



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

**EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE LIBERACIÓN DEL
FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS
(PDGF-BB) DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS
OBTENIDO DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL**

Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutico

Autoras:

**ANA PATRICIA PERALTA ANTIALON
ANDREA NISI RODRIGUEZ CHAVEZ**

Asesor:

DR. PEDRO ALBERTO ARO GUARDIA

Lima, Perú

2023

JURADO EVALUADOR

Presidente: Dr. José Aguilar Olano

Secretaria: MSc. León Villegas Vilchez

Vocal: PhD. Mónica Pajuelo Travezaño

DEDICATORIA

A nuestros padres y hermanos por alentarnos siempre a seguir adelante y apoyarnos a lo largo de nuestro tiempo en la universidad.

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, a Dios por permitirnos tener un logro más. A nuestro asesor, el Dr. Pedro Aro, por cada aporte, sus enseñanzas y disponibilidad entera. Al equipo de Banco de Sangre del Hospital Cayetano Heredia por estar dispuestos a ayudar y aportar con todo lo que estuvo a su alcance. Finalmente, a nuestra familia por cada consejo, sus palabras de aliento y su soporte durante el proceso.

¹⁸
Evaluación de la cinética de liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical

¹⁹
Tesis para optar el Título profesional de Químico Farmacéutico

Autoras:

Ana Patricia Peralta Antialon
Andrea Nisi Rodriguez Chavez

Asesor:

Dr. Pedro Alberto Aro Guardia

Lima, Perú

2023

Resumen de coincidencias X

10 %

| | | |
|---|--|--------|
| 1 | www.researchgate.net Fuente de Internet | 1 % > |
| 2 | patents.google.com Fuente de Internet | 1 % > |
| 3 | worldwidescience.org Fuente de Internet | 1 % > |
| 4 | vsip.info Fuente de Internet | 1 % > |
| 5 | repositorioacademico... Fuente de Internet | <1 % > |
| 6 | preprints.scielo.org Fuente de Internet | <1 % > |
| 7 | uwspace.uwaterloo.ca Fuente de Internet | <1 % > |
| 8 | revistahematologia.co... Fuente de Internet | <1 % > |
| 9 | zagan.unizar.es Fuente de Internet | <1 % > |

Evaluación de la cinética de liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical

INFORME DE ORIGINALIDAD

| | | | |
|---------------------|---------------------|---------------|-------------------------|
| 10% | 10% | 4% | 1% |
| INDICE DE SIMILITUD | FUENTES DE INTERNET | PUBLICACIONES | TRABAJOS DEL ESTUDIANTE |

FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|----------|--|---------------|
| 1 | www.researchgate.net Fuente de Internet | 1% |
| 2 | patents.google.com Fuente de Internet | 1% |
| 3 | worldwidescience.org Fuente de Internet | 1% |
| 4 | vsip.info Fuente de Internet | 1% |
| 5 | repositorioacademico.upc.edu.pe Fuente de Internet | <1% |
| 6 | preprints.scielo.org Fuente de Internet | <1% |
| 7 | uwspace.uwaterloo.ca Fuente de Internet | <1% |
| 8 | revistahematologia.com.ar Fuente de Internet | <1% |

RESUMEN

Introducción: El uso de sangre de cordón umbilical (CU) tiene muchas ventajas en la medicina regenerativa. El plasma rico en plaquetas (PRP) es una fuente de factores de crecimiento en donde su dinámica en el tiempo ha sido evaluada en sangre periférica, sin embargo, su evaluación en sangre de CU no ha sido estudiada. **Objetivo:** evaluar la cinética de la liberación del PDGF-BB del PRP obtenido de sangre de CU. **Materiales y métodos:** Estudio experimental *in vitro*. Se recolectaron muestras de sangre de CU de 6 partos vaginales a término de gestantes que tenían entre 18 y 36 años sanas que acudieron al Hospital Nacional Cayetano Heredia en Lima-Perú. Las muestras obtenidas se centrifugaron a 900 g durante 10 minutos para preparar el PRP. Se dividió en 4 alícuotas: (i) sin activador y (ii) 1 hora, (iii) 24 horas y (iv) 48 horas siendo las tres últimas activadas con gluconato de calcio (GLu.Ca) al 10%. La cuantificación del PDGF-BB fue evaluada mediante el método de ELISA. **Resultados:** Las medias (desviaciones estándar) de la concentración de PDGF-BB medido a la hora, 24 horas y 48 horas fueron 6127.9 ± 101.6 , 6197.5 ± 34 y 6176.8 ± 63.3 pg/ml respectivamente. La cinética del PDGF-BB liberado por el PRP mostró valores constantes durante las 48 horas. **Conclusiones:** La liberación de PDGF-BB del PRP, obtenido de sangre de CU, se indujo rápidamente y se mantuvo constante y de forma mantenida durante las primeras 48 horas luego de su activación. **Palabras claves:** *Plasma rico en plaquetas, Factor de crecimiento derivado de plaquetas, cinética, sangre de cordón umbilical.*

SUMMARY

Introduction: The use of umbilical cord (UC) blood has many advantages in regenerative medicine. Platelet-rich plasma (PRP) is a source of growth factors where its dynamics over time has been evaluated in peripheral blood, however, its evaluation in UC blood has not been studied. **Objective:** to evaluate the kinetics of PDGF-BB release from PRP obtained from UC blood. **Materials and methods:** in vitro experimental study. UC blood samples were collected from 6 term deliveries of healthy pregnant women between 18 and 36 years of age who attended the Cayetano Heredia National Hospital in Lima-Peru. Lima-Peru. The samples obtained were centrifuged at 900 g for 10 minutes to prepare the PRP. It was divided into 4 aliquots: (i) without activator and (ii) 1 hour, (iii) 24 hours and (iv) 48 hours, the last three being activated with 10% calcium gluconate (GLu.Ca). The quantification of PDGF-BB was evaluated by ELISA. **Results:** The means (standard deviations) of PDGF-BB concentration measured at 1 hour, 24 hours and 48 hours were 6127.9 ± 101.6 , 6197.5 ± 34 and 6176.8 ± 63.3 pg/ml respectively. The kinetics of PDGF-BB released by PRP showed constant values during the 48 hours. **Conclusions:** PDGF-BB release from PRP obtained from UC blood was rapidly induced and remained constant and sustained during the first 48 hours after activation.

Key words: *Platelet-rich plasma, platelet-derived growth factor, kinetics, umbilical cord blood.*

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|---|-----------|
| I. Introducción | 1 |
| II. Hipótesis..... | 2 |
| III. Objetivos | 2 |
| 1. 3.1. Objetivo general | 2 |
| 2. 3.2. Objetivos específicos | 3 |
| IV. Materiales y métodos..... | 3 |
| 3. 4.1. Diseño y escenario del estudio | 3 |
| 4. 4.2. Participantes..... | 3 |
| 5. 4.3. Obtención de la sangre de cordón umbilical | 3 |
| 6. 4.4. Preparación y activación del PRP | 4 |
| 7. 4.5. Cuantificación del PDGF-BB | 4 |
| 8. 4.6. Análisis estadístico | 5 |
| 9. 4.7. Aspectos éticos | 5 |
| V. Resultados | 5 |
| VI. Discusión | 10 |
| VII. Limitaciones y fortalezas | 12 |
| VIII. Conclusiones..... | 13 |
| IX. Referencias bibliográficas..... | 14 |

INDICE DE ANEXOS

| | |
|-----------------------|-----------|
| ANEXO 1 | 19 |
| ANEXO 2 | 20 |
| ANEXO 3 | 23 |
| ANEXO 4 | 24 |
| ANEXO 5 | 25 |
| ANEXO 6 | 27 |
| ANEXO 7 | 28 |
| ANEXO 8 | 29 |
| ANEXO 9 | 32 |
| ANEXO 10 | 33 |
| ANEXO 11 | 34 |

I. INTRODUCCIÓN

Las plaquetas son componentes sanguíneos que juegan un rol importante en la regeneración celular, lo que se lleva a cabo a través de la liberación de factores de crecimiento (FC), citoquinas y respuesta inflamatoria^{1,2}. Los principales FC liberados por los gránulos alfa de las plaquetas son el Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el Factor de crecimiento transformante- β (TGF- β), responsables de la quimiotaxis celular y angiogénesis y producción de matriz extracelular^{3,4}. El Factor de crecimiento epidérmico (EFG, proliferación de fibroblastos) y el Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, angiogénesis), son otros factores liberados por las plaquetas que en su conjunto van a cumplir una función importante en la hemostasia, proliferación y remodelación de las diferentes fases de la cicatrización de heridas⁵.

La terapia con plasma rico en plaquetas (PRP), debido a su potencial de proporcionar una gran cantidad de FC, ha ganado popularidad en la medicina regenerativa⁶. El PRP es un tipo de componente sanguíneo de sangre autóloga que contiene una alta cantidad de plaquetas y habitualmente es obtenido de sangre periférica⁷; además, es utilizado en diferentes campos clínicos como traumatología, oftalmología, odontología, cirugía estética y curación de heridas, siendo usado como terapias para mejorar la regeneración de tejidos⁸. A pesar de esto, su uso tiene algunos inconvenientes por ejemplo por la forma de obtención, ya que, puede provocar dolor o lesión en nervios o vasos sanguíneos en la zona de punción^{9,10}; además, en pacientes con enfermedades cuyo sistema inmune está comprometido existe una expresión anormal de FC y podría no cumplir con su función de regeneración¹¹.

El PRP también se puede obtener fácilmente de cordón umbilical (CU), la comparación entre la obtención de sangre periférica y de CU van a diferir tanto en el tipo como en la cantidad de FC que contienen¹². Estudios mencionan que el PRP obtenido de sangre de CU, tiene ventajas terapéuticas sobre el obtenido de sangre periférica ya que contiene mayor cantidad de FC. Buzzi et al¹³, comparó el contenido de FC de sangre de CU y periférica encontrando niveles más altos de EFG, TGF- β , PDGF y VEGF en muestras de CU, esto es demostrado de la misma forma por Murphy et al³ y Parazzi et al¹⁴, el primero mostró valores más elevados de PDGF-AA y BB y VEGF ($p < 0.01$) en el PRP de sangre

de CU, mientras que el segundo reportó concentraciones elevadas de factores angiogénicos (VEGF, hormona de crecimiento, eritropoyetina y resistina) en gel plaquetario preparado de sangre de CU a diferencia de sangre periférica.

La concentración de los FC liberados del PRP varían con el tiempo, siendo el estudio de la cinética la que determina la rapidez en llegar a su máxima concentración¹⁵. Roh et al², utilizando PRP de sangre periférica observó que los niveles de FC como el PDGF-BB y VEGF se mantuvieron constantes durante 7 días. La mayoría de FC tienen una vida corta (minutos a horas) por ejemplo el PDGF es 2.4 horas¹⁶. Mariani et al¹⁷, mostró variaciones dependientes del tiempo de moléculas pro y antiinflamatorias indicando que el estudio de la cinética podría ayudar en los tratamientos con el PRP; de la misma forma, Gay et al¹⁸, mencionan que aplicaciones repetidas consecutivas de PRP mejora los resultados clínicos en tendinopatía rotuliana con la finalidad de aprovechar los FC liberados y no se agoten en el tiempo. Estos hallazgos muestran lo crucial que es entender la cinética de la liberación de FC pudiendo ser útiles para futuros tratamientos (dosis y número de aplicaciones) con PRP en medicina regenerativa.

La concentración de FC liberados varía con el tiempo y está influenciada por los protocolos de activación y esto ha sido descrito en estudios que evalúan el PRP obtenido de sangre periférica, pero se conoce poco sobre la cinética de FC obtenidos de sangre de CU, por lo que el objetivo de este estudio es evaluar la cinética de la liberación del PDGF-BB del PRP obtenido de sangre de CU.

II. HIPÓTESIS

La cinética en la concentración de PDGF-BB del PRP obtenido de sangre de CU no varía en 1, 24 y 48 horas de incubación previo a la ultracongelación.

III. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Evaluar la cinética de la liberación de PDGF-BB del PRP obtenido de sangre de CU.

3.2. Objetivos específicos

- Cuantificar el número de plaquetas antes y después de la centrifugación.
- Evaluar la liberación del PDGF-BB del PRP obtenido de sangre de CU en 1 hora, 24 y 48 horas de incubación.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Diseño y escenario del estudio

Se realizó un estudio experimental *in vitro* para evaluar la cinética de la liberación del PDGF-BB en el PRP obtenido de sangre de CU de partos a término atendidos en el Servicio de Obstetricia y Ginecología del Hospital Nacional Cayetano Heredia durante el mes de mayo del 2023.

4.2. Participantes

Previo a la ejecución del estudio, se realizó el cálculo muestral para obtener resultados confiables y representativos, de acuerdo con los cálculos se obtuvo un tamaño mínimo de 4 muestras (Anexo 1).

Las participantes voluntarias fueron 6 mujeres gestantes sanas, en un rango de edad entre 18 a 36 años, quienes dieron a luz mediante un parto vaginal a término y autorizaron la recolección de las muestras de sangre de CU por medio de un consentimiento informado. La recolección fue llevada a cabo en el mes de mayo del 2023. Las gestantes con antecedente de trastornos sanguíneos, trastornos metabólicos (diabetes mellitus, obesidad, etc.), hemoglobina <11 g/dL, plaquetas $< 150 \times 10^3$ uL, enfermedades autoinmunes, medicación concomitante (antiagregantes plaquetarios, corticosteroides o antiinflamatorios no esteroideos) en los últimos 15 días y proceso inflamatorio o infeccioso por historia clínica fueron excluidas del estudio.

4.3. Obtención de la sangre de cordón umbilical

Se realizó una recolección *in útero*, en donde una vez que el recién nacido es evaluado; se pinza y se corta el cordón realizando la recolección. Se recolectaron 7 cc de sangre de

CU en tubos con anticoagulante citrato de sodio 3.2% tras punción con una jeringa en la vena umbilical, este procedimiento duró menos de 5 minutos. Posteriormente las muestras fueron llevadas al Servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre para su procesamiento, en donde se procedió al conteo de plaquetas basales antes de la centrifugación en el analizador hematológico CELL-DYN Emerald de Abbott.

4.4. Preparación y activación del PRP

Las muestras obtenidas se centrifugaron a 900 g por 10 minutos.

Luego de la centrifugación, se separó la tercera parte inferior del plasma obtenido que corresponde al PRP y se llevó a un tubo de vidrio estéril para proceder a realizar el conteo de plaquetas post-centrifugación. Los procedimientos fueron llevados a cabo en condiciones de esterilidad absoluta en una Cabina de Flujo Laminar.

Posteriormente se realizó la activación del PRP con gluconato de calcio (Glu.Ca) al 10%, para esto primero se dividió en 4 alícuotas y se rotuló de la siguiente forma (i) sin activador, (ii) 1 hora, (iii) 24 horas y (iv) 48 horas posteriores a su activación. Se añadió en una proporción de 1/10, 50 uL de Glu.Ca 10% y 450 uL de PRP en las alícuotas (ii), (iii) y (iv). Cada grupo excepto el (i) fue incubado a 37°C a 5% CO₂ por 1 hora, 24 horas y 48 horas según corresponda. Cumplido el tiempo fueron almacenados en una congeladora a -40°C para realizar posteriormente la medida del PDGF-BB.

4.5. Cuantificación del PDGF-BB

La determinación del PDGF-BB se realizó con el uso del Human PDGF-BB ELISA Kit (Número de producto: RAB0397; Número de Lote:1128JO180) de la marca Sigma Aldrich, el cual utiliza la metodología de ELISA tipo Sandwich.

Se realizó la preparación del estándar y las diluciones seriadas según especificación del inserto para la obtención de la curva estándar. Los valores fueron leídos en un lector de ELISA BioTek 50 TS (Merck) a una absorbancia de 450 nm (eje x) vs concentración de PDGF-BB (eje y). (Figura 1)

4.6. Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo y se evaluó la distribución de las variables utilizando métodos gráficos y numéricos. Las variables numéricas se presentaron como media \pm desviación estándar (SD). Para el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico STATA versión 17 para Windows (StataCorp LP, College Station, Texas, Estados Unidos). Los gráficos se realizaron en el programa GraphPad Prism Versión 8.

4.7. Aspectos éticos

Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Constancia E-043-09-23) y el Comité de Ética del Hospital Nacional Cayetano Heredia (Constancia N°160-2022). Las gestantes firmaron un consentimiento informado antes de la realización de los procedimientos de este estudio.

V. RESULTADOS

Se recogieron un total de 6 muestras de sangre de CU de gestantes a término las cuales tenían una edad media \pm SD de 22.1 ± 3.8 años. La SD de plaquetas post-centrifugación fue mayor que antes de centrifugado ($617.2 \pm 88.9 \times 10^3$ uL vs $221.2 \pm 42.3 \times 10^3$ uL). La obtención de la curva estándar (Figura 1) se realizó a través de diluciones seriadas, según el inserto del fabricante. Estas diluciones fueron realizadas por duplicado, obteniéndose los valores promedios para cada dilución, previa sustracción del blanco como control. La fórmula obtenida fue $y = 161.46x - 21.938$, mediante la cual se calcularon los valores de PDGF-BB, con $R^2 = 0.9808$. El coeficiente de variación (CV) intraensayo fue inferior al 10% e inferior a 12% interensayo. El límite de detección fue de 1 pg/ml. Con un rango de la curva estándar de 0.549-400 pg/ml.

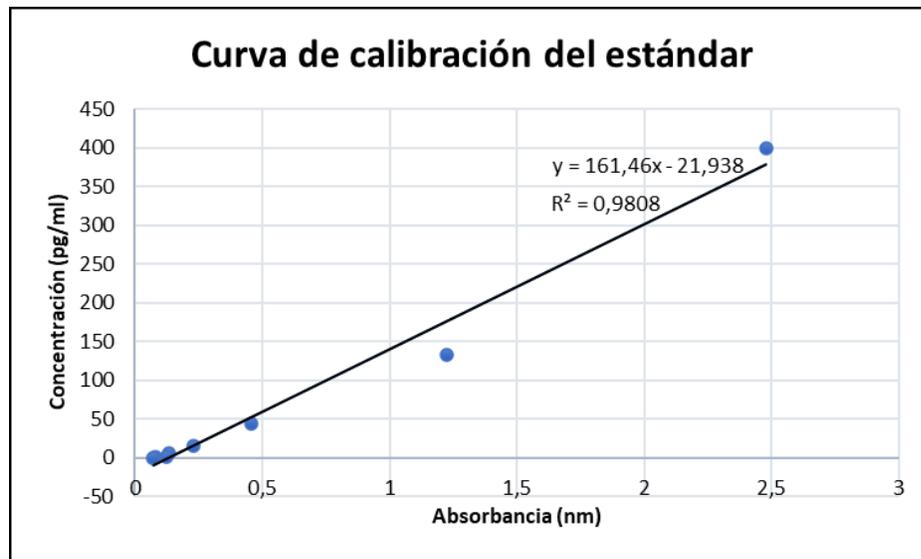


Fig. 1 Curva de calibración según Human PDGF-BB ELISA Kit

La SD de la liberación de PDGF-BB fue constante y sostenida durante los periodos de tiempo medido a 1 hora, 24 horas y 48 horas (6127.9 ± 101.6 pg/ml, 6197.5 ± 34 pg/ml y 6176.8 ± 63.3 pg/ml respectivamente), además se añadió la medida sin añadir Glu.Ca 10% la cual se utilizó como un basal con respecto a las otras mediciones como se observa en la tabla 1.

Tabla 1. Características demográficas, hematológicas y cuantificación del PDGF obtenido en diferentes tiempos de sangre de cordón umbilical

| Características | Media \pm SD |
|---|----------------------------------|
| Edad (años) | 22.1 \pm 3.8 |
| Plaquetas pre-centrifugación (10 ³ uL) | 221.2 \pm 42.3 |
| Plaquetas post-centrifugación (10 ³ uL) | 617.2 \pm 88.9 |
| Concentración de PDGF-BB (pg/ml) | |
| Sin activador | 6236.8 \pm 40.5 |
| 1 hora | 6127.9 \pm 101.6 |
| 24 horas | 6197.5 \pm 34 |
| 48 horas | 6176.8 \pm 63.3 |

PDGF-BB: factor de crecimiento derivado plaquetas tipo BB

La concentración de PDGF-BB de las muestras medidas en determinados momentos estuvo por encima de los 6000 pg/ml (figura 2). Se observó la dinámica de la liberación del PDGF-BB la cual se indujo rápidamente, pero se mantuvo constante y mantenida durante la primera hora, 24 horas y 48 horas luego de su activación. En la figura 3 (A) se observa la variabilidad de la liberación del PDGF-BB por cada muestra mientras que en (B) se observa la variabilidad usando el promedio de la liberación de PDGF-BB luego de 1 hora, 24 horas y 48 horas luego de su activación.

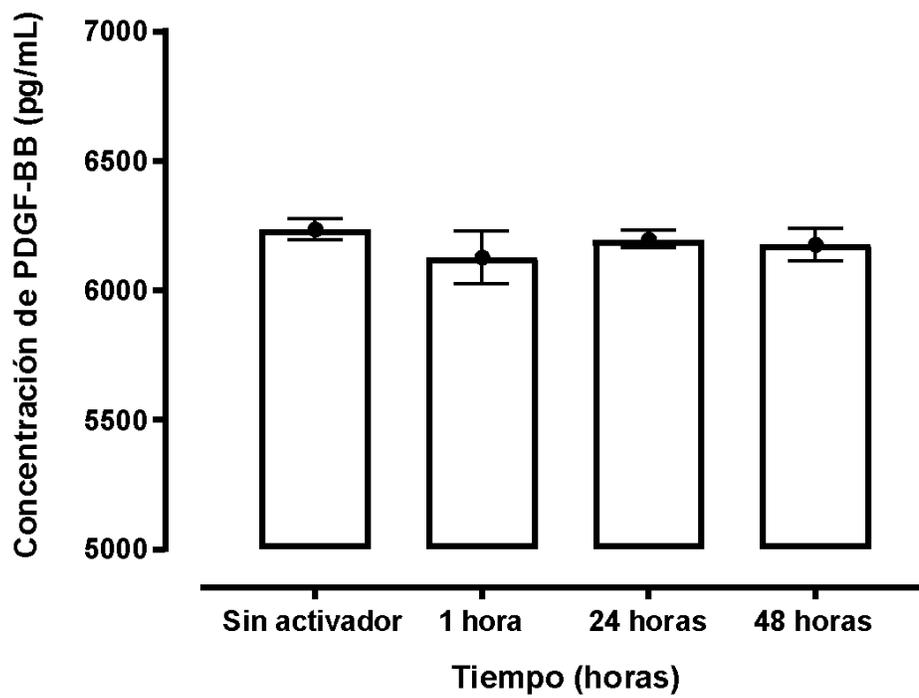


Figura 2. Concentración de PDGF-BB obtenido del PRP de sangre obtenida de CU según la medida en diferentes tiempos (1 hora, 24 horas y 48 horas).

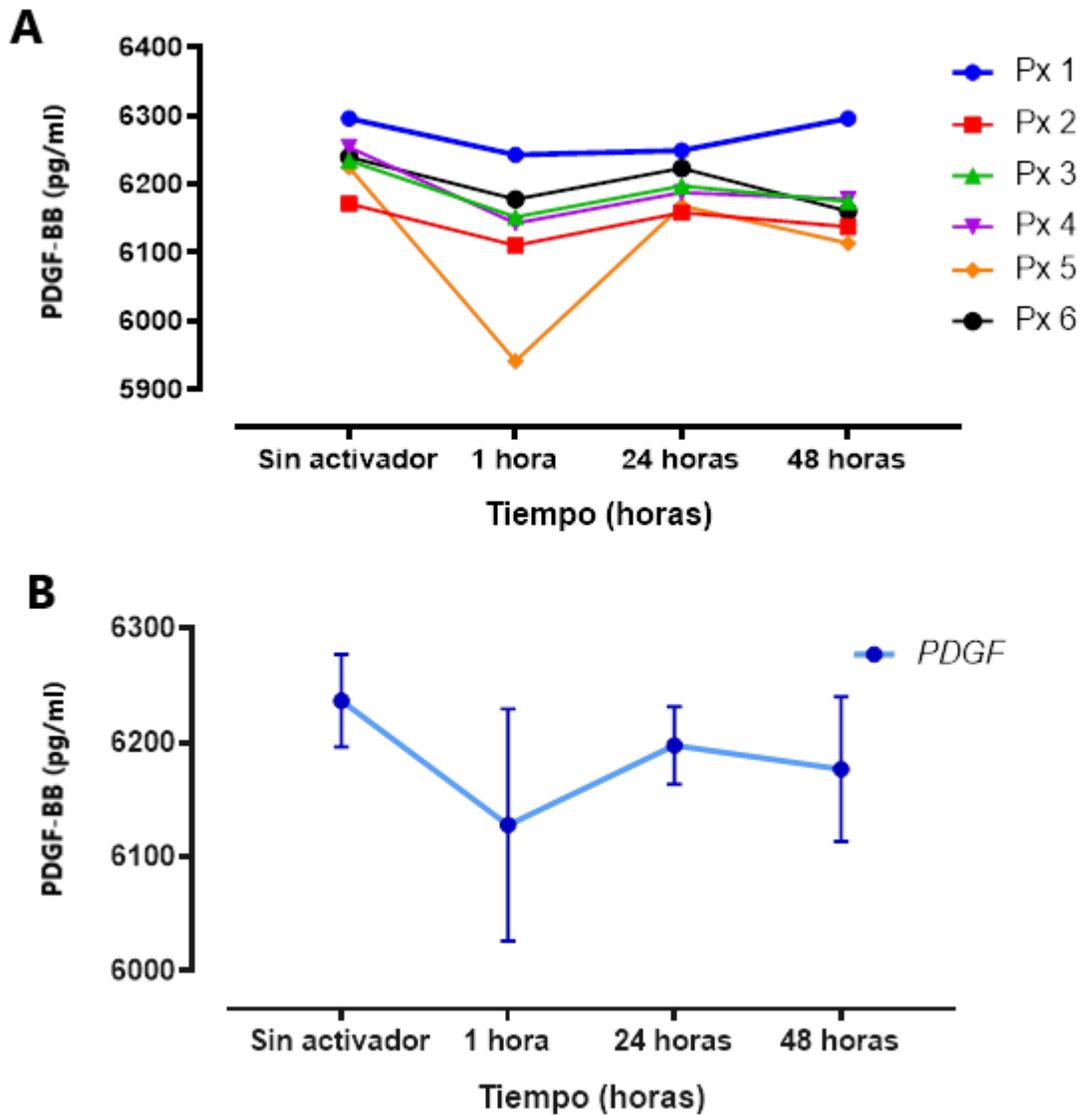


Figura 3. Cinética de la liberación de PDGF-BB del PRP de sangre obtenida de CU.

(A) Se observa la cinética del PDGF-BB por cada muestra obtenida en determinado tiempo. (B) Se observa la cinética del PDGF-BB con el promedio de cada muestra obtenida en determinado tiempo.

VI. DISCUSIÓN

El presente estudio muestra la primera estimación de la cinética de la liberación del PDGF-BB en el PRP obtenido de sangre de CU, y como hallazgo principal se observó que el PDGF-BB tuvo una concentración mantenida y constante durante las primeras 48 horas luego de su activación, cabe mencionar que la misma tendencia se observó en el resultado sin activar, además se observó concentraciones elevadas de PDGF-BB a diferencia de lo mostrado en la literatura con respecto a los rangos normales obtenidos de sangre periférica^{19,20}.

El PRP se utiliza como fuente de FC los cuales juegan un papel muy importante en la regeneración de tejidos²¹. Diferentes autores mencionan que la mediana de las concentraciones de PDGF-BB en sangre de sujetos sanos es aproximadamente 4 ng/ml^{22,23}. Existen diferencias en las concentraciones de los FC según la forma y método de obtención del PRP, lo cual da como resultados concentraciones variables de PDGF-BB. Munawirah et al²⁴, realizó un estudio para cuantificar PDGF-BB en el PRP de sangre periférica a través de tubos de EDTA y utilizando diferentes métodos de centrifugación obteniendo medias entre 8330,86 pg/ml y 5206,75 pg/ml; de la misma forma, Amable et al⁸, mediante tubos con citrato, obtuvo una concentración de PDGF-BB de 20.1±10 ng/ml en el PRP activado con cloruro de calcio (ClCa₂), mientras que Lee et al¹⁹, observó una media en la concentración de PDGF-BB obtenido del PRP activado de sangre periférica de 37.15±1.62 ng/ml. Estas variaciones también pueden ser observadas en las concentraciones de PDGF-BB obtenidas de sangre de CU. Yan et al²⁵, caracterizó el PDGF-BB obtenido de las plaquetas de sangre de CU obteniendo una media de 7.62±1,29 ng/ml, mientras que en el estudio de Murphy et al³ se observó concentraciones elevadas de más de 100 000 pg/ml. Los estudios de FC medidos en PRP de sangre de CU son limitados; Baba et al, que encuentra valores de 105-422 pg/ml obtenido en tubos con aditivo, mientras que Buzzi et al¹³ mostró valores de PDGF de 3233.2 (3461.7±4274.3) pg/ml siendo su recolección a través de bolsas usadas para donación de sangre, este último indica hallazgos similares a nuestro estudio. Las condiciones óptimas para la liberación de FC aún permanecen sin resolver²⁶. La variación mostrada en nuestros resultados comparándolo con los diferentes estudios podría estar basado en muchos

factores como: la edad y el sexo del paciente, el método de obtención, el recuento de plaquetas, el método de preparación y los insumos usados para su activación y medición²⁷.

La mayoría de estudios de la cinética de FC se han realizado en el PRP obtenido de sangre periférica. Nuestros resultados muestran valores constantes y sostenidos de PDGF-BB durante las primeras 48 horas con valores por encima de 5000 pg/ml, mostrando valores superiores a lo encontrado por Roh et al², el cual demuestra valores constantes de PDGF-BB en el PRP de sangre periférica durante los primeros 7 días en donde la activación con calcio (similar a nuestro estudio) indujo valores más de 1000 pg/ml, siendo similar también a lo mostrado por Mariani et al²⁸, en donde observó concentraciones constantes por debajo de 5000 pg/ml de PDGF-AA/BB durante 168 horas. En contraste, Roffi et al²⁹, muestra valores elevados liberados de PDGF-AA/BB a la hora de 27714.68 pg/ml (18591.5-35850.24) y a los 7 días de 31670.63 pg/ml (18617.58-80462.27), esto podría ser debido a la cantidad de sangre que recolectó para la preparación del PRP (150 ml). Un hallazgo relevante podría ser el hecho de la liberación de FC en el PRP sin estimulación, el cual es casi similar a lo obtenido agregando Glu.Ca al 10% el cual pudo deberse por la manipulación manual, la temperatura y la presión a la que se somete la plaqueta dentro de la aguja³⁰. Los periodos de incubación realizados en este estudio se realizaron en función de los conocimientos actuales sobre el inicio de los procesos angiogénicos y osteogénicos que se producen en el transcurso de los días^{2,31}, por lo que nuestros datos, al mostrar valores sostenibles del FC, podrían ser fundamental para decidir los momentos de aplicación de PRP.

El PDGF es un FC el cual se libera de las plaquetas durante el proceso de coagulación sanguínea interviniendo en los procesos normales de cicatrización y reparación de tejidos³² presenta 4 isoformas: A, B, C y D³³. El PDGF- BB es la isoforma más típica y tiene como función la reparación y proliferación celular, estimulando la angiogénesis y la síntesis de colágeno por lo cual juega un rol importante en la cicatrización de los tejidos³⁴. La Food and Drug Administration (FDA) establece que el PDGF-BB es seguro y sus formulaciones han sido aprobadas para curación de úlceras en piel y en regeneración ósea³⁵. Las inyecciones de

PRP que incluyen diferentes FC (incluido el PDGF-BB) han mostrado beneficios en lesiones osteotendinosas, pero su limitación es que aún no hay control de la cantidad de FC que se administra³³. Debido a lo mencionado anteriormente, este estudio se utilizó específicamente para la valoración de la cinética del PDGF-BB y mostrar la dinámica de su comportamiento a través del tiempo.

VII. LIMITACIONES Y FORTALEZAS

Nuestro estudio tiene limitaciones. En primer lugar, nuestro diseño experimental solo midió las concentraciones de PDGF-BB en 3 momentos de tiempo, existiendo la posibilidad de que sus valores aumenten en los próximos días como es mostrado en algunos estudios². En segundo lugar, este estudio sólo midió el FC según puntos de tiempo, pero no tuvo en cuenta su agotamiento o descomposición la cual puede deberse a desnaturalización, oxidación o proteólisis, lo cual no se midió en este estudio³⁶. En tercer lugar, la diferencia observada en nuestros valores de PDGF-BB obtenidos a diferencia de otros reportes puede haber estado influenciado por diferentes factores de activación o el método de centrifugación usado en este estudio influyendo en la cinética. En cuarto lugar, hasta donde sabemos no se ha informado sobre una valoración directa de la cinética del PDGF-BB del PRP obtenido en sangre de CU, por lo que nuestros resultados fueron comparados con estudios basados en PRP obtenido de sangre periférica. En quinto lugar, la obtención (tubos con aditivo) y el transporte de las muestras hasta su proceso podría haber influido en el concentrado de plaquetas en términos de estructura, exposición a enzimas de degradación y liberación de FC³⁷. Finalmente debido a la cantidad de muestras obtenidas solo se obtuvo datos descriptivos y no se realizó un análisis estadístico más representativo. Sin embargo, la

fortaleza de este estudio es que es el primer estudio que valora la cinética del PDGF-BB utilizando el PRP obtenido de CU y además que estos resultados podrían dar luces para futuras investigaciones en el campo de la medicina regenerativa.

VIII. CONCLUSIONES

En conclusión, nuestro estudio muestra que la liberación PDGF-BB del PRP obtenido de sangre de CU se indujo rápidamente y se mantuvo constante y de forma sostenida durante las primeras 48 horas luego de su activación no encontrándose significancia estadística en los diferentes momentos, además se observó concentraciones por encima del rango normal reportado en la literatura. La sangre de CU podría ser una alternativa para la obtención de PRP pudiendo ser de utilidad para su uso en medicina regenerativa.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hashemi S, Mahmoodi M, Rafati AR, Manafi F, Mehrabani D. The Role of Human Adult Peripheral and Umbilical Cord Blood Platelet-Rich Plasma on Proliferation and Migration of Human Skin Fibroblasts. *World J Plast Surg.* 2017; 6(2):198-205.
2. Roh Y, Kim W, Park K, Oh J. Cytokine-release kinetics of platelet-rich plasma according to various activation protocols. *Bone Joint Res.* 2016;5 (2):37-45. doi: 10.1302/2046-3758.52.2000540
3. Murphy M, Blashki D, Buchanan R, Yazdi I, Ferrari M, Simmons P, Tasciotti E. Adult and umbilical cord blood-derived platelet-rich plasma for mesenchymal stem cell proliferation, chemotaxis, and cryo-preservation. *Biomaterials.* 2012; 33(21): 5308–5316. doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.04.007
4. Casati L, Celotti F, Negri-Cesi P, Sacchi MC, Castano P, Colciago A. Platelet derived growth factor (PDGF) contained in Platelet Rich Plasma (PRP) stimulates migration of osteoblasts by reorganizing actin cytoskeleton. *Cell AdhMigr.* 2014; 8(6): 595-602. doi: 10.4161/19336918.2014.972785
5. Wu PI-K, Díaz R, Borg-Stein J. Platelet-Rich Plasma. *Physical Medicine and Rehabilitation Clinics of North America.* 2016; 27(4): 825-53. doi: 10.1016/j.pmr.2016.06.002
6. Charoussat C, Zaoui A, Bellaiche L, Bouyer B. Are multiple platelet-rich plasma injections useful for treatment of chronic patellar tendinopathy in athletes? A prospective study. *Am J Sports Med* 2014; 42(1): 906-911. doi: 10.1177/0363546513519964
7. Dhurat R, Sukesh M. Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *J Cutan Aesthet Surg.* 2014; 7(4): 189 -197. doi: 10.4103/0974-2077.150734
8. Amable P, Carias R, Teixeira M, da Cruz Pacheco I, Corrêa do Amaral R, Granjeiro J, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 2013; 4(67): 1-13. doi: 10.1186/scrt218

9. Ramaswamy SH, Reddy R, Babu NC, Ashok GN. Stem-cell therapy and platelet-rich plasma in regenerative medicines: A review on pros and cons of the technologies. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2018; 22(3): 367-374. doi: 10.4103/jomfp.JOMFP_93_18
10. Lyras DN, Kazakos K, Agrogiannis G, Verettas D, Kokka A, Kiziridis G, et al. Experimental study of tendon healing early phase: Is IGF-1 expression influenced by platelet rich plasma gel? *Orthop Traumatol Surg Res.* 2010; 96(4): 381–7. DOI: 10.1016/j.otsr.2010.03.010
11. Shi G, Shi G, Zhou J, Zhang W, Gao C, Jiang Y, Zi Z, Zhao H, Yang Y, Yu J. Involvement of growth factors in diabetes mellitus and its complications: A general review. *Biomed Pharmacother.* 2018; 101: 510-527. doi: 10.1016/j.biopha.2018.02.105
12. Romanov Y, Vtorushina V, Dugina T, Romanov A, Petrova N. Human Umbilical Cord Blood Serum/Plasma: Cytokine Profile and Prospective Application in Regenerative Medicine. *Cell Technologies in Biology and Medicine* 2019; 168(1):173-177. doi: 10.1007/s10517-019-04670-2
13. Buzzi M, Versura P, Grigolo B, Cavallo C, Terzi A, Pellegrini M, et al. Comparison of growth factor and interleukin content of adult peripheral blood and cord blood serum eye drops for cornea and ocular surface diseases. *Transfus Apher Sci.* 2018;57(4):549-555. doi: 10.1016/j.transci.2018.06.001
14. Parazzi V, Lavazza C, Boldrin V, Montelatici E, Pallotti F, Marconi M, et al. Extensive Characterization of Platelet Gel Releasate From Cord Blood in Regenerative Medicine. *Cell Transplant.* 2015; 24(12): 2573–84. doi: 10.3727/096368915X687471.
15. Mazzocca A, McCarthy M, Chowanec D. Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg.* 2012; 94-A: 308-316. doi: 10.2106/JBJS.K.00430
16. Gay CG, Winkles JA. The half-lives of platelet-derived growth factor A- and B-chain mRNAs are similar in endothelial cells and unaffected by heparin-binding growth factor-1 or cycloheximide. *J Cell Physiol* 1991;147:121-127

17. Mariani E, Roffi A, Cattini L, et al. Release kinetic of pro- and anti-inflammatory biomolecules from platelet-rich plasma and functional study on osteoarthritis synovial fibroblasts. *Cytotherapy*. 2020 Jul;22(7):344-353.
18. Charousset C, Zaoui A, Bellaiche L, Bouyer B. Are multiple platelet-rich plasma injections useful for treatment of chronic patellar tendinopathy in athletes? a prospective study. *Am J Sports Med* 2014;42:906-911.
19. Lee JW, Kwon OH, Kim TK, Cho YK, Choi KY, Chung HY, Cho BC, Yang JD, Shin JH. Platelet-rich plasma: quantitative assessment of growth factor levels and comparative analysis of activated and inactivated groups. *Arch Plast Surg*. 2013; 40(5): 530-5. doi: 10.5999/aps.2013.40.5.530
20. Van den Dolder J, Mooren R, Vloon AP, Stoeltinga PJ, Jansen JA. Platelet-rich plasma: quantification of growth factor levels and the effect on growth and differentiation of rat bone marrow cells. *Tissue Eng*. 2006; 12(11): 3067-73. doi: 10.1089/ten.2006.12.3067
21. Eppley B, Woodell J, Higgins J. Platelet Quantification and Growth Factor Analysis from Platelet-Rich Plasma: Implications for Wound Healing. *Plastic and Reconstructive Surgery* 2004; 114(6):1502-1508. doi: 10.1097/01.prs.0000138251.07040.51
22. Josh F, Tobita M, Tanaka R, Orbay H, Ogata K, Suzuki K, Hyakusoku H, Mizuno H. Concentration of PDGF-AB, BB and TGF- β 1 as valuable human serum parameters in adipose-derived stem cell proliferation. *J Nippon Med Sch*. 2013; 80(2): 140–147. doi: 10.1272/jnms.80.140
23. Stojek M, Adrych K, Rojek L, Smoczynski M, Sledzinski T, Szrok S, Swierczynski J. Decreased serum platelet derived growth factor BB levels in acute and increased in chronic pancreatitis. *World J Gastroenterol*. 2014; 20(36): 13127-32. doi: 10.3748/wjg.v20.i36.13127
24. Munawirah A, Esa T, Bahrun U. Analysis of Platelet Counts and Platelet-Derived Growth Factor-Bb Levels in Platelet Rich Plasma Produced with EDTA as Anticoagulant in Three Different Centrifugation Methods. *Indian Journal of Public*

- Health Research & Development. 2020; 11(6): 1204-1209. doi: 10.37506/ijphrd.v11i6.9964
25. Yan L, Zhou L, Yan B. et al. Growth factors-based beneficial effects of platelet lysate on umbilical cord-derived stem cells and their synergistic use in osteoarthritis treatment. *Cell Death Dis.* 2020; 11(10): 857. doi: 10.1038/s41419-020-03045-0
 26. Steller D, Herbst N, Pries R, Juhl D, Hakim SG. Impact of incubation method on the release of growth factors in non-Ca²⁺-activated PRP, Ca²⁺-activated PRP, PRF and A-PRF. *J Craniomaxillofac Surg.* 2019; 47(2): 365-372. doi: 10.1016/j.jcms.2018.10.017
 27. Verma R, Kandwal A, Negi G, Chandra H. Factors affecting the quantity and quality of platelet-rich plasma and platelet-derived growth factor-BB: an observational study. *Journal of Bio-X Research.* 2021; 4(2): 67-70. doi: 10.1097/JBR.0000000000000091
 28. Mariani E, Pulsatelli L, Cattini L, Dolzani P, Assirelli E, Cenacchi A, Di Martino A, Arciola CR, Filardo G. Pure Platelet and Leukocyte–Platelet-Rich Plasma for Regenerative Medicine in Orthopedics—Time- and Preparation-Dependent Release of Growth Factors and Effects on Synovial Fibroblasts: A Comparative Analysis. *International Journal of Molecular Sciences.* 2023; 24(2): 1512. doi: 10.3390/ijms24021512
 29. Roffi A, Filardo G, Assirelli E, Cavallo C, Cenacchi A, Facchini A, et al. Does Platelet-Rich Plasma Freeze-Thawing influence growth factor release and their effects on chondrocytes and synoviocytes?. *BioMed Research International.* 2014; 2014: 692913. doi: 10.1155/2014/692913
 30. Silva LQ da, Huber SC, Montalvão SADL, Bassora FDS, De Paula EV, Annichino-Bizzacchi J. Platelet Activation Is Not Crucial for Platelet-Rich Plasma (PRP), When Used As Autologous Therapeutic Product, and Could be Lyophilized without Any Growth Factor Loss. *Blood.* 2016 Dec 2;128(22):2639–9
 31. Collins T, Alexander D, Barkatali B. Platelets-Rich plasma: a narrative review. *Effort Open Reviews.* 2021; 6(4): 225-235. doi: 10.1302/2058-5241.6.200017

- 32.** Komatsu K, Ideno H, Shibata T. et al. Platelet-derived growth factor-BB regenerates functional periodontal ligament in the tooth replantation. *Sci Rep.* 2022; 12(1): 3223-3239. doi: 10.1038/s41598-022-06865-6
- 33.** Evrova O, Buschmann J. In vitro and in vivo effects of PDGF-BB delivery strategies on tendon healing: a review. *European Cells and Materials.* 2017; 34: 15-39. doi: 10.22203/eCM.v034a02
- 34.** Calleja-Blanco S, Abaroa C, Molina C, Trincado M. Detection and Quantification of Platelet-Derived Growth Factor in Circulating Blood Concentrates vs Platelet-Rich Fibrin. *Journal of oral and Maxillofacial Surgery.* 2020; 78(10): E96. doi: 10.1016/j.joms.2020.07.188.
- 35.** Borena BM, Martens A, Broeckx SY, Meyer E, Chiers K, Duchateau L, Spaas JH. Regenerative skin wound healing in mammals: state-of-the-art on growth factor and stem cell-based treatments. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 36 (1): 1-23. doi: 10.1159/000374049
- 36.** Lee K, Silva EA, Mooney DJ. Growth factor delivery-based tissue engineering: general approaches and a review of recent developments. *Soc Interface* 2011; 8(50): 153-170. doi: 10.1098/rsif.2010.0223
- 37.** Schär MO, Diaz-Romero J, Kohl S, Zumstein MA, Nesic D. Platelet-rich concentrates differentially release growth factors and induce cell migration in vitro. *Clin Orthop Relat Res.* 2015; 473(5): 1635-43. doi: 10.1007/s11999-015-4192-2
- 38.** Millpore. Sigma Aldrich. Certificate of Analysis/ Protocol Human PDGF-BB ELISA Kit; 2018.

ANEXO 1: TAMAÑO MUESTRAL

Tamaño de la muestra para comparar dos medias ▾

Información de entrada

| | |
|--|-----|
| Intervalo de confianza (2 lados) | 95% |
| Potencia | 80% |
| Razón del tamaño de la muestra (Grupo 2/ Grupo 1) | 1 |

| | Grupo 1 | Grupo 2 | Diferencia * |
|------------------------|----------------|----------------|-------------------------|
| Media | 35135 | 798 | 34337 |
| Desviación estándar | 14506 | 90 | |
| Varianza | 210424000 | 8100 | |

| | |
|-------------------------------|---|
| Tamaño de muestra del grupo 1 | 2 |
| Tamaño de muestra del grupo 2 | 2 |
| Tamaño total de la muestra | 4 |

ANEXO 2: TRADUCCIÓN DEL CERTIFICADO DE ANÁLISIS/ PROTOCOLO

Kit ELISA de PDGF-BB humano para suero, plasma y sobrenadantes de cultivos celulares – Millipore³⁴

Almacenamiento:

- Almacenar el kit a -20°C, permanece activo hasta por un año.

Componentes:

- I. Placa ELISA recubierta con anticuerpo PDGF-BB humano (Ítem A) - 96 pocillos (12 tiras x 8 pocillos) recubiertos con anti-PDGF-BB humano.
- II. Buffer de lavado 20x (Ítem B)
- III. Estándar de proteína PDGF-BB humana liofilizada (Ítem C)
- IV. Anticuerpo de detección de PDGF-BB humano biotinilado (Ítem F)
- V. HRP-Estreptavidina (Ítem G)
- VI. Reactivo TMB colorimétrico ELISA (Sustrato HRP, ítem H)
- VII. Solución de parada ELISA (Ítem I)
- VIII. ELISA 1x ensayo/muestra diluyente buffer A (Ítem D1) - 30 ML
- IX. ELISA 5x ensayo/muestra diluyente buffer B (Ítem E1) - 30 ML

Paso 1: Dilución del Buffer

- El buffer diluyente de Ítem B debe diluirse 5 veces con agua destilada antes de su uso.

Volumen del Buffer: 25 ml

$$C_1 * V_1 = C_f * V_f$$

$$20x * 25 \text{ ml} = 1x * V_f$$

$$500 \text{ ml} = V_f$$

$$500 \text{ ml} - 25 \text{ ml} = 475 \text{ ml de agua destilada}$$

Paso 2: Dilución de muestra

- El Buffer diluyente de ensayo/muestra A (Item D1) , que se usa para muestras de suero y plasma, debe ser diluido 5 veces.
- 20 ml de Buffer A (Item D1)
- 80 ml de agua destilada
- Volumen final: 100 ml

Paso 3: Preparación del standard

- Agregar 280 ul del diluyente de ensayo A al vial Ítem C, para la preparación de un estándar a una concentración de 50 ng/ml.
- Disolver el polvo mezclando suavemente.
- Agregar 4 ul de estándar de PDGF-BB del vial Ítem C a un tubo con 496 ul de diluyente de ensayo A.
- Pipetear 400 ul de diluyente de ensayo A en cada tubo.
- Utilizar la solución Standard para producir una serie de diluciones como la Figura 1.
- Mezclar bien cada tubo antes de la próxima transferencia.
- El diluyente del ensayo A, sirve como estándar cero (0 pg/ml).

Figura 1. Gráfica de diluciones para preparación del estándar

Fuente: Imagen procedente de Millpore-Sigma Aldrich³⁴

Paso 4: Preparación de detección biotinilada de anticuerpo

- Girar brevemente el vial de detección de anticuerpos (Item F) antes de usarlo.
- Agregar 100 ul de 1x de diluyente Buffer B (Item E1) en el vial para preparar un concentrado de anticuerpos de detección.
- Mezclar suavemente el concentrado con ayuda de la pipeta.
- Diluir 80 veces el concentrado de de anticuerpos de detección con 1x de Buffer diluyente B (Ítem E1).
- 60 ul de Ítem F
- 4740 ul de Buffer B (Ítem E1)
- Volumen final: 4800 ul

Paso 5: Dilución del concentrado de Estreptavidina HRP

- Con ayuda de la pipeta mezclar el concentrado de Estreptavidina - HRP (Ítem G) ya que se pueden formar precipitados durante el almacenamiento.
- Diluir el concentrado 800 veces con 1 x de Diluyente Buffer (Ítem E1) (Agregar 20ul de concentrado de estreptavidina -HrP en un tubo con 16 ml de 1x Diluyente B).

Paso 6: Procedimiento de ensayo de sándwich

1. Llevar todos los reactivos y muestras a temperatura ambiente (18-25°C) antes de su uso. Se recomienda un análisis por duplicado.
2. Agregue 100 ul de cada estándar y muestrear en los pozos apropiados. cubrir los pocillos e incubar durante 2,5 horas a temperatura ambiente.
3. Desechar la solución y lavar 4 veces con 1x Wash solution. Lavar llenando cada pocillo con tampón de lavado (300 ul) usando una pipeta multicanal o un autolavado. La eliminación completa de líquido en cada paso es esencial para un buen rendimiento. Después del último lavado, eliminar cualquier resto de buffer de lavado aspirando o decantando. Invertir la placa y secarla con papel limpio.
4. Agregar 100 ul del anticuerpo de detección preparado 1x a cada pocillo. Cubrir los pocillos e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación suave.
5. Desechar la solución. Repetir el lavado con el paso 3.
6. Agregar 100 ul de solución de estreptavidina preparada a cada pocillo. Cubrir los pocillos e incubar durante 45 minutos a temperatura ambiente con agitación suave.
7. Desechar la solución. Repetir el lavado como en el paso 3.
8. Agregar 100 ul de reactivo de sustrato de un solo paso TMB (Ítem H) a cada pocillo. Cubrir los pocillos e incubar 30 minutos a temperatura ambiente en la oscuridad con agitación suave.
9. Agregar 50 ul de solución de parada (item I) a cada pocillo. Leer la absorbancia a 450 nm inmediatamente.

ANEXO 3: PRINCIPIO DEL MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DEL PDGF-BB CON EL KIT ELISA

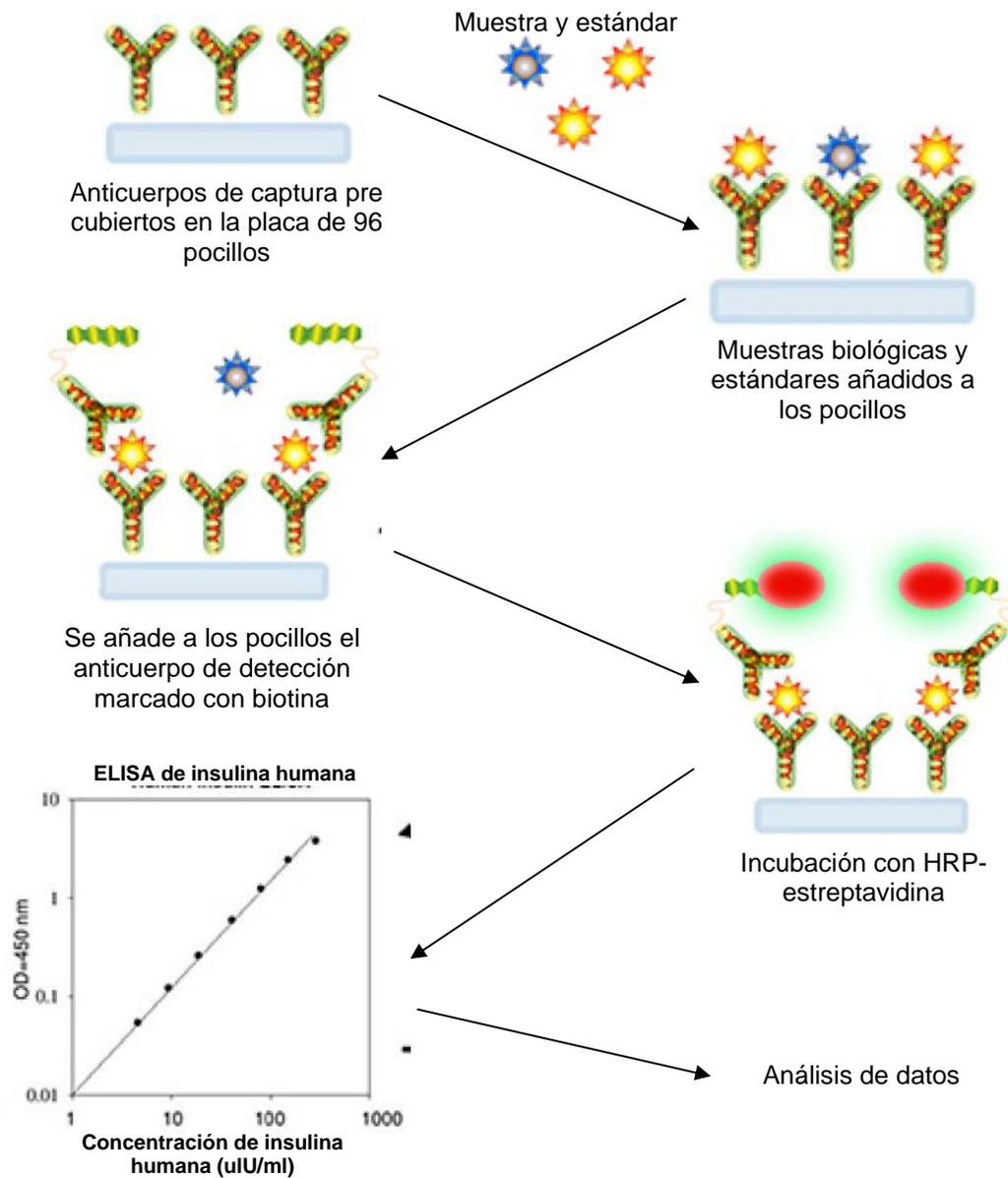


Figura 1. Principio del método de cuantificación del PDGF-BB con el Kit de ELISA

Fuente: Imagen procedente de Millpore-Sigma Aldrich³⁷

ANEXO 4: DISEÑO DE PLACA DE ELISA DE 96 POCILLOS Y DATOS TÍPICOS DE ENSAYO

| | Curva estándar 1 | Tiempo 1 | | Tiempo 2 | | Tiempo 3 | | Sin activador | | Curva estándar 2 | | |
|---|------------------|----------|-------|----------|--------|----------|--------|---------------|------------|------------------|-------|------|
| A | Std 1 | Std 9 | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | Std 1 | Std 9 | ---- |
| B | Std 2 | P1-1h | P1-1h | P1-24h | P1-24h | P1-48h | P1-48h | P1-sin act | P1-sin act | Std 2 | ---- | ---- |
| C | Std 3 | P2-1h | P2-1h | P2-24h | P2-24h | P2-48h | P2-48h | P2-sin act | P2-sin act | Std 3 | ---- | ---- |
| D | Std 4 | P3-1h | P3-1h | P3-24h | P3-24h | P3-48h | P3-48h | P3-sin act | P3-sin act | Std 4 | ---- | ---- |
| E | Std 5 | P4-1h | P4-1h | P4-24h | P4-24h | P4-48h | P4-48h | P4-sin act | P4-sin act | Std 5 | ---- | ---- |
| F | Std 6 | P5-1h | P5-1h | P5-24h | P5-24h | P5-48h | P5-48h | P5-sin act | P5-sin act | Std 6 | ---- | ---- |
| G | Std 7 | P6-1h | P6-1h | P6-24h | P6-24h | P6-48h | P6-48h | P6-sin act | P6-sin act | Std 7 | ---- | ---- |
| H | Std 8 | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | ---- | Std 8 | ---- | ---- |

Figura 1. Diseño de placa de ELISA de 96 pocillos. **Std:** estándar; **P:** paciente; **h:** horas; **sin act:** sin activador.

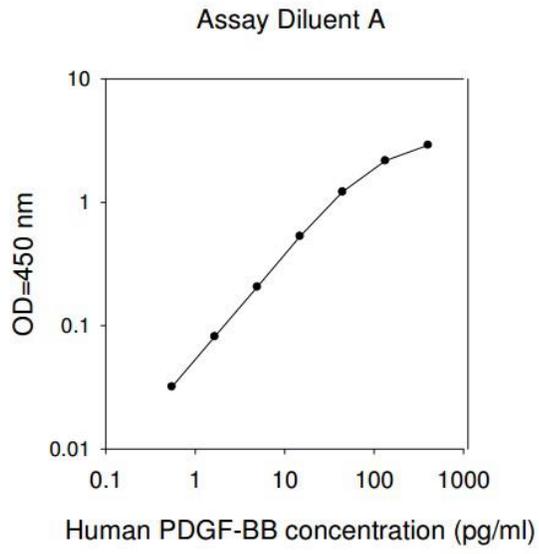
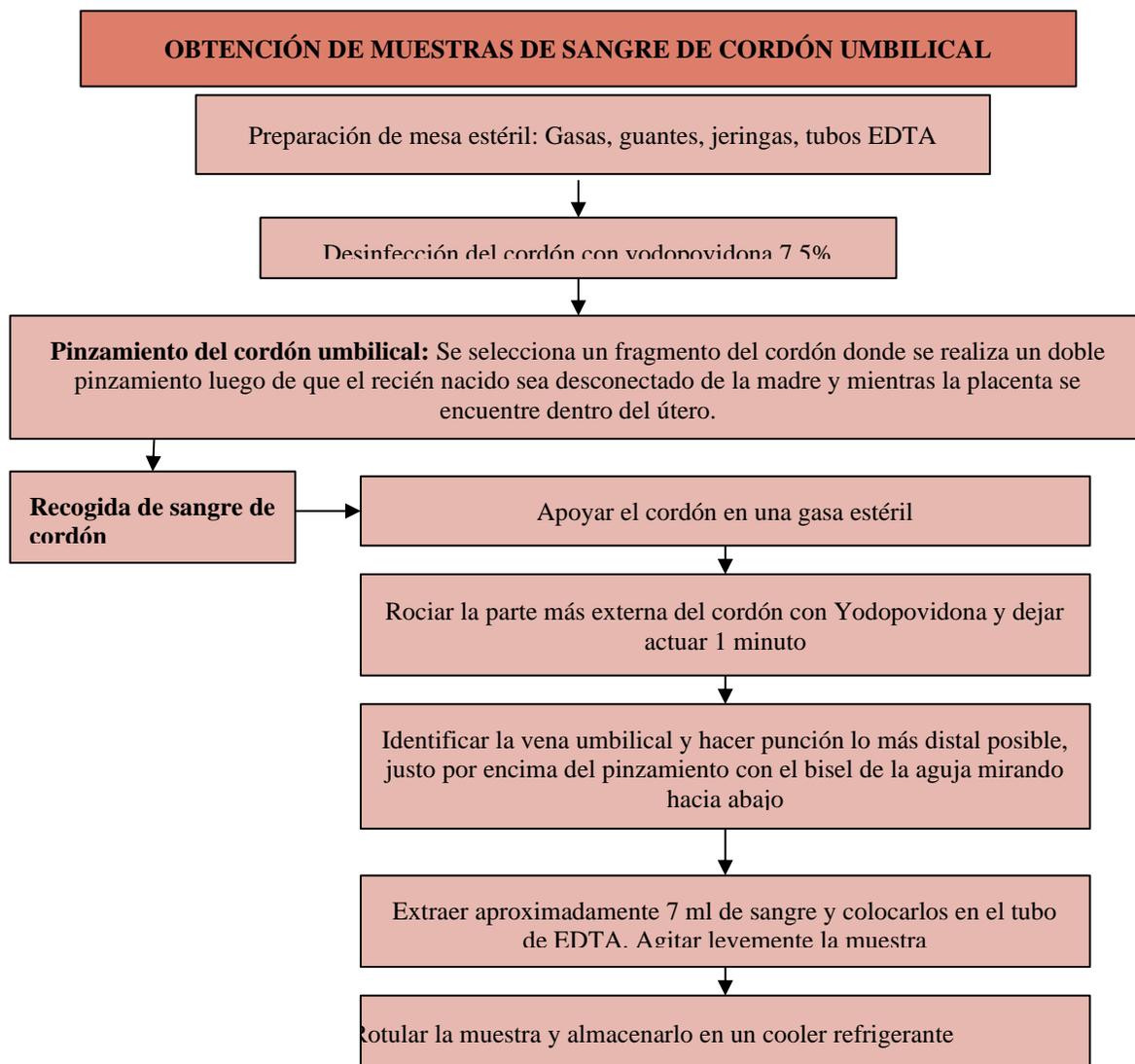


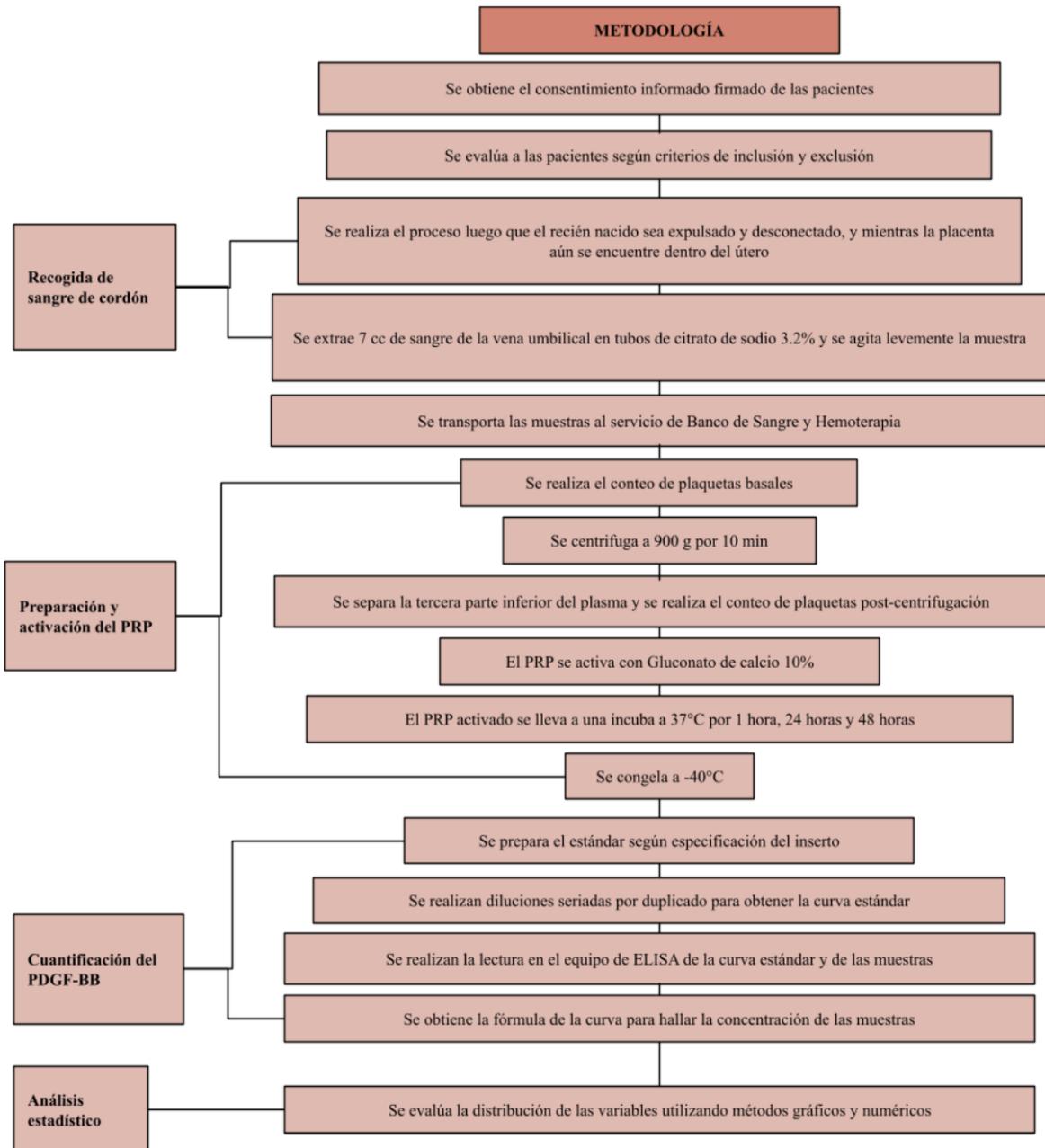
Figura 2. Diseño de curva típica de datos que se obtiene en la lectura de los estándares del Kit de ELISA para muestras de plasma.

Fuente: Imagen procedente de Millpore-Sigma Aldrich³⁴.

ANEXO 5: DIAGRAMA DE OBTENCIÓN DE MUESTRAS DE SANGRE DE CORDÓN UMBILICAL



ANEXO 6: METODOLOGÍA ESQUEMATIZADA



ANEXO 7: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Código de voluntario: _____

I. Medición de plaquetas pre y post centrifugación

| | Fecha | Concentración | Observaciones |
|-------------------------------|-------|---------------|---------------|
| Plaquetas pre centrifugación | | | |
| Plaquetas post centrifugación | | | |

II. Medición del factor de crecimiento:

| N° de alícuota | Fecha | Tiempo o condición | Concentración de PDGF-BB |
|----------------|-------|--------------------|--------------------------|
| 1 | | Sin Activador | |
| 2 | | 1 hora | |
| 3 | | 24 horas | |
| 4 | | 48 horas | |

Observación :

ANEXO 8: CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

(Adultos)

| | |
|----------------------------|---|
| Título del estudio: | Evaluación de la cinética de liberación de los factores de crecimiento derivados de plaquetas del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical |
| Investigador (a): | Peralta A. Ana, Rodríguez C. Andrea, Aro G. Pedro |
| Institución: | Universidad Peruana Cayetano Heredia |

Propósito del estudio:

La estamos invitando a participar en un estudio que evaluará la rapidez con la que se liberan algunos componentes importantes de la sangre de cordón umbilical que son las plaquetas, las cuales contienen factores de crecimiento. Estos factores de crecimiento cumplen diferentes funciones, una de ellas es ser parte del proceso de reparación de heridas; por lo cual, es usado en el área de medicina regenerativa. Dicha sangre será extraída de una parte del cordón umbilical que ha sido separado del bebé y va a ser desechado luego del nacimiento. Este es un estudio desarrollado por estudiantes e investigadores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

El "cordón" que une a la madre y el feto se llama cordón umbilical y sirve para proveer nutrientes importantes al bebé en formación; sin embargo, luego del parto es desechado ya que se cree que no tiene ninguna utilidad. Con el avance de las investigaciones, se ha determinado que la sangre del cordón umbilical contiene diversos componentes como son los factores de crecimiento que tienen efectos potenciales para la regeneración de tejidos y heridas. Estos factores de crecimiento serán aislados en nuestro estudio para evaluar si aumenta o disminuye la concentración en determinados periodos de tiempo y así encontrar el momento donde se libera mayor cantidad para que su uso futuro sea el más adecuado.

Procedimientos:

Al participar en este estudio deberá tener en cuenta lo siguiente:

1. Todos los procedimientos serán realizados por personal de salud capacitado y se realizará con el apoyo del personal de Ginecoobstetricia. Una vez que el bebé nazca y mientras la placenta se encuentre en el útero, el personal entrenado ingresa y con previa asepsia realiza la toma de muestra de sangre de la sección del cordón umbilical que se va a descartar. Se recalca que no habrá interacción alguna con el recién nacido.
2. La recolección de las muestras de sangre será de 7 ml en cantidad equivalente a una cucharada de sopa.
3. Un personal registrará y rotulará las muestras. Estas serán conservadas en un sistema de refrigeración y transporte que aseguren su almacenamiento hasta el Servicio de Hemoterapia y banco de sangre para su proceso.

Riesgos:

La toma de muestra de sangre de cordón umbilical obtenida tras el parto se considera un proceso inocuo para la madre y el bebé, es decir, no afectará a ninguno. No obstante, si tras la primera punción no se recolecta satisfactoriamente la muestra se realizará otra punción, lo cual no supone ninguna complicación para la madre voluntaria ya que en todo el procedimiento se mantienen siempre los criterios de asepsia. Además, durante el proceso habitual de la extracción de la placenta con el cordón umbilical es usual que se tomen muestras de sangre para la obtención del grupo sanguíneo del recién nacido por lo que no es un procedimiento extraño durante el parto.

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

(Adultos)

| | |
|----------------------------|--|
| Título del estudio: | Evaluación de la cinética de liberación de los factores de crecimiento derivado de plaquetas del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical |
| Investigador (a): | Peralta A. Ana, Rodríguez C. Andrea, Aro G. Pedro |
| Institución: | Universidad Peruana Cayetano Heredia |

El proceso de recolección de muestra no supone complicaciones ni en el bebé ni la madre, puesto que la fuente de obtención es una fracción del cordón umbilical que ha sido previamente separado del bebé y la madre.

Beneficios:

No recibirá un beneficio directo por participar en este estudio, pero los resultados podrían ayudar a otras personas en el futuro. Además, se le informará de los resultados obtenidos de la muestra brindada.

Costos y compensación

No deberá pagar nada por participar en el estudio. Igualmente, no recibirá ningún incentivo económico ni de otra índole por las muestras donadas.

Es importante tener en cuenta que la ejecución de la donación se acepta de forma voluntaria, de esta manera está participando en el estudio, y cuya información proporcionada se mantiene confidencial. Las muestras no serán vendidas o distribuidas a terceros con fines comerciales.

Confidencialidad:

Nosotros guardaremos su información con códigos y no con nombres. Sólo los investigadores tendrán acceso a las bases de datos. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrará ninguna información que permita la identificación de las personas que participaron en este estudio.

USO FUTURO DE MUESTRAS

Estas muestras serán utilizadas únicamente para el presente estudio que tendrá una duración máxima de un mes a partir de la recolección de la sangre. Posteriormente serán descartadas.

Autorizo almacenar las muestras recolectadas empleadas en el presente estudio por un tiempo máximo de 1 mes.

(Después de este periodo de tiempo se eliminarán dichas muestras).

SI () NO ()

USO FUTURO DE INFORMACIÓN

Deseamos almacenar los datos recaudados en esta investigación por 10 años. Estos datos podrán ser usados para investigaciones futuras.

Estos datos almacenados no tendrán nombres ni otro dato personal, sólo serán identificables con códigos.

Si no desea que los datos recaudados en esta investigación permanezcan almacenados ni utilizados

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

(Adultos)

| | |
|----------------------------|---|
| Título del estudio: | Evaluación de la cinética de liberación del factores de crecimiento derivado de plaquetas del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical |
| Investigador (a): | Peralta A. Ana, Rodríguez C. Andrea, Aro G. Pedro |
| Institución: | Universidad Peruana Cayetano Heredia |

| | | |
|--|-----------------------|------------------------------|
| _____ Nombres y Apellidos Participante | _____ Firma | _____ Fecha y Hora |
| _____ Nombres y Apellidos Testigo (si el participante es analfabeto) | _____ Firma | _____ Fecha y Hora |
| _____ Nombres y Apellidos Investigador | _____ Firma | _____ Fecha y Hora |
| _____ Nombres y Apellidos Investigador | _____ Firma | _____ Fecha y Hora |

ANEXO 9: CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN POR LA UPCH



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA 582 - 49 - 22

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el proyecto de investigación señalado a continuación fue **APROBADO** por el Comité Institucional de Ética en Investigación, bajo la categoría de revisión **EXPEDITA**.

Título del Proyecto : **“Evaluación de la cinética de liberación de factores de crecimiento del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical”**

Código de inscripción : **206350**

Investigadora principal : **Ana Patricia, Peralta Antialon**

La aprobación incluyó los documentos finales descritos a continuación:

1. **Proyecto de investigación**, versión recibida en fecha 15 de diciembre del 2022.
2. **Consentimiento informado**, versión 5.0 recibida en fecha 15 de diciembre del 2022.

La **APROBACIÓN** considera el cumplimiento de los estándares de la Universidad, los lineamientos Científicos y éticos, el balance riesgo/beneficio, la calificación del equipo investigador y la confidencialidad de los datos, entre otros.

Cualquier enmienda, desviaciones, eventualidad deberá ser reportada de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada seis meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste. La aprobación tiene vigencia desde la emisión del presente documento hasta el **18 de diciembre de 2023**.

Si aplica, los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 19 de diciembre del 2022.



Dr. Luis Arturo Pedro Saona Ugarte
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación

/ugg

ANEXO 10: CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE ENMIENDA POR LA UPCH



VICERRECTORADO
DE INVESTIGACIÓN

CONSTANCIA E-043-09-23

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el comité institucional de ética en investigación aprobó de manera expedita la **ENMIENDA/MODIFICACIÓN** del proyecto de investigación señalado a continuación.

Título del Protocolo : "Evaluación de la cinética de liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical"

Código del protocolo : 206350

Investigador(a) principal(es) : Peralta Antialón, Ana Patricia
Rodríguez Chávez, Andrea Nisi

La **enmienda/modificación** corresponde a los siguientes documentos:

1. Protocolo de investigación, versión recibida en fecha 27 de febrero del 2023.
3. Solicitud de enmienda (II), recibida en fecha 27 de febrero del 2023.

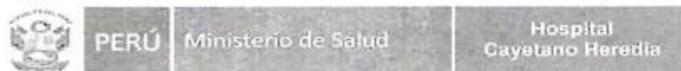
Lima, 27 de febrero del 2023.



Dr. Luis Arturo Pedro Saona Ugarte
Presidente
Comité Institucional de Ética en Investigación

/es/

ANEXO 11: CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL COMITÉ DE ÉTICA DEL HOSPITAL NACIONAL CAYETANO HEREDIA



Decenio de la Igualdad de Oportunidades para Mujeres y Hombres"
"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"
"Año del Bicentenario del Congreso de la República del Perú"

CONSTANCIA N° 160-2022

EL PRESIDENTE DEL COMITÉ INSTITUCIONAL DE ÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL NACIONAL CAYETANO HEREDIA,

CERTIFICA:

Que el Trabajo de Investigación de la REF: "Evaluación de la cinética de liberación del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF-BB) del plasma rico en plaquetas obtenido de sangre de cordón umbilical". Inscrito con Código 056-2022. Presentado por las Srtas. Ana Patricia Peralta Antialon y Andrea Nisi Rodríguez Chávez Investigadoras Principales ha sido revisado y APROBADO por este Comité, en sesión de fecha 15 de diciembre del 2022.

Esta aprobación tendrá vigencia hasta el 14 de diciembre de 2023. Los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días antes de su vencimiento.

Participaron en la sesión los siguientes miembros, quienes no presentan conflictos de interés:

- Dr. Juan Carlos Ismodes Aguilar
- Q.F. Mercedes Jacqueline Portocarrero Reátegui
- Dr. Javier Renato Puma Medina
- Bach. Der. Roberto Hugo Sedano Sedano
- Ing. Ruth Damariz Benito Matias
- Sr. José Leónidas Orcón Bernal

Lima, 15 de diciembre del 2022

