

Plasma rico en factores de crecimiento leucocitario en pacientes con parálisis cerebral

Sánchez-López JM¹, Alcaraz-Rubio J², Oliver-Iguace A¹

Resumen

ANTECEDENTES: el plasma rico en plaquetas es una técnica médica común como parte de la medicina regenerativa, que por medio del efecto local y sistémico de los factores de crecimiento plasmático se produce la activación, proliferación y diferenciación celular según la fracción celular recuperada en el producto final obtenido.

OBJETIVO: comunicar el beneficio de la aplicación sistémica de factores de crecimiento plasmático de origen leucocitario en pacientes con parálisis cerebral sometidos a programas específicos de rehabilitación neurológica.

MATERIAL Y MÉTODO: estudio de casos y controles realizado en una población de 50 pacientes de raza caucásica y bajo el mismo programa de neurorrehabilitación, con límites de edad entre 5 y 15 años diagnosticados con parálisis cerebral marcada y severa espasticidad generalizada; se administró una inyección intravenosa de plasma rico en factores de crecimiento leucocitario concentrado (25 cc) en 25 de ellos. Se realizó el seguimiento de la evolución cognitiva mediante la escala de Barthel uno, dos, tres, cuatro, cinco y seis meses después de la inyección. Se determinó el conteo celular leucocitario-plaquetario mediante coulter tipo Beckman, así como las concentraciones plasmáticas de los siguientes factores de crecimiento: factor similar a la insulina 1 (IGF-1), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento vasculoendotelial (VEGF) y factor de crecimiento transformante β (TGF- β) a través de técnica específica ELISA en los pacientes antes del tratamiento, en el producto final obtenido, así como en ambos grupos a las 24 h del tratamiento y al mes y dos, tres, cuatro, cinco y seis meses después del mismo. Utilizamos técnicas de estadística descriptiva y análisis de correlación y potencia estadística mediante la prueba F de Fisher para interpretación de los datos.

RESULTADOS: no se observaron efectos adversos en los pacientes, a excepción de un pequeño hematoma en la zona de la canalización de acceso venoso. Se observó una notoria mejoría en la esfera cognitiva (memoria, capacidad de realizar tareas más complejas y la adquisición de nuevas habilidades), claramente superior en el grupo de pacientes tratados con plasma rico en factores de crecimiento leucocitario, diferencia significativamente estadística a los dos meses de seguimiento ($p=0.013$), que se mantuvo estable a partir del tercer mes. Aunque a las 24 h de tratamiento en el grupo de estudio, las concentraciones séricas de factores de crecimiento de tipo VEGF y TGF- β se incrementaron entre cinco y seis veces más respecto a las concentraciones de referencia basales y las del grupo control, hecho significativamente estadístico ($p=0.02$), no se correlacionó con la mejoría cognitiva durante los seis meses de seguimiento clínico, porque las concentraciones plasmáticas obtenidas de factores de crecimiento fueron similares en ambos grupos.

CONCLUSIÓN: proponemos que este tratamiento es útil en pacientes con parálisis cerebral para aprovechar el poder neuroestimulador y neu-

¹ Unión Murciana de Hospitales, Unidad de Hematología, Departamento de Ciencias de la Salud, Grado en Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, UCAM Universidad Católica San Antonio de Murcia, España.

² Unidad de Neuroendocrinología, Hospital Rüber.

Recibido: noviembre 2015

Aceptado: enero 2016

Correspondencia

Dra. Juana María Sánchez López
Carretera de Águilas, Buzón 252-B
30800 Lorca, Murcia, España
jesusalcaraz@telefonica.net

Este artículo debe citarse como

Sánchez-López JM, Alcaraz-Rubio J, Oliver-Iguace A. Plasma rico en factores de crecimiento leucocitario en pacientes con parálisis cerebral. Rev Hematol Mex. 2016 ene;17(1):21-33.

rorregenerador de los factores de crecimiento endógenos derivados de leucocitos, lo que aumenta el efecto de la neurorrehabilitación y acorta los tiempos de recuperación cognitiva, sin encontrar correlación con las concentraciones plasmáticas de factores de crecimiento obtenidas durante el periodo de estudio.

PALABRAS CLAVE: plasma rico en leucocitos, parálisis cerebral, factores de crecimiento, plasticidad neuronal, infusión intravenosa.

Rev Hematol Mex. 2016 Jan;17(1):21-33.

Platelet-derived leukocyte growth factors in cerebral palsy.

Sánchez-López JM¹, Alcaraz-Rubio J², Oliver-Iguace A¹

Abstract

BACKGROUND: Platelet-rich plasma is now a common medical technique known as regenerative medicine, through power cell activation and differentiation, which produces different growth factors, depending on the cell fraction recovered in the final product both locally and systematically.

OBJECTIVE: To report the benefit of the systemic application of plasma growth factors in patients with cerebral palsy undergoing specific programs of neurorehabilitation.

MATERIAL AND METHOD: A case-control study done in a population of 50 Caucasian patients under the same program of neurorehabilitation and age range between 5 and 15 years with perinatal cerebral palsy, cognitive impairment, and marked and severe generalized spasticity; we administered an intravenous injection of concentrated leukocyte-rich plasma (25 cc) in a group of 25 of them. We performed follow-up at 1, 2, 3, 4, 5 and 6 months after the injection. All serum samples for determination were obtained by ELISA technique and Beckman Coulter. Cognitive Barthel scale was used before and after treatment. The determination protocol that was applied before the analysis was performed manually and the self-transfusion was considered suitable for treatment. We determined cellular composition and the plasma levels of factor similar to insulin-1 (IGF-1), platelet-derived growth factor (PDGF), vasculo-endothelial growth factor (VEGF), and transforming growth factor β (TGF- β) before, in the final product obtained in both groups before treatment and at 24 hours and at 1, 2, 3, 4, 5 and 6 months after treatment. Correlations between Cognitive responses in the two population groups throughout the follow-up period were analyzed by Fisher correlation analysis.

RESULTS: No adverse effects were observed in the patients except for a small hematoma in the area channeling venous access. We observed a clear improvement in the cognitive sphere (memory, ability to perform more complex tasks, and acquisition of new skills) clearly higher in the group of patients treated with plasma rich in leukocyte growth factors, significantly statistical difference at 2 months follow-up ($p=0.013$), maintaining stable from the third month follow-up. Although after 24 hours of treatment in the group of treatment, serum levels of growth

factors type VEGF and TGF- β increased 5-6 fold over baseline levels and the group control ($p=0.02$), it was not correlated with cognitive improvement over six months of clinical follow-up in this group, since virtually objectified plasma levels of growth factors were similar in both groups from the month follow-up study.

CONCLUSION: We propose that this therapy is useful in these patients to harness the neurostimulative and neuroregenerative power of endogenous growth factors derived from leukocytes, enhancing the effect of neurorehabilitation and shortening cognitive recovery

KEYWORDS: leukocyte-rich plasma; cerebral palsy; growth factors; neuronal plasticity; intravenous infusion

¹ Unión Murciana de Hospitales, Unidad de Hematología, Departamento de Ciencias de la Salud, Grado en Medicina, Facultad de Ciencias de la Salud, UCAM Universidad Católica San Antonio de Murcia, España.

² Unidad de Neuroendocrinología, Hospital Rüber.

Correspondence

Dra. Juana María Sánchez López
Carretera de Águilas, Buzón 252-B
30800 Lorca, Murcia, España
jesusalcaraz@telefonica.net

ANTECEDENTES

El uso de plasma rico en factores de crecimiento en varios campos de la Medicina, sobre todo Traumatología, Odontología y Cirugía general, ha experimentado un desarrollo extraordinario debido a la enorme capacidad de regeneración, diferenciación y quimiotaxis que producen los factores de crecimiento, al modular la angiogénesis y la plasticidad celular de tejidos lesionados. Entre ellos, los más conocidos son el factor de crecimiento tipo insulina (IGF-1), el factor de crecimiento transformante α o β (TGF- α o β), el factor de crecimiento derivado del endotelio vascular (VEGF) y el factor de crecimiento derivado de la plaqueta (PDGF).

A través de complejos mecanismos bioquímicos de regulación tipo retroalimentación en los que intervienen diversas citocinas, la propia célula lesionada tiene receptores específicos para este tipo de proteínas que han demostrado gran facultad para intervenir en los mecanismos apoptóticos y antiapoptóticos que regulan su propio ciclo vital y el de diferenciación celular. En estudios recientes también se ha objetivado la posibilidad de potenciar ciertos factores de crecimiento plasmático de un tipo u otro en fun-

ción del enriquecimiento del concentrado final obtenido, ya sea con la fracción leucocitaria-mononuclear o la fracción plaquetaria del mismo.

Sin embargo, hay otros campos de aplicación en Medicina que abren nuevas expectativas, como la neuroendocrinología y neurorrehabilitación, en las que infundidos de manera local o sistémica por vía endovenosa, tienen la capacidad de inmunomodulación y quimiotaxis sobre las células neuronales. Además, se ha demostrado que en pacientes con enfermedades degenerativas neurológicas (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, encefalopatía vascular, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica y encefalopatía hipóxico-anóxica), las concentraciones plasmáticas de ciertos factores de crecimiento están por debajo de las cifras basales, por lo que se planteó la hipótesis de que podrían interferir en el mecanismo de hipoxia celular, al producir una función de neuroprotección y de regeneración y diferenciación del tejido neuronal. El objetivo de este estudio es evidenciar la posibilidad de mejoría en el rendimiento cognitivo de pacientes con tara neurológica central de tipo hipóxico-anóxico, como es la parálisis cerebral perinatal, al acortar los tiempos de neurorrehabilitación específica.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio de casos y controles, efectuado en una población de 50 pacientes de raza caucásica y bajo el mismo programa de neurorrehabilitación, con límites de edad entre 5 y 15 años, diagnosticados con parálisis cerebral marcada y severa espasticidad generalizada; se administró una inyección intravenosa de plasma rico en factores de crecimiento leucocitario concentrado (25 cc) en 25 de ellos.

Consideraciones éticas

Todos los pacientes o representantes autorizados incluidos en el estudio dieron su consentimiento oral y escrito en un formulario en el que se les explicaba la finalidad del procedimiento, el mecanismo de realización y los posibles efectos colaterales asociados con el mismo.

Criterios de selección del grupo de tratamiento

El grupo de tratamiento con factores de crecimiento se seleccionó de acuerdo con las normas de inclusión analíticas para autotransfusión de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia en cuanto a controles bioquímicos, hematológicos y serológicos previos a la obtención de las muestras de sangre total. Según lo establecido en la bibliografía científica, se excluyeron del estudio los pacientes con enfermedad tumoral, infecciosa o hematológica previa, en los que se contraindica la aplicación del tratamiento con factores de crecimiento plasmático de cualquier origen.

Articulación de los brazos de estudio

Se seleccionó una muestra de 50 pacientes de origen caucásico, con parálisis cerebral con espasticidad y deterioro cognitivo severo según las normas de la Sociedad Europea de Neurología y Neuropediatría. La edad estuvo comprendida en-

tre 5 y 15 años; 20 de los pacientes eran varones y 30 mujeres. Todos los pacientes de la población seleccionada se sometieron a la misma pauta de tratamiento de neurorrehabilitación y durante las mismas horas a la semana, como se especifica en el Cuadro 1. Los 50 pacientes se dividieron en dos brazos: brazo 1, que correspondía a 25 pacientes (10 mujeres y 15 varones) sometidos a infusión endovenosa a dosis única (25 cc) de concentrado de factores de crecimiento plasmático enriquecidos con leucocitos, y brazo 2 como grupo control de 25 pacientes (10 mujeres y 15 varones) que siguieron simplemente la terapia específica de neurorrehabilitación.

Obtención y procesamiento de las muestras sanguíneas

Todas las muestras de sangre total se obtuvieron mediante venopunción con sistema de vacío Vacutainer con aguja de 20-22 G en tubos de 9 mL de EDTA. Las determinaciones reológicas previas y tras el periodo de seguimiento del estudio se procesaron mediante Coulter tipo Beckman para determinar el conteo celular y equipos específicos de ELISA para la determinación de los siguientes factores de crecimiento plasmático: tipo insulina (IGF-1), transformante β (TGF- β), derivado del endotelio (VEGF) y derivado de la plaqueta (PDGF). La centrifugación de las muestras se realizó en centrifugadora tipo CEMCON-2, de 16 tubos y eje angular de 5 cm de radio. Se utilizó el protocolo de obtención de factores de crecimiento enriquecidos con la fracción mononuclear leucocitaria estandarizada de Alcaraz y su grupo (2015), consistente en una centrifugación única a 3,500 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente. La obtención del concentrado final leucocitario se realizó de manera aséptica bajo campana de flujo laminar B en tubos de EDTA de 3.5 mL. La aplicación se hizo en el grupo de tratamiento mediante infusión lenta endovenosa a velocidad de 1 mL/segundo.

Cuadro 1. Técnicas utilizadas de neurorrehabilitación específica

Concepto Bobath: aprendizaje motor en el que se facilitan las vías de movimiento normal a través de funciones propuestas y guiadas por el terapeuta.

Método Affolter: estimulación táctil y cinestésica mediante la realización de actividades de la vida diaria con la finalidad de hacer interaccionar al paciente con el ambiente. Aplicación muy útil en estados vegetativos.

Ejercicio terapéutico cognoscitivo o método Perfetti: la implicación de procesos cognitivos (elementos corticales) dentro de una rehabilitación motora potencia mayor capacidad para procesar información y organizar el movimiento.

Vojta: técnica en la que a partir de estímulos definidos y partiendo de posturas determinadas, desencadenamos reacciones motoras repetidas (patrones de locomoción refleja) en el tronco y en las extremidades.

Técnica Grimaldi: facilitación neuromuscular en la que se utiliza un medio de transmisión plástico para normalizar el tono muscular.

Terapia craneosacral: técnica no invasiva que mediante el trabajo sobre las fascias y membranas mejora las funciones corporales del paciente.

Estimulación basal: concepto basado en un acercamiento personal en el que las experiencias vividas y la percepción del día a día toman importancia. Es muy útil en casos en los que se dificultan las relaciones comunicativas, mentales, sensitivas y motoras.

Técnicas virtuales: utilización de videoconsolas (*wii*, *wii-fet*) que estimulan la coordinación, equilibrio, planificación motora, etc., ofreciendo retroalimentación constante muy útil en neurorrehabilitación.

Valoración cognitiva de los pacientes

Para la valoración cognitiva de los pacientes se utilizó la escala de Barthel, que evalúa una serie de apartados con una puntuación que varía de 0 a 15 para cada uno (Cuadro 2).

Tratamiento estadístico de los datos

Para el cálculo estadístico e interpretación de los datos obtenidos según las variables estudiadas se utilizaron técnicas de estadística descriptiva (media, mediana, valor máximo, mínimo y desviación estándar) e inferencial mediante análisis de simetría, correlación y potencia estadística con la prueba F de Fisher mediante el programa informático SPSS versión 5.

RESULTADOS

No hubo eventos adversos, salvo un pequeño hematoma en la zona de la venopunción de alivio espontáneo. En los Cuadros 3 a 5 se muestran los datos obtenidos en cuanto a determinaciones reológicas en sangre total de los 50 pacientes, en los 25 plasmas enriquecidos con leucocitos purificados, así como en los 25 pacientes a las 24 horas de administración del tratamiento. Se observa que a las 24 horas de la infusión, las

concentraciones de factores de crecimiento en el grupo de pacientes sometidos al mismo fueron entre dos y cuatro veces mayores para los factores tipo PDGF e IGF-1 y entre cinco y siete veces mayores para los factores tipo VEGF y TGF- β , con respecto a las cifras basales iniciales para este grupo y con respecto al grupo control, lo que fue significativamente estadístico con valor de $p=0.02$ (Figura 1). Sin embargo, a partir del primer mes de seguimiento hasta el sexto, los valores de todos los factores de crecimiento determinados se mantuvieron estables y similares en ambos grupos de estudio, sin hallar correlación con la evolución cognitiva observada (Figura 2). En la Figura 3 vemos cómo las puntuaciones de la prueba cognitiva eran muy similares en ambos brazos del estudio, previo al tratamiento. Desde el primer mes de seguimiento la mejoría cognitiva fue más evidente en el grupo de pacientes tratados con factores de crecimiento leucocitario, diferencia estadísticamente significativa en el segundo mes tras el tratamiento ($p=0.013$); hecho que se muestra en las Figuras 4 y 5 y se mantuvo estable en este grupo. Durante los meses de estudio posteriores (Figuras 6 a 9), las puntuaciones totales de la prueba cognitiva del grupo control se aproximaron de manera paulatina a lo largo del periodo de seguimiento a los del brazo tratado con plasma rico en

leucocitos y fueron prácticamente coincidentes durante los dos últimos meses de seguimiento.

Cuadro 2. Índice de Barthel

Comer
0 = incapaz
5 = necesita ayuda para cortar, extender mantequilla, usar condimentos, etc.
10 = independiente (la comida está al alcance de la mano)
Trasladarse entre la silla y la cama
0 = incapaz, no se mantiene sentado
5 = necesita ayuda importante (una persona capacitada o dos personas), puede estar sentado
10 = necesita algo de ayuda (una pequeña ayuda física o ayuda verbal)
15 = independiente
Aseo personal
0 = necesita ayuda con el aseo personal
5 = independiente para lavarse la cara, las manos y los dientes, peinarse y afeitarse
Uso del retrete
0 = dependiente
5 = necesita alguna ayuda, pero puede hacer algo solo
10 = independiente (entrar y salir, limpiarse y vestirse)
Bañarse-ducharse
0 = dependiente
5 = independiente para bañarse o ducharse
Desplazarse
0 = inmóvil
5 = independiente en silla de ruedas en 50 m
10 = anda con pequeña ayuda de una persona (física o verbal)
15 = independiente al menos 50 m, con cualquier tipo de muleta, excepto andador
Subir y bajar escaleras
0 = incapaz
5 = necesita ayuda física o verbal, puede llevar cualquier tipo de muleta
10 = independiente para subir y bajar
Vestirse y desvestirse
0 = dependiente
5 = necesita ayuda, pero puede hacer la mitad aproximadamente, sin ayuda
10 = independiente, incluyendo botones, cremalleras, cordones, etc.
Control de heces
0 = incontinente (o necesita que le suministren enema)
5 = accidente excepcional (uno a la semana)
10 = continente
Control de orina
0 = incontinente, o sondado incapaz de cambiarse la bolsa
5 = accidente excepcional (máximo uno/24 horas)
10 = continente, durante al menos siete días

DISCUSIÓN

La evolución de la medicina regenerativa en varias áreas clínicas revoluciona el campo de la reparación de tejido, proporcionando un instrumento de tratamiento que es barato, fácil de usar, sin efectos adversos y menos invasivo.^{1,2} Sin embargo, las exigencias científicas y sociales hacen necesario diseñar procesos clínicos apropiados para establecer protocolos de tratamiento para cada aplicación médica particular.^{1,3}

Hoy día, las áreas médicas con evidencia científica más sólida acerca del uso de factores de crecimiento plasmático son la Odontología (para reparar el lecho alveolar dental) y Traumatología (artropatías, tendinopatías, lesiones de ligamento y meniscopatía), con el diseño adecuado de ensayos clínicos con distribución al azar en fase I-II.^{1,4} Pero su aplicación empírica en el tratamiento de muchas enfermedades y en especialidades médicas a veces supera la capacidad científica para producir evidencia con suficiente potencia para su utilización.

Un hecho importante a comentar, como demostraron previamente otros autores, es la gran capacidad de difusión que tienen estas proteínas a través de los tejidos y la corta vida media observada una vez alcanzadas concentraciones plasmáticas terapéuticas que no suele superar las 48 a 72 horas,^{5,6} lo que muestra que el mecanismo de actuación es complejo, se cree que ocurre al activar vías o cascadas bioquímicas a través de numerosas quimiocinas o citocinas que intervendrían en los procesos inflamatorios tisulares específicos y en la migración, proliferación y diferenciación de precursores celulares en diferentes estados de maduración, así como en fenómenos de angiogénesis que incrementarían la oxigenación del tejido y la célula con la consecuente protección y aumento de supervivencia de la misma.

Cuadro 3. Valores reológicos de los 50 pacientes estudiados

	PDGF-AB (10-50 pg/ mL)	TGF-β1 (10-70 pg/mL)	IGF-1 (0.5-19.5 pg/mL)	VEGF (15-85 pg/mL)	Plaquetas (150,000- 350,000/mm ³)	Leucocitos (3,200-9,000/ mm ³)	Granulo- citos /mm ³	Mononu- clearas /mm ³	CD34 + /mm ³
Paciente 1	45	60	18	80	210,000	7,500	4,875	1,275	0.9
Paciente 2	40	25	10	45	210,000	6,500	3,575	1,625	0.3
Paciente 3	43	55	17	80	190,000	6,230	3,738	1,246	0.4
Paciente 4	43	67	15	75	170,000	7,500	4,500	1,125	0.5
Paciente 5	15	25	7	30	180,000	8,900	5,340	1,335	0.3
Paciente 6	35	24	12	40	175,000	8,900	5,340	1,956	0.2
Paciente 7	20	15	7	30	260,000	7,200	4,320	1,440	0.2
Paciente 8	30	20	7	35	176,000	7,430	4,458	1,114	0.4
Paciente 9	91	60	16	75	350,000	7,430	4,086	1,337	0.7
Paciente 10	45	55	18	70	195,000	9,500	5,700	1,425	0.7
Paciente 11	35	20	15	40	205,000	8,300	4,980	1,909	0.2
Paciente 12	12	15	4	25	250,000	8,500	5,100	1,890	0.1
Paciente 13	45	60	17	75	240,000	8,700	5,481	1,131	0.7
Paciente 14	43	55	17	70	300,000	7,600	4,560	1,140	0.4
Paciente 15	15	55	18	70	214,907	7,500	4,500	1,500	0.2
Paciente 16	42	67	18	87	220,659	7,590	4,109	1,221	0.8
Paciente 17	41	21	10	44	215,401	6,201	3,600	1,624	0.5
Paciente 18	44	53	17	88	195,793	6,013	3,490	1,276	0.8
Paciente 19	40	66	15	74	181,098	7,901	4,501	1,112	0.2
Paciente 20	17	22	7	32	191,209	8,587	5,354	1,309	0.6
Paciente 21	37	23	12	43	175,397	8,401	5,176	1,966	0.6
Paciente 22	25	17	7	31	262,981	7,010	4,012	1,490	0.6
Paciente 23	33	22	7	33	169,127	7,091	4,301	1,830	0.5
Paciente 24	99	68	16	77	339,129	7,178	4,912	1,900	0.9
Paciente 25	41	52	18	76	184,091	9,280	5,769	1,421	0.8
Paciente 26	32	21	15	40	200,436	8,120	4,210	1,932	0.4
Paciente 27	11	13	4	23	251,465	8,401	5,300	1,890	0.2
Paciente 28	47	69	17	72	201,154	8,598	5,900	1,900	0.5
Paciente 29	45	51	17	79	330,012	7,901	4,390	1,140	0.4
Paciente 30	19	57	18	75	260,123	7,689	4,211	1,500	0.5
Paciente 31	40	62	18	82	218,013	7,211	4,600	1,275	0.8
Paciente 32	43	21	10	43	219,032	6,480	3,410	1,625	0.3
Paciente 33	48	52	17	81	191,913	6,219	3,800	1,219	0.7
Paciente 34	42	62	15	73	171,934	7,500	4,212	1,119	0.6
Paciente 35	12	28	7	31	187,091	8,967	5,012	1,321	0.8
Paciente 36	33	22	12	42	175,708	8,941	5,900	1,780	0.6
Paciente 37	22	18	7	39	260,000	7,212	4,150	1,503	0.9
Paciente 38	39	27	7	33	174,814	7,012	4,800	1,145	0.5
Paciente 39	99	67	16	76	255,060	7,432	4,120	1,903	0.6
Paciente 40	47	51	18	71	195,000	9,019	5,500	1,093	0.5
Paciente 41	34	29	15	44	260,124	8,190	4,123	1,012	0.4
Paciente 42	15	14	4	22	255,098	8,122	5,450	1,701	0.5
Paciente 43	45	65	17	78	243,981	8,000	5,911	1,016	0.8
Paciente 44	43	51	17	79	317,321	7,801	4,012	1,045	0.5
Paciente 45	15	55	18	71	217,877	7,546	4,560	1,501	0.3
Paciente 46	45	69	18	89	212,066	7,209	4,900	1,200	0.8
Paciente 47	40	27	10	45	217,912	6,109	3,123	1,601	0.4
Paciente 48	43	53	17	89	190,543	6,320	3,800	1,222	0.5
Paciente 49	43	60	15	74	178,913	7,591	4,911	1,125	0.4
Paciente 50	15	20	7	33	188,912	8,011	5,901	1,333	0.5
Máximo	99	69	18	89	350,000	9,500	5,911	1,966	0.9
Mínimo	11	13	4	22	169,127	6,013	3123	1012	0.1
Promedio	32.75	36.09	12.14	53.03	259,563	7,709	4619	1405	0.5

Cuadro 4. Concentraciones medias de factores de crecimiento en los plasmas enriquecidos con leucocitos obtenidos

	PDGF-AB (10-50 pg/ mL)	TGF-β1 (10-70 pg/mL)	IGF-1 (0.5-19.5 pg/mL)	VEGF (15-85 pg/mL)	Plaquetas (150,000- 350,000/mm ³)	Leucocitos (3,200-9,000/ mm ³)	Granu- locitos /mm ³	Mononu- cleares /mm ³	CD34+ /mm ³
Paciente 1	296	450	250	575	500,000	21,000	3,150	18,270	240
Paciente 2	270	300	150	545	600,000	22,000	4,400	16,500	180
Paciente 3	190	370	200	590	500,000	21,000	3,150	16,800	270
Paciente 4	250	480	190	540	400,000	20,000	4,000	17,400	210
Paciente 5	150	365	110	460	600,000	21,000	4,200	14,700	170
Paciente 6	160	370	160	530	500,000	24,000	6,000	19,200	175
Paciente 7	200	390	120	470	400,000	21,500	4,515	15,910	170
Paciente 8	150	350	105	390	700,000	21,500	3,440	12,900	120
Paciente 9	253	520	277	590	600,000	21,500	4,085	18,705	215
Paciente 10	220	470	210	590	700,000	24,000	3,600	20,400	200
Paciente 11	150	370	160	480	690,000	23,000	4,600	17,940	150
Paciente 12	190	350	190	320	500,000	20,000	4,000	12,000	70
Paciente 13	280	420	230	570	710,000	22,000	3,300	18,700	200
Paciente 14	250	420	199	570	650,000	22,000	4,400	16,500	185
Paciente 15	245	430	190	590	570,000	23,000	4,370	19,550	200
Paciente 16	280	459	253	590	620,000	21,000	3,100	18,500	240
Paciente 17	270	380	153	580	660,000	22,600	4,500	16,700	180
Paciente 18	250	390	290	570	710,000	27,000	3,000	16,500	270
Paciente 19	230	490	170	590	630,000	20,900	4,900	17,900	210
Paciente 20	220	390	100	499	700,000	21,530	4,100	14,500	259
Paciente 21	130	380	190	580	610,000	24,070	6,400	19,900	300
Paciente 22	210	290	100	489	730,000	26,700	4,400	15,900	350
Paciente 23	230	400	103	391	630,000	25,000	3,500	12,480	270
Paciente 24	240	590	240	570	730,000	22,700	4,001	18,400	200
Paciente 25	200	490	200	510	670,000	23,000	3,670	20,900	290
Máximo	296	590	290	590	730,000	27,000	6,400	20,900	350
Mínimo	130	290	100	320	400,000	20,000	3,000	12,000	70
Promedio	215.39	407.19	172.82	521.32	604,147	22,411	4,038	16,913	203

Cuadro 5. Concentraciones medias de factores de crecimiento en el grupo de pacientes sometidos a infusión de factores de crecimiento leucocitario a las 24 horas del tratamiento (Continúa en la siguiente página)

	PDGF-AB (10-50 pg/ mL)	TGF-β 1 (10-70 pg/mL)	IGF-1 (0.5-19.5 pg/mL)	VEGF (15-85 pg/mL)	Plaquetas (150,000- 350,000/mm ³)	Leucocitos (3,200-9,000/ mm ³)	Granulo- citos /mm ³	Mononu- cleares /mm ³	CD34+ /mm ³
Paciente 1	200	420	220	530	200,436	8,120	4,210	1,932	0.4
Paciente 2	230	270	130	510	251,465	8,401	5,300	1,890	0.2
Paciente 3	120	320	180	520	201,154	8,598	5,900	1,900	0.5
Paciente 4	200	440	150	500	330,012	7,901	4,390	1,140	0.4
Paciente 5	110	325	100	420	260,123	7,689	4,211	1,500	0.5
Paciente 6	110	340	140	510	218,013	7,211	4,600	1,275	0.8
Paciente 7	160	360	100	430	219,032	6,480	3,410	1,625	0.3
Paciente 8	110	320	99	350	191,913	6,219	3,800	1,219	0.7
Paciente 9	203	500	250	530	171,934	7,500	4,212	1,119	0.6

Cuadro 5. Concentraciones medias de factores de crecimiento en el grupo de pacientes sometidos a infusión de factores de crecimiento leucocitario a las 24 horas del tratamiento (Continuación)

	PDGF-AB (10-50 pg/ mL)	TGF-β 1 (10-70 pg/mL)	IGF-1 (0.5-19.5 pg/mL)	VEGF (15-85 pg/mL)	Plaquetas (150,000- 350,000/mm³)	Leucocitos (3,200-9,000/ mm³)	Granulo- citos /mm³	Mononu- cleares /mm³	CD34 +/mm³
Paciente 10	190	420	200	560	187,091	8,967	5,012	1,321	0.8
Paciente 11	110	350	130	440	175,708	8,941	5,900	1,780	0.6
Paciente 12	120	300	170	300	260,000	7,212	4,150	1,503	0.9
Paciente 13	220	400	200	520	174,814	7,012	4,800	1,145	0.5
Paciente 14	210	410	180	550	255,060	7,432	4,120	1,903	0.6
Paciente 15	215	400	170	540	195,000	9,019	5,500	1,093	0.5
Paciente 16	220	409	240	540	260,124	8,190	4,123	1,012	0.4
Paciente 17	220	350	130	530	255,098	8,122	5,450	1,701	0.5
Paciente 18	230	360	250	530	243,981	8,000	5,911	1,016	0.8
Paciente 19	200	450	140	540	317,321	7,801	4,012	1,045	0.5
Paciente 20	190	350	90	445	217,877	7,546	4,560	1,501	0.3
Paciente 21	100	330	150	550	212,066	7,209	4,900	1,200	0.8
Paciente 22	180	270	98	440	217,912	6,109	3,123	1,601	0.4
Paciente 23	190	350	99	340	190,543	6,320	3,800	1,222	0.5
Paciente 24	190	520	210	530	178,913	7,591	4,911	1,125	0.4
Paciente 25	170	430	180	500	188,912	8,011	5,901	1,333	0.5
Máximo	230	450	200	505	290,000	8,900	4,000	2,000	20
Mínimo	100	120	55	200	190,000	3,950	3,100	1,600	5
Promedio	169,74	272,7	127,3	415,45	223,602	7,638	3,629	1,768	11

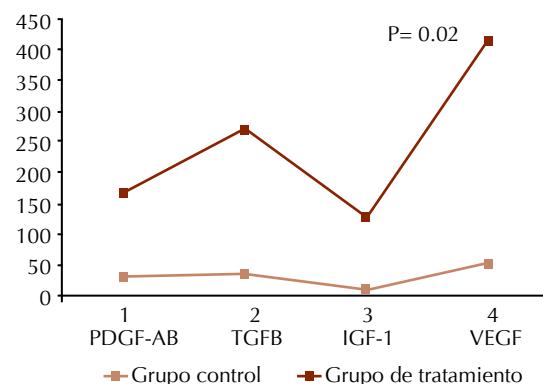


Figura 1. Concentraciones reológicas medias de factores de crecimiento leucocitarios en ambos grupos de estudio a las 24 horas de tratamiento. En el grupo de pacientes tratados con plasma enriquecido con leucocitos las concentraciones de factores de crecimiento tipo VEGF y TGF-β se incrementaron entre cinco y siete veces, mientras los factores de crecimiento tipo PDGF e IGF-1 lo hicieron entre dos y cuatro veces con respecto a las cifras basales de este mismo grupo y con respecto al brazo control.

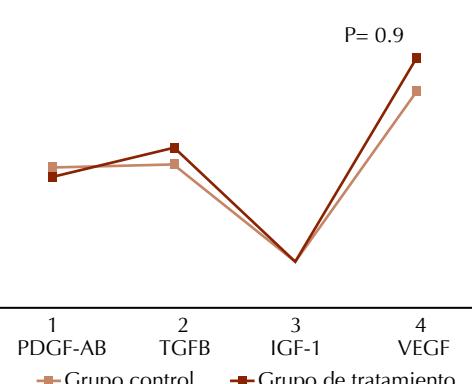


Figura 2. Concentraciones reológicas medias de factores de crecimiento leucocitarios en ambos grupos de estudio a partir del primer mes de tratamiento hasta el final del periodo de estudio. En los dos grupos de estudio las concentraciones de factores de crecimiento son prácticamente similares desde el primer mes de seguimiento hasta el final del periodo de estudio, lo que indica que estas proteínas tienen una labilidad plasmática grande.

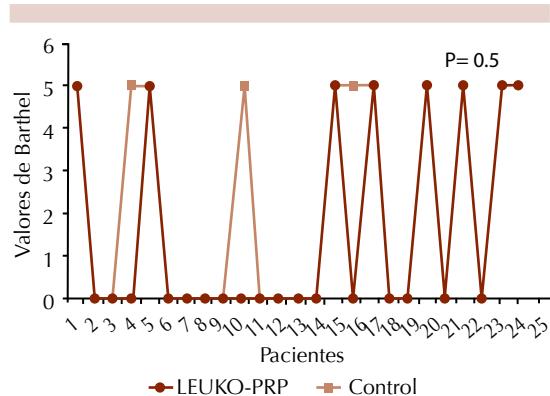


Figura 3. Puntuación en la escala de Barthel en los dos grupos de estudio antes del tratamiento.

Previo al tratamiento en los dos brazos del estudio las puntuaciones cognitivas de la prueba fueron similares.

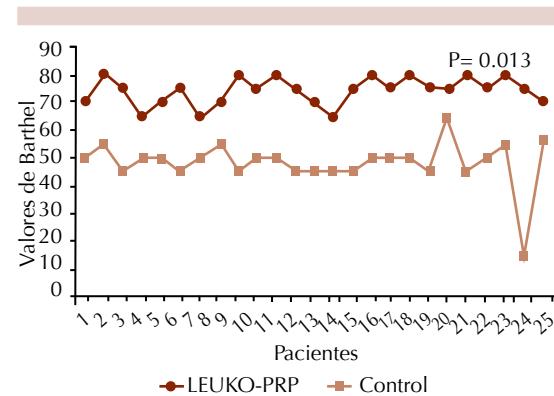


Figura 5. Puntuación en la escala de Barthel en los dos grupos de estudio a los dos meses de seguimiento. Se acentúa la diferencia en la puntuación de la prueba cognitiva a favor del grupo de tratamiento, con diferencia estadísticamente significativa.

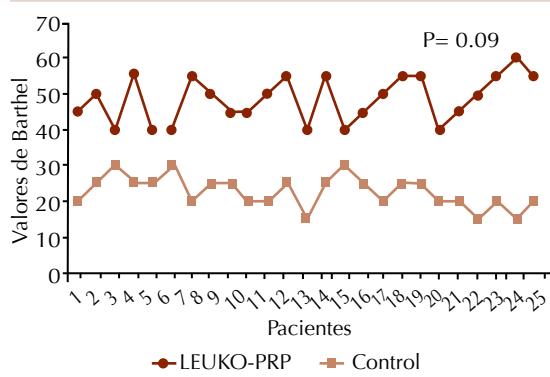


Figura 4. Puntuación en la escala de Barthel en los dos grupos de estudio al mes de seguimiento.

En el grupo de tratamiento las puntuaciones de la prueba cognitiva fueron ligeramente mayores con respecto al grupo control.

Algunos campos médicos más prometedores para la utilización de esta biotecnología son la Neurología, Neuroendocrinología y Neurorehabilitación. Hace unos meses se publicó el primer caso clínico de mejoría cognitiva soportado mediante prueba de imagen con tomografía por emisión de positrones cerebral en un niño de cinco años con parálisis cerebral severa al que se le administró mediante infu-

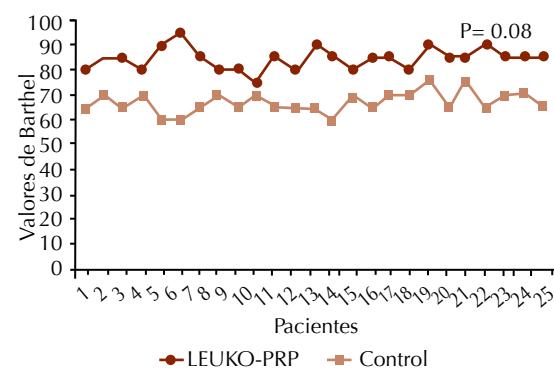


Figura 6. Puntuación en la escala de Barthel en los dos grupos de estudio a los tres meses de seguimiento. Las puntuaciones en la prueba cognitiva del grupo control se aproximan a las del brazo de tratamiento; las puntuaciones del grupo de tratamiento fueron estables.

sión endovenosa un concentrado plasmático de factores de crecimiento enriquecido con la fracción leucocitaria-mononuclear.⁷ Diversos autores plantearon la hipótesis de fenómenos neorregenerativos, antiapoptóticos, inmuno-moduladores, así como efectos neurotrópicos que producirían estos factores de crecimiento

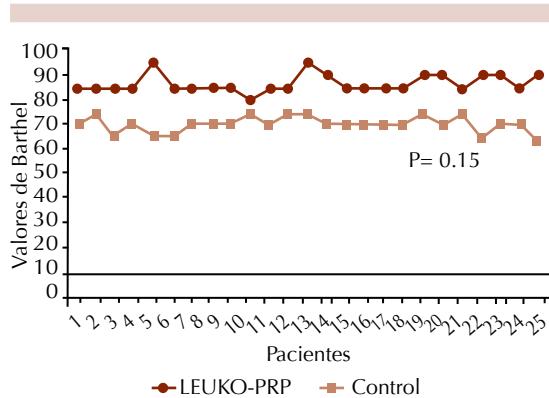


Figura 7. Puntuación en la escala de Barthel en los dos grupos de estudio a los cuatro meses de seguimiento. Los valores del grupo control siguen aproximándose a los del brazo de tratamiento, que siguieron estables en este último.

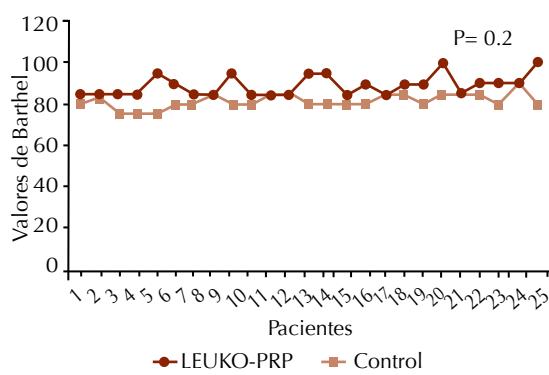


Figura 8. Puntuación en la escala de Barthel en los dos grupos de estudio a los cinco meses de seguimiento. Los valores en la prueba cognitiva del grupo control y los del brazo de tratamiento fueron similares, manteniéndose estables.

plasmático autólogos en el tejido neuronal, haciendo este tratamiento totalmente factible desde el punto de vista médico, para prescribirse en enfermedades neurológicas con perfil neurodegenerativo o hipóxico-anóxico, como enfermedad de Alzheimer, accidentes vasculares cerebrales, herida de médula espinal y parálisis cerebral.^{8,9} La remisión espontánea de

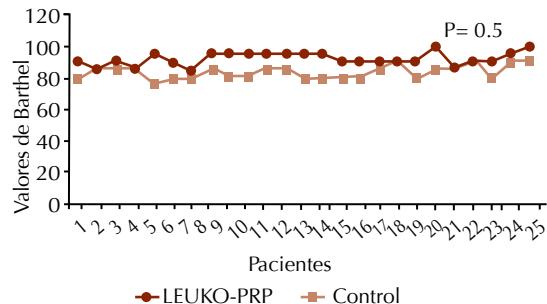


Figura 9. Puntuación en la escala de Barthel en los dos grupos de estudio a seis meses de seguimiento. Los valores de la prueba cognitiva prácticamente fueron coincidentes en ambos grupos, conservando la estabilidad.

los signos y síntomas de la parálisis cerebral es poco frecuente debido a la gran cantidad de masa neuronal y glial degenerada secundaria a los efectos de la hipoxia en la evolución de la enfermedad.¹⁰ Se han observado efectos de neuroestimulación, neorregeneración y neuroprotección en estos pacientes tratados con la hormona de crecimiento sintética (HGF), que causa mejoría funcional, sobre todo en el campo cognoscitivo (por ejemplo, memoria, lengua, capacidad de realizar tareas complejas y adquisición de nuevas habilidades). En estos pacientes, el efecto degenerativo neuronal se ha acompañado de la marcada disminución cualitativa y cuantitativa en factores de crecimiento plasmáticos, como HGF-IGF-1-VEGD, PDGF y TGF- β ,^{11,12} regulada por el eje hipotálamo-hipofisario que produce un efecto neuroprotector, debido a fenómenos neurotropos de quimiotaxis, diferenciación de célula y neuroplasticidad en el tejido neuronal. Además, estas sustancias tienen capacidad de estimular las llamadas zonas de penumbra correspondientes a los tejidos neuronales que se encuentran en estado de hibernación como consecuencia del efecto hipóxico o anóxico lesional. Sin embargo, el tratamiento con la hormona de crecimiento sintética es costoso,

no sólo desde el punto de vista económico, sino también desde el punto de vista del clínico. La posibilidad de utilizar factores de crecimiento autólogos plasmáticos, de manera local o sistémica en una única dosis para conseguir un efecto terapéutico a medio-largo plazo, similar al resultado clínico producido por la hormona de crecimiento, sin efectos secundarios oncogénicos,^{8,11} los hace atractivos para su administración en estos pacientes al reducir considerablemente el costo económico y clínico del tratamiento.

Limitaciones del estudio

En primer lugar, el tamaño pequeño de la muestra que hace que no haya podido obtenerse suficiente potencia estadística al momento de interpretar los datos de las variables recabadas. En segundo lugar, no sabemos en qué momento del estudio las concentraciones de los factores de crecimiento se estabilizaron en el grupo de tratamiento, hecho importante para correlacionar con el efecto clínico que pudieran tener. Esta labor es compleja debido a la labilidad plasmática que tienen. No obstante, sería interesante indagar en el momento en el que alcanzada la concentración plasmática máxima, las concentraciones comienzan a descender hasta alcanzar valores prácticamente basales en el paciente. Por último y no menos importante, debemos definir la funcionalidad concreta de cada factor de crecimiento estudiado para determinar el efecto clínico observado, con el fin de diseñar estudios científicos adecuadamente estructurados con distribución al azar en forma de ensayos clínicos.

CONCLUSIÓN

Proponemos que este tratamiento es útil en pacientes con parálisis cerebral hipóxico-anóxica para aprovechar el poder neuroestimulador y

neurorregenerador de los factores de crecimiento endógenos derivados de leucocitos, para aumentar el efecto de la neurorrehabilitación y acortar los tiempos de recuperación cognitiva, sin encontrar correlación con las concentraciones plasmáticas de factores de crecimiento obtenidos durante el periodo de estudio de la muestra; puede ser una alternativa más económica y fisiológica sin efectos colaterales, que puede coadyuvar con las terapias convencionales de neurorrehabilitación.

Agradecimientos

A todas las personas, pacientes, familiares y compañeros que confiaron en nosotros, a nuestras familias por su paciencia y tiempo robado, y a mi hijo, futuro de esta maravillosa profesión.

REFERENCIAS

1. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Aurologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004;91:415.
2. Lorente A, Ortega R, Martín M, López J, Martínez JM. Quantification of growth factors by using a new system for obtaining platelet-rich plasma. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 2011;614-618.
3. Weibrich G, Kleis W, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type kit versus PCCS PRP system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17:184-190.
4. Weibrich G, Kleis W, Hafner G. Growth factor levels in platelet-rich plasma and correlations with donor age, sex and platelet count. *J Craniomaxillofac Surg* 2002;30:97-102.
5. Harguindeguy S. Apoptosis y antiapoptosis en cáncer. Alzheimer y procesos neurodegenerativos: ¿una dialéctica de contrarios? Nuevo abanico de posibilidades terapéuticas y peligros potenciales. *Oncología* 2004;27:579-589.
6. Brea D, Sobrino T, Ramos P, Castillo J. Reorganización de la vascularización cerebral tras la isquemia. *Rev Neurol* 2009;49:645-654.
7. Legido A, Valencia I, Katsetos C, Papadopoulos M. Neuroprotección en la encefalopatía hipóxico isquémica perinatal. Tratamientos con eficacia clínica demostrada y perspectivas futuras. *Medicina (Buenos Aires)* 2007;67(6/1):543-555.

8. Devesa J, Alonso B, Casteleiro N, Couto P, et al. Effects of recombinant growth hormone (GH) replacement and psychomotor and cognitive stimulation in the neurodevelopment of GH-deficient (GHD) children with cerebral palsy: a pilot study. *Ther Clin Risk Manag* 2011;7:199-206.
9. Taudorf K, Hansen FJ, Mechior JC, Pedersen H. Spontaneous remission of cerebral palsy. *Neuropediatrics* 1986;17:19-22.
10. Alcaraz J, Oliver A, Sánchez JM. Platelet rich plasma in a patient with cerebral palsy. *Am J Case Rep* 2015;16:1-4.
11. Alcaraz J, Oliver A, Sánchez JM. Nuevo método de obtención de plasma rico en factores de crecimiento plaquetario (PRP). Estudio descriptivo en 15 pacientes y comparación con los resultados publicados en la bibliografía. *Rev Hematol Mex* 2015;16:210-216.
12. Alcaraz J, Oliver A, Sánchez JM, Lajara J. Clinical use of platelet-rich plasma: A new dimension in Regenerative Medicine. *Med Sci Rev* 2015;2:111-120.