el potente estímulo mitogénico que constituyen otros factores de crecimiento como el TGF- β 1, EGF y PDGF; todos ellos presentes en el PRGF-Endoret. La bio-estimulación de las células con el PRGF-Endoret aumenta la síntesis y la liberación, por parte de

las células, de factores de crecimiento (como por ejemplo el VEGF y el HGF) que orquestan los procesos biológicos implicados en la reparación y regeneración tisular. El HGF es un factor de crecimiento importante en la regeneración tisular puesto que inhibe la formación de tejido fibroso. Asimismo inhibe la inflamación mediante la actuación sobre la vía intracelular del NF- κ B. Así obtener una intensidad adecuada de la inflamación que promoverá la regeneración.

Las fibras de colágeno son un componente fundamental de la matriz extracelular y la estructura del tejido. El PRGF-Endoret mejora la función de las células para depositar matriz orgánica en los tejidos. Factores de crecimiento como IGF-2 y TGF- β 1 estimulan la síntesis de colágeno. El PRGF-Endoret estimula también la formación de nuevos vasos sanguíneos y el reclutamiento y proliferación de fibroblastos y células endoteliales. Este potencial neoangiogénico se debe en parte a la presencia de los siguientes factores de crecimiento: TGF- β 1, bFGF, PDGF-BB, IGF-1 e IGF-2, HGF y VEGF. Además, se ha propuesto que el uso de plasma rico en plaquetas inhibe mediante la activación de la vía de señalización Wnt, la diferenciación osteoclástica inducida por el RANKL. La vía Wnt tiene un papel importante en la osteoblastogénesis y la formación ósea.

Así el PRGF-Endoret mejora la regeneración ósea por su efecto sobre las 4 fases de la regeneración tisular: la hemostasia, la inflamatoria, la proliferación y la remodelación tisular. Clínicamente, el uso del PRGF-Endoret en la regeneración del alveolo post-extracción acelera de manera significativa la epitelización del defecto y la regeneración del hueso alveolar al mismo tiempo que minimiza el riesgo de complicaciones como el sangrado, la alveolitis seca, la osteonecrosis del maxilar asociada a la toma de medicamentos, la osteoradionecrosis.

APLICACIONES

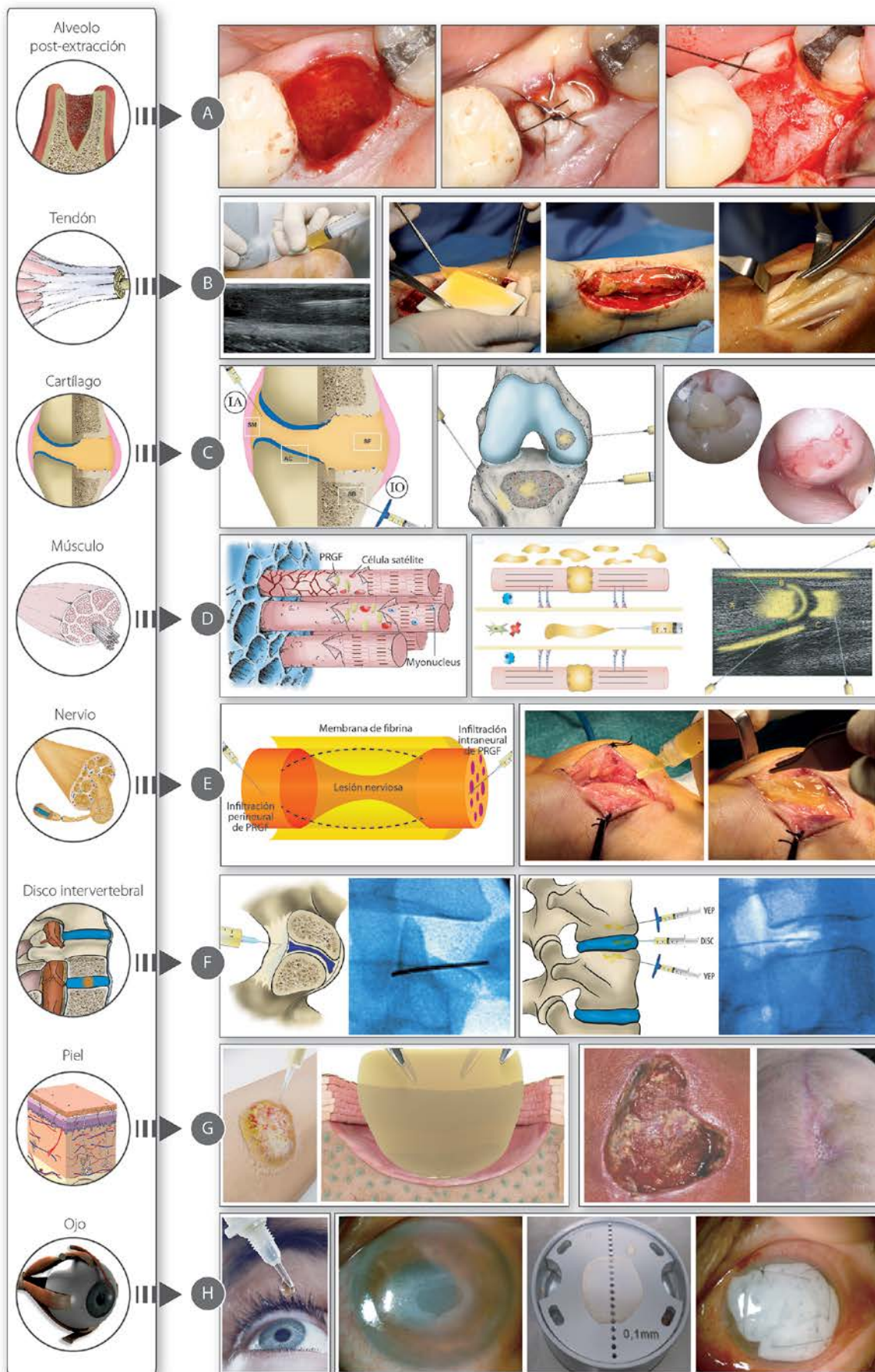


Figura 1

La traslación clínica de la versatilidad del PRGF.

3. ADAPTACIÓN, INFLAMACIÓN Y PROCESO HOMEOSTÁTICO EN TENDÓN

Cada vez hay más evidencia que muestra que los procesos de adaptación, lesión y reparación de tendones y ligamentos comparten varias vías intracelulares, y aunque es difícil trazar la línea entre las respuestas celulares y moleculares que conducen a la adaptación del tejido o al daño tisular, el proceso inflamatorio parece estar en la interfase de adaptación y daño del tendón. La carga mecánica repetitiva, como es el caso en las etapas tempranas de la tendinopatía, y el uso excesivo del tendón induce la activación de la vía NFκB y, por lo tanto, la síntesis de metaloproteinasas (MMP), dos isoformas de ciclooxigenasa (COX) COX-1 y COX-2, y PGE2 por tenocitos inflamatorios, mastocitos y otras células inmunocompetentes. PGE2 es un importante mediador inflamatorio sistémico y local que disminuye la producción de colágeno y causa una diferenciación aberrante de las células madre derivadas de tenocitos (TDSC) en linajes adipogénicos y osteogénicos, lo que podría explicar parcialmente la presencia de fibrocármilago, calcificaciones y tejido adiposo en tendones degenerativos lesionados y crónicos.

PGE2 es un importante mediador inflamatorio sistémico y local que disminuye la producción de colágeno y causa una diferenciación aberrante de las células madre derivadas de tenocitos (TDSC) en linajes adipogénicos y osteogénicos.

Una excelente serie de estudios *in vitro* e *in vivo* demostró que las terapias de administración de biológicos derivados de la sangre (BDDTs) indujeron la proliferación de tenocitos, estimularon la síntesis de colágeno de tipo I y la neovascularización y promovieron la diferenciación de las células mesenquimales derivadas de tenocitos en tenocitos activos. De forma simultánea se demostró que la adición de leucocitos en las BDDTs aumentaba la síntesis de PGE2 y la expresión génica de la metaloproteasa-1 (MMP-1), MMP-13, interleuquina-1B (IL-1B) mientras que disminuía la expresión de alfa-SMA como marcador de tenocitos activos. Entre los innumerables mediadores transmitidos por las BDDTs, se ha demostrado que el factor de crecimiento hepatocítico (HGF) y la lipoxina A4 (LX4) ejercen un efecto antiinflamatorio y pro-resolución de la inflamación en los tendones lesionados (*Figura 1A*).

4. ARTICULACIÓN SINOVIAL Y CARTÍLAGO ARTICULAR

El cartílago articular (CA) es un tejido notablemente resistente a las fuerzas de compresión y corte. Sin embargo,

es altamente frágil a las alteraciones de la membrana sinovial (SM) y del hueso subcondral (SCB), dos tejidos bien vascularizados de donde surgen problemas sistémicos y de inflamación local. Estas agresiones están mediadas por citoquinas proinflamatorias, macrófagos y sinoviocitos inflamatorios, que dañan el cartílago articular, como en el caso de la artritis reumatoide o la artrosis. Sin embargo, SM y SCB también son el punto de salida y la fuente de nutrientes y de células progenitoras mesenquimales para el montaje de una respuesta reparadora condrogénica, que está impulsada por el reclutamiento y la orientación quimiotáctica de las células madre derivadas de la médula ósea mediadas por SDF-1, TGF-β, y fibronectina. Este es el caso de las técnicas de microfracturas y la estrategia combinada que utiliza infiltraciones intraarticulares (IA) e intraóseas (IO) de terapia de administración de productos biológicos derivados de la sangre (PRGF). Al hacerlo, esta novedosa terapia local aborda los cuatro tejidos de la articulación sinovial (CA, líquido sinovial (SF), SM y SCB) y actúa como una matriz líquida autóloga dinámica que, de manera sostenida y gradual, transmite células madre mesenquimales endógenas quimiotácticas y factores condrogénicos tales como SDF-1, TGF-β, y fibronectina. Además, el PRP amortigua el estrés inflamatorio a nivel de los tejidos articulares, al inhibir la vía del NFκB en los condrocitos y macrófagos y al regular el elemento de respuesta antioxidante NF-E2 relacionado con el factor 2 (NrF2-ARE) en osteoblastos. Así, se han descrito mejoras en los resultados clínicos en pacientes con artrosis de rodilla y cadera al aplicar esta estrategia, que podría estar mediada principalmente por HGF, CTGF, IGF-1, PDGF, entre otros, allanando así el camino hacia la regeneración del cartílago, por muy esquivo que pueda ser (*Figura 1B*).

5. APLICACIÓN DEL PRGF EN PATOLOGÍAS MUSCULARES Y NERVIOSAS

La inflamación precoz, la activación de las células de Schwann mielinizantes similares a células madre y las satélites musculares, la angiogénesis y la polarización de macrófagos, son impulsores clave de la recuperación de la función completa, donde los factores de crecimiento (FC) y la matriz de fibrina son factores instrumentales instructivos y permisivos. En la reconstrucción completa del tejido muscular, las células satélite endoteliales y musculares, junto con los macrófagos y otras células progenitoras miogénicas, señalizadas recíproca y principalmente por VEGF, PDGF, IGF-1 y HGF hace que la angiogénesis, la miogénesis y la neurogénesis avancen de forma concomitante. En estudios preclínicos extensos *in vitro* e *in vivo*, la combinación de los FC mencionados anteriormente o el uso de los PRPs promovieron una regeneración más temprana de los músculos dañados principalmente por la modulación de la respuesta inflamatoria, un estímulo angiogénico fiable, una expansión



significativa de la reserva miogénica, y una polarización de macrófagos de un fenotipo inflamatorio a trófico. Estos efectos biológicos impidieron la formación de una reparación aberrante y de fibrosis, que de otro modo daría lugar a recaídas musculares clínicas (Figura 1C).

En el manejo de la lesión del nervio periférico (PNI), los PRPs han surgido como un enfoque adyuvante novedoso y versátil. Una vez infiltrado intraneuralmente como una matriz inyectable líquido-a-gel, o envuelto alrededor de la brecha nerviosa lesionada como una matriz de estructura viscosa y maleable, o ambos, (Figura 1D), la fibrinólisis tisular rompe la fibrina liberando así moléculas de señalización celular tales como factores neurotróficos (NGF, BDNF, IGF-1, PDGF, VEGF, HGF) y neurotróficos (fibrina, fibronectina y vitronectina). Estas biomoléculas gobiernan la inflamación temprana, la activación de las células de Schwann mielinizantes similares a células madre, la angiogénesis, la polarización de macrófagos, así como la resolución activa de la inflamación, la angiogénesis y la fibrogénesis, actuando así como impulsores clave de la recuperación de la función nerviosa completa. (Figura 1D).

6. APLICACIÓN DEL PRGF EN PATOLOGÍAS DISCALES

El dolor lumbar crónico es una experiencia personal compleja y multidimensional donde influyen factores fisiopatológicos, sensoriales, emocionales, cognitivos, comportamentales y socioculturales. Esta condición endémica cuyo síntoma es el dolor lumbar relacionado con factores mecánicos relacionados con la musculatura lumbar, la degeneración del disco intervertebral, la artrosis de las carillas articulares lumbares y ocasionalmente radiculopatías asociadas, conduce a una

incapacidad funcional que afecta a unos 632 millones de personas en el mundo.

En general, se han realizado importantes investigaciones específicamente *in vitro*, *in vivo* y en entornos clínicos, que proporcionan evidencias de la síntesis de matriz extracelular y los efectos antiinflamatorios, antiapoptóticos y antiálgicos de los PRP en degeneración de la articulación intervertebral y dolor crónico de espalda (Figura 1E). Además, el reconocimiento de las sorprendentes similitudes tanto a nivel funcional como patológico, entre la artrosis de rodilla y la degeneración articular del disco intervertebral junto con los resultados obtenidos en ciencia básica, en estudios preclínicos y en pacientes con artrosis de rodilla y cadera cuyo dolor crónico se vio reducido significativamente con infiltraciones de PRGF, nuestro grupo de trabajo sugirió 4 efectos sinérgicos del PRGF en las articulaciones sinoviales artrósicas: condroprotección, efecto antiinflamatorio, modulación de los fenotipos celulares, y reducción del dolor, lo que hace al PRGF un candidato importante en el tratamiento del dolor crónico lumbar.

Las etapas media y tardía de la degeneración del disco se asocian con la presencia de un deterioro colateral del tejido secundario, incluidos los osteofitos, la artrosis facetaria y la hernia anular, por lo que es necesario tratar otras estructuras de la columna vertebral además del disco como articulaciones facetarias. Las similitudes entre la artrosis de rodilla y la degeneración articular del disco intervertebral se están extendiendo a la lesión subcondral en ambas articulaciones, gracias a la reciente identificación del *crossstalk* adverso inflamatorio entre la placa vertebral (endplate) subcondral, células del núcleo pulposo y células del anillo fibroso. Al mismo

tiempo, se ha demostrado que las infiltraciones intraóseas de PRP aumentan la osteogénesis, disminuyen la adipogénesis y disminuyen la reabsorción ósea en animales y reducen sustancialmente el dolor articular artroscópico en humanos, procesos biológicos clave en lesiones de tipo modic. Estos hechos fisiopatológicos junto con las recientes investigaciones de Moore y Dudli et al. nos lleva a sugerir que siempre que se presenten cambios moderados, los tratamientos para detener o al menos retrasar la degeneración del disco deberían ser biológicos y abordar el *endplate*. Además, las inyecciones intraneurales de PRGF podrían aplicarse en el caso de la compresión de la raíz principalmente debido a los prometedores resultados clínicos obtenidos por esta estrategia en este tipo de neuropatías. Por último, pero no menos importante, los médicos deben recurrir a la fisioterapia para tratar y formar músculos y ligamentos de diferentes segmentos de la columna vertebral, ya que mientras éstos funcionan como una cadena compleja de moléculas, células y tejidos que forman articulaciones del disco intervertebral, no son más que enlaces. El disco intervertebral también es un eslabón de una cadena más compleja en la que el control de la fuerza del núcleo vertebral, articular, muscular

su eficacia y seguridad en multitud de afecciones dermatológicas. Estas terapias se basan en la obtención de un concentrado plaquetario 100% autólogo a partir de la sangre del propio paciente, reduciendo considerablemente el riesgo de reacciones adversas. La versatilidad de este medicamento permite el desarrollo *in situ* de diferentes formulaciones terapéuticas como un coágulo semisólido, un líquido inyectable, una membrana de fibrina, un gel tridimensional, un sobrenadante y un serum tópico (*Figura 1F*).

Estas formas farmacéuticas han sido utilizadas para el tratamiento de diferentes afecciones dermatológicas con excelentes resultados. Numerosos ensayos clínicos han demostrado la seguridad y eficacia de la tecnología PRGF a la hora de abordar el cierre de úlceras crónicas y la cicatrización de heridas. Las úlceras cutáneas son un problema clínico común que va en aumento con el incremento de la edad media de la población y donde las fases de la reparación cutánea se ven seriamente afectadas por diversas causas etiológicas (*Figura 1F*). En este sentido, el uso de los factores de crecimiento autólogos ha demostrado reducir significativamente los tiempos de cicatrización y promover la regeneración del tejido dañado.

LA TECNOLOGÍA PRGF ha sido también utilizada para revertir el envejecimiento cronológico cutáneo y contrarrestar los efectos de derivados de la sobreexposición solar.

y neuromuscular son factores vitales en el ideal del movimiento indoloro de la columna.

7. APLICACIÓN DEL PRGF EN PATOLOGÍAS CUTÁNEAS

La piel es el mayor órgano del cuerpo humano, ocupando un área aproximada de 2 m² y comprendiendo el 17% del peso corporal. La función principal de la piel es actuar a modo de barrera protectora aislando al organismo del medio ambiente, protegiéndolo de posibles infecciones y de la deshidratación. Sin embargo, el tejido cutáneo se va deteriorando con la edad y por la exposición a ciertos factores ambientales, lo que compromete su capacidad regenerativa y la hace susceptible a desarrollar diversas patologías.

Los factores de crecimiento y las moléculas de señalización son elementos clave que dirigen de forma coordinada algunos de los eventos principales de la fase de regeneración y restauración cutánea. En este sentido, la tecnología PRGF, se postula como una terapia regenerativa de amplio bagaje científico que ha demostrado

De forma paralela, la tecnología PRGF ha sido también utilizada para revertir el envejecimiento cronológico cutáneo y contrarrestar los efectos de derivados de la sobreexposición solar. Los diferentes estudios clínicos indican que esta tecnología disminuye la pérdida de agua trans-epidérmica, mejorando la hidratación superficial y disminuye las arrugas leves/moderadas de expresión a través de la inducción de la actividad de los fibroblastos dérmicos y una mayor deposición de colágeno y elastina en el tejido conectivo.

Otras áreas dermatológicas como la tricología también se han visto beneficiadas por el potencial regenerativo de la tecnología PRGF. Estudios clínicos realizados para tratar patologías como la alopecia androgenética han demostrado que los factores de crecimiento autólogos son una excelente alternativa a la hora de incrementar la densidad y el grosor capilar mientras que se reduce significativamente la pérdida de cabello.

8. APLICACIÓN DEL PRGF EN PATOLOGÍAS OCULARES

La tecnología de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) genera un PRP con unas características concretas y se obtiene a través de un proceso estandarizado y optimizado. Mediante esta tecnología se pueden obtener diversas formulaciones, incluyendo un colirio rico en factores de crecimiento, un

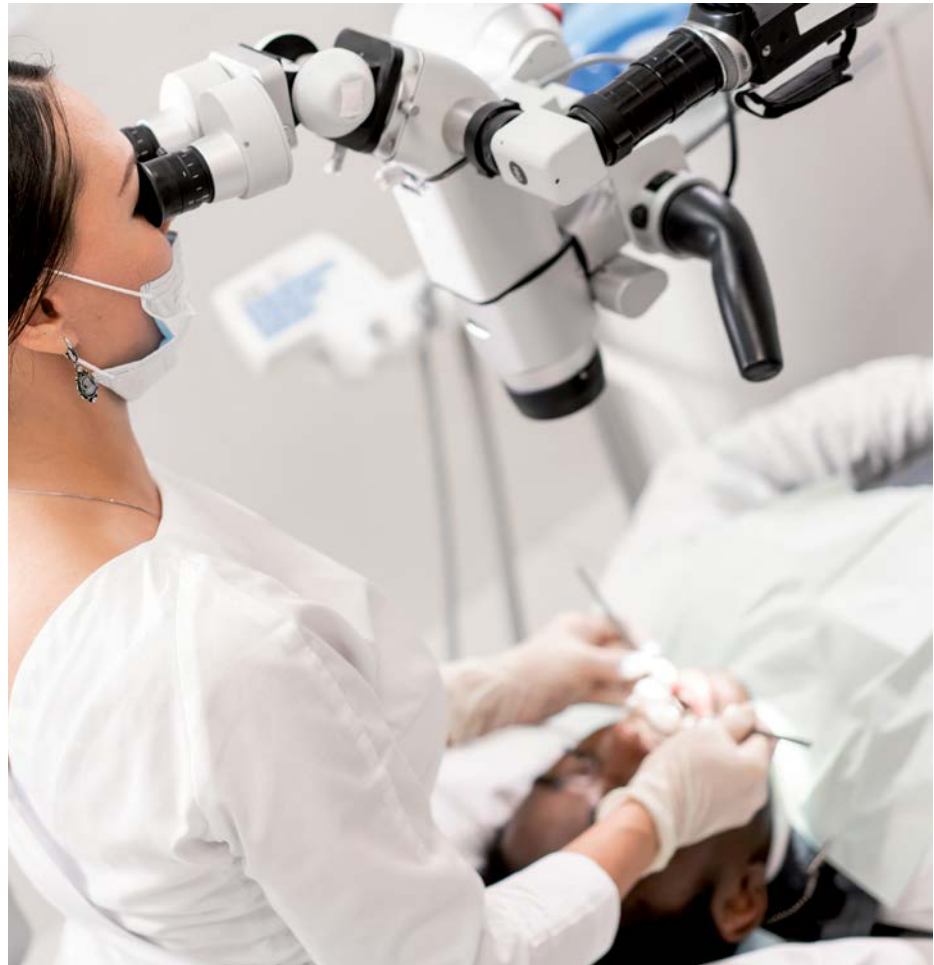
andamiaje tridimensional de fibrina, así como una membrana biomimética y elástica. Estudios recientes han demostrado que el colirio de PRGF incrementa significativamente la proliferación y migración de células procedentes de la superficie ocular con respecto al suero autólogo (SA), observándose a su vez un mayor efecto anti-fibrótico y anti-inflamatorio del PRGF con respecto al SA. Los resultados positivos obtenidos en estudios *in vitro* con la tecnología PRGF-Endoret estimularon el uso de dicha tecnología en la práctica clínica oftalmológica. A lo largo de los últimos años el colirio de PRGF se ha aplicado de forma satisfactoria en el tratamiento de pacientes con síndrome de ojo seco proveniente de diferentes etiopatologías, siendo los más destacados el ojo seco por síndrome de Sjögren, por keratitis de tipo 2 y 3 y en pacientes con enfermedad de injerto contra huésped, entre otros. En todos estos estudios se observó una mejoría significativa de los signos y síntomas del síndrome de ojo seco, y además no se observaron efectos adversos procedentes del tratamiento con colirio de PRGF. Asimismo, en otros estudios clínicos, igualmente se ha demostrado la eficacia y seguridad del colirio de PRGF en diversas patologías de la superficie ocular como son los defectos epiteliales persistentes o los desórdenes de superficie ocular (Figura 1G).

Por otro lado, en los últimos años también se ha comenzado a utilizar con gran éxito la membrana de PRGF como coadyuvante a cirugías de glaucoma o de desórdenes de la superficie ocular como en los casos de úlcera corneal persistente, queratoplastia, queratectomía superficial, perforación corneal y pterigio. En todos estos estudios se observó que el uso de la membrana de fibrina de PRGF (Figura 1G) favorecía la regeneración del tejido ocular en el cual se había aplicado, reduciendo a su vez el riesgo de fibrosis y de recidiva de la patología.

PARA LEER MÁS

Padilla S, Sanchez M, Orive G, Anitua E. Human-Based Biological and Biomimetic Autologous Therapies for Musculoskeletal Tissue Regeneration. *Trends Biotechnol* 35(3), 192-202 (2017).

Sanchez M, Anitua E, Delgado D *et al.* Platelet-rich plasma, a source of autologous growth factors and biomimetic scaffold for peripheral nerve regeneration. *Expert Opin Biol Ther* 17(2), 197-212 (2017).



Anitua E, Padilla S. Biologic therapies to enhance intervertebral disc repair. *Regen Med* 13(1), 55-72 (2018).

Sanchez M, Anitua E, Delgado D *et al.* A new strategy to tackle severe knee osteoarthritis: Combination of intra-articular and intraosseous injections of Platelet Rich Plasma. *Expert Opin Biol Ther* 16(5), 627-43 (2016).

Sánchez M, Delgado D, Sánchez P, Anitua E, Padilla S. Plasma Rich in Growth Factors for the Treatment of Skeletal Muscle Injury. In: *Muscle Injuries in Sport Athletes: Clinical Essentials and Imaging Findings*. Rogger, B, Guermazi, A, Skaf, A (Eds.) (Springer International Publishing, Cham, 2017) 451-64.

©Springer International Publishing AG, part of Springer Nature 2018 E. Anitua *et al.* (eds.), Platelet Rich Plasma in Orthopaedics and Sports Medicine, <https://doi.org/10.1007/978-3-319-63730-3-2>.