



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

| Facultad de
MEDICINA

**EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS BASADOS EN EL TIEMPO Y
FUERZA GRAVITACIONAL EN LA OBTENCIÓN DE PLAQUETAS A
PARTIR DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN EL HOSPITAL DE
ALTA COMPLEJIDAD VIRGEN DE LA PUERTA, 2022**

**EVALUATION OF TWO METHODS BASED ON TIME AND
GRAVITATIONAL FORCE IN OBTAINING PLATELETS FROM
PLATELET-RICH PLASMA AT THE VIRGEN DE LA PUERTA HIGH
COMPLEXITY HOSPITAL, 2022**

**TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE
SEGUNDA ESPECIALIDAD PROFESIONAL EN HEMOTERAPIA Y
BANCO DE SANGRE**

AUTORA:

Jessica Maribel Orbegoso Yparraguirre

ASESOR:

Raúl Edwin Correa Ñaña

CO-ASESOR:

Pedro Alberto Aro Guardia

LIMA- PERÚ

2021

ASESORES DE TRABAJO ACADÉMICO

ASESOR:

Dr. Raúl Edwin Correa Ñaña

Departamento Académico de la Universidad Peruana Cayetano Heredia

ORCID: 0000-0002-1565-626X

CO-ASESOR:

Dr. Pedro Alberto Aro Guardia

Departamento Académico del Servicio de Hemoterapia y Banco de sangre del Hospital
Cayetano Heredia

ORCID: 0000-0003-3343-7607

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mis hijos Quiara y Mateo, gracias por su comprensión y su paciencia, ya que ellos son la razón que me impulsan a seguir adelante.

Gracias a mis padres por su ayuda y cariño.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

El presente estudio será financiado con recursos propios del investigador.

DECLARACION DEL AUTOR

Yo, Jessica Maribel Orbegoso Yparraguirre con DNI 18158211, alumna de posgrado de la Faculta de Medicina, de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, autora del proyecto de investigación titulado: “Evaluación de dos métodos basados en el tiempo y fuerza gravitacional en la obtención de plaquetas a partir del plasma rico en plaquetas en el Hospital de alta Complejidad Virgen de la Puerta, 2022”, declaro que;

1. El presente proyecto de investigación, presentada para la obtención del Título de Especialista en Hemoterapia y Banco de Sangre es original, siendo resultado de mi trabajo personal, el cual no he copiado de otro trabajo de investigación, ni utilizado ideas, fórmulas, ni citas completas “stricto sensu”; así como ilustraciones diversas, obtenidas de cualquier otro documento en versión digital o impresa. Caso contrario, menciono de forma clara y exacta su origen o autor, tanto en el cuerpo del texto, figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

2. Declaro que el proyecto de investigación que pongo en consideración para evaluación no ha sido presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni ha sido publicado en sitio alguno. Soy consciente de que el hecho de no respetar los derechos de autor y hacer plagio, es objeto de sanciones universitarias y/o legales, por lo que asumo cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de irregularidades en, proyecto de investigación, así como de los derechos sobre la obra presentada.

Asimismo, me hago responsable ante la universidad o terceros, de cualquier irregularidad o daño que pudiera ocasionar, por el incumplimiento de lo declarado. De identificarse falsificación, plagio, fraude, o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, responsabilizándome por todas las cargas pecuniarias o legales que se deriven de ello sometiéndome a la normas establecidas y vigentes de la UPCH.

Tabla de contenidos

1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN	1
3. OBJETIVOS.....	4
3.1. Objetivo general	4
3.1. Objetivos específicos.....	4
4. MATERIAL Y MÉTODOS	5
4.1. Diseño del estudio	5
4.2. Población y lugar de estudio.....	5
4.2.1. Criterios de inclusión.....	5
4.2.1. Criterios de exclusión	5
4.3. Muestra y muestreo	5
4.4. Operacionalización de variables	6
4.5. Procedimientos y técnicas.....	7
4.6. Aspectos éticos	8
4.7. Análisis de datos	8
5. PRESUPUESTO	9
6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	10
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	11
ANEXO.....	13

1. RESUMEN

En la actualidad el uso del plasma rico en plaquetas (PRP) es usado en diferentes ramas de la medicina por su actividad en la regeneración y aceleración de la cicatrización de heridas además de disminuir la inflamación. A pesar de su gran uso y demanda, no existe un protocolo estándar que permita recolectar plaquetas. A la fecha, múltiples investigadores han evaluado diversos métodos, sin embargo, no se han evaluado aquellos con mejor tasa de recuperación. Para este proyecto, se seleccionaron aquellos con evidencia de tener una mejor tasa de recuperación. **Objetivo:** Evaluar el número de plaquetas obtenidas de acuerdo al método A (450 g por 8 minutos) y el método B (método A, seguido de una segunda centrifugación a 600g por 15 minutos). **Materiales y Métodos:** Se realizará un estudio analítico. Se seleccionará 61 muestras de donantes de sangre y se cuantificará el número de plaquetas mediante dos métodos de centrifugación variando el tiempo y la fuerza gravitacional, existiendo así un total de 122 análisis pareados. El análisis de datos incluirá la descripción de variables y el análisis pareado mediante pruebas estadísticas para evaluar diferencia de promedios.

Palabras claves: Plaquetas, Tiempo de centrifugación, Fuerza gravitacional, PRP

ABSTRACT

Currently the use of Platelet-Rich Plasma (PRP) is used in different branches of medicine for its activity in regeneration and acceleration of wound healing in addition to reducing inflammation. Despite its great use and demand, there is no standard protocol for collecting platelets. To date, multiple investigators have evaluated various methods, however, those with the best recovery rate have not been evaluated. For this project, those with evidence of having a better recovery rate were selected. **Objective:** To evaluate the number of platelets obtained according to method (450 g for 8 minutes) and method B (method A, followed by a second centrifugation at 600 g for 15 minutes). **Materials and Methods:** An analytical study will be carried out. 61 samples from blood donors will be selected and the number of platelets will be quantified by means of two centrifugation methods varying the time and the gravitational force, thus giving a total of 122 paired analyzes. The data analysis will include the description of variables and the paired analysis using statistical tests to evaluate the difference of means.

Keywords: Platelets, Centrifugation time, Gravitational force, PRP

2. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

El plasma rico en plaquetas (PRP) es obtenido por centrifugación a partir de la misma muestra del donante (1,2). En el mercado global, la producción de PRP estuvo valorizado en 214.3 millones de dólares para el 2016 dado que su uso es amplio en múltiples ramas médicas, y tuvo una proyección al aumento de 13.3% cada año (3). Es importante mencionar que existen diferentes calidades de PRP, y que ello depende del método de obtención, uso de activadores o de métodos de optimización (4).

La plaqueta es un fragmento celular anucleado y de forma discoide, y cumple funciones importantes en la coagulación y hemostasia (5,6). Asimismo, las plaquetas son capaces de liberar factores de crecimiento (PDGF-AA, PDGF-BB y PDGF-AB), factores de crecimiento transformantes (TGF- β 1, y TGF- β 2), factores de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y factores de crecimiento del fibroblasto (EGF) (7). Del mismo modo, la plaqueta es capaz de liberar citoquinas del tipo IL-2, L-8, TNF- α , IGF-1, y BMP, las cuales cumplen un rol clave en la hemostasia, cicatrización, reparación de cartílagos, entre otros (8).

El uso de activadores, y la velocidad y tiempo de centrifugación son factores que determinan la liberación de factores de crecimiento y el número de plaquetas (9). Por tanto, el preparado puede ser heterogéneo y no necesariamente comparable entre los diferentes métodos dada la ausencia de un protocolo estándar. De forma global, el PRP es obtenido mediante centrifugación del plasma recolectado (10), y esta separación está dada por la sedimentación de las partículas, y está relacionada también con el tamaño de los componentes y la fuerza de centrifugación (11). Dicho ello, la fuerza de centrifugación aumenta la fuerza de sedimentación, la cual resulta en una mejor separación de los componentes (12,13).

Los estudios acerca de los métodos de preparación sugieren que, la velocidad y tiempo de centrifugación afectan de forma importante a la cantidad y calidad de plaquetas colectadas. Yin y colaboradores demostraron que la centrifugación a 160g por 10 minutos, seguido por una adicional de 250g por 15 minutos genera mayor cantidad de plaquetas y mayor liberación de factores de crecimiento en comparación a un único centrifugado (11). No obstante, un grupo de investigadores no evidenciaron una mejora significativa al replicar los experimentos descritos por Yin y colaboradores (12).

Roh y colaboradores compararon la centrifugación simple y doble, obteniendo 3 veces más de plaquetas a doble centrifugación, la cual además se acompañó de mayor cantidad de leucocitos (14). Múltiples investigadores sugieren que la cantidad de leucocitos puede influenciar en la cicatrización de heridas por la degradación del colágeno, afectando negativamente la matriz de los tendones (15,16). No obstante, dichas observaciones son discrepantes con lo observado por otro grupo que sugiere que los leucocitos pueden ser beneficiosos para aumentar los factores de crecimiento (17).

Jo y colaboradores examinaron el efecto del tiempo y la fuerza gravitacional sobre el conteo plaquetario usando dos etapas de centrifugado; de 500g a 900g incrementando 100g durante 5 minutos, y de 100g a 1300g incrementando 200g durante 10 minutos. La mayor tasa de recuperación se logró en la primera etapa obteniendo una tasa de recuperación del 92% (18). Tamini y colaboradores compararon un método simple y otro doble para obtener PRP. Para la primera centrifugación se usó 1300 rpm a 10 minutos y la segunda 2000 rpm por 10 minutos. Los resultados sugieren que existe una mayor tasa de recuperación en la segunda centrifugación; 352% del valor basal (187.230 ± 57.650) (19).

Kececi y colaboradores evaluaron métodos de centrifugación; uno a 250 g, y múltiples variaciones considerando las siguientes velocidades; 300, 500, 750, 1000, 1500 y 2000 g durante 10 min. Los hallazgos de dicho estudio sugirieron que, a medida que la fuerza centrífuga aumentaba, la concentración de plaquetas aumentaba también a razón de 1.92, 2.16, 2.80, 3.48, 3.67 y 3.76 veces, respectivamente (20).

Por otro lado, Yin y colaboradores realizaron un estudio usando una centrifugación simple y una centrifugación doble. La concentración de plaquetas obtenida del PRP con velocidades de centrifugación de 160g por 10 minutos fue significativamente mayor que la de PRP obtenida con 110g por 15 minutos ($p < 0.001$), 130g por 10 minutos ($p < 0.001$), 160g por 15 minutos ($p < 0.001$) o 180g por 10 minutos ($p < 0.001$), y comparable con el obtenido usando 130g por 15 minutos. La tasa de recuperación de plaquetas fue mayor usando 160g por 10 minutos que con 110g por 15 minutos ($p < 0.001$), 130g por 15 minutos ($p < 0.001$), 160g por 15 minutos ($p < 0.001$), y 180g por 10 minutos ($p < 0.001$). Los autores concluyen que, la centrifugación doble a 160g por 10 minutos permitiría una mayor concentración de plaquetas (11).

El plasma rico en plaquetas es un tratamiento novedoso y en el Perú se utiliza en muchas ramas de la medicina dada su actividad en la regeneración y aceleración de la cicatrización de heridas, además de disminuir la inflamación. Dentro de los factores que pueden influenciar el número de plaquetas están la aceleración, la fuerza gravitacional, el uso de activadores, y el tiempo de centrifugación, los cuales son factores ampliamente estudiados. Por lo tanto, una preparación adecuada permitirá obtener mayor número de plaquetas y liberar mayor cantidad de factores de crecimiento dado que estos son los que ejercen el efecto regenerativo.

No obstante, la existencia de una gran amplia variabilidad de protocolos en la preparación del PRP, hace que los productos no puedan ser comparables entre los laboratorios, y que cada uno de ellos trabaje bajo condiciones no estándares. Por lo cual, es de suma importancia evaluar de forma controlada aquellos parámetros con mejor rendimiento demostrado por otros autores con el propósito de proponer un protocolo de trabajo estándar y reproducible (21-24).

En tal sentido, se propone la siguiente pregunta de investigación: ¿Existe diferencia para el número de plaquetas obtenidas por el método A (450 g por 8 minutos) o por el método B (método A, seguido de una segunda centrifugación a 600g por 15 minutos) utilizando plaquetas a partir del plasma rico en plaquetas en el Hospital de alta Complejidad Virgen de la Puerta?

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo general

- Evaluar el número de plaquetas obtenidas de acuerdo al método A (450 g por 8 minutos) y el método B (método A, seguido de una segunda centrifugación a 600g por 15 minutos)

3.1. Objetivos específicos

- Determinar el número de plaquetas del obtenido a partir de un PRP mediante el método A de centrifugación simple (450 g por 8 minutos)
- Determinar el número de plaquetas del obtenido a partir de un PRP mediante el método B de centrifugación (método A, seguido de una segunda centrifugación a 600g por 15 minutos)
- Comparar los resultados obtenidos entre los métodos A y B

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Diseño del estudio

Estudio analítico transversal

4.2. Población y lugar de estudio

PRP obtenidos de muestras de sangre recolectadas de donantes de sangre que acuden al servicio de Hemoterapia y Banco de Sangre del Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta durante enero del 2022. Dado que este es un estudio para evaluar diferencia de métodos y las muestras serán trabajadas de forma pareada, no será necesaria la representatividad de muestras en términos poblacionales con el propósito de hacer inferencia a la población de donantes. La población de donantes ha sido definida de acuerdo a los lineamientos propuestos en el Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de Sangre (PRONAHEBAS) (25).

4.2.1. Criterios de inclusión

- PRP procedentes de donantes calificados como aptos para donar sangre de acuerdo a los lineamientos del PRONAHEBAS (25)
- PRP que cumpla con los criterios de calidad según PRONAHEBAS (25)

4.2.1. Criterios de exclusión

- PRP obtenido de donantes con antecedente de fumador según entrevista
- PRP obtenido de donantes con índice de masa corporal ≥ 35 según la entrevista
- PRP obtenido de donante con diagnóstico de diabetes o con reporte de consumo de medicamento en los últimos 15 días

4.3. Muestra y muestreo

De acuerdo al estudio de Mazzocca y colaboradores (12), el método A brinda un promedio de 44.8 millones de plaquetas con una desviación estándar de 183.8, mientras que el método B brinda un promedio de 378.3 millones con una desviación estándar de 53.6. Dada la diferente esperada, y con un intervalo de confianza del 95%, una potencia del 80%, y con una razón de

1 para los tamaños de los grupos en cada brazo, se estimó un total de 61 muestras para cada grupo en evaluación.

4.4. Operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador	Tipo de variable y escala de medición
Edad	Años de vida de una persona según cronología en el tiempo	Edad en años cumplidos estimado	Años	Numérico, continuo, de razón
Sexo	Característica biológica y genética que clasifica a los humanos	Característica del paciente obtenido de la ficha de datos	Masculino, Femenino	Categórica, dicotómica, nominal
Numero de plaquetas antes de la separación	Concentración de plaquetas calculada en 1 mm ³ de sangre	Cantidad de plaquetas obtenidas antes de la aplicación de los métodos de centrifugación determinado por el analizador automatizado de hemograma Cell dyn	Número de plaquetas	Numérico, continuo, de razón
Numero de plaquetas después de la separación	Concentración de plaquetas calculada en 1 mm ³ de sangre	Cantidad de plaquetas obtenidas después de la aplicación de los métodos de centrifugación determinado por el analizador automatizado de hemograma Cell dyn	Número de plaquetas	Numérico, continuo, de razón
Método de centrifugación	Método en el cual se procesó el plasma rico en plaquetas para la obtención de plaquetas	Método según la fuerza y tiempo de centrifugación usado	Método A: centrifugación simple (450g x 8 minutos). Método B: centrifugación	Categórico, dicotómico, nominal

			doble (450g x 8 minutos y luego 600g x 15 minutos)	
--	--	--	---	--

4.5. Procedimientos y técnicas

Este estudio será ejecutado por una licenciada tecnólogo médico siguiendo lo estipulado en el PRONAHEBAS (25). Es importante mencionar que este proyecto de investigación no propone cambios en los procesos regulares y normados para la captación, entrevista, tamizaje u otros relacionados al donante. Por tanto, su ejecución únicamente se limita a procesos relacionados a la separación de los hemocomponentes.

Las muestras serán obtenidas de donantes aptos que acudan rutinariamente al banco de sangre aptos del Hospital alta Virgen de La Puerta durante el 2022. Los procedimientos estarán alineados a lo sugerido por PRONAHEBAS (25). De forma adicional, se le invitará a participar al estudio a aquellos donantes aptos, para lo cual primero se les dará una charla informativa y posteriormente se les proporcionará un consentimiento informado (Anexo 1). Si el donante acepta se procederá a firmar el consentimiento y se recopilará los datos consignados en su ficha de postulación para registro interno del estudio.

Una vez que el donante sea calificado como apto y cumpla criterios de selección se procederá a trabajar con la bolsa satélite. Esta bolsa no contiene ningún preservante y es de donde se obtendrá las muestras para este estudio. Se extraerá dos 2 tubos (Citrato de Sodio 3,2% - Tapa celeste) de 3.5 ml cada uno de cada donante de sangre y se realizará el conteo de plaquetas mediante el Analizador Hematológico CELL-DYN Emerald/Abbott. Los resultados serán anotados en la ficha de recolección de datos.

Posteriormente se usará un tubo como control (sangre total citratada) y el segundo tubo será usado para los dos métodos a utilizar, de este obtendremos 1,5 ml de plasma del cual 0.5 ml corresponden al PRP. Este último tubo pasará a centrifugación por el método A: 450 g por 8 minutos y luego una segunda centrifugación B: a 600g por 15 minutos. Por lo tanto, se dividirá de la siguiente forma:

- a) Número de plaquetas sin ningún método
- b) Número de plaquetas por el Método A
- c) Número de plaquetas por el Método B

A todas las pruebas se le realizarán al menos 3 repeticiones. Posteriormente serán analizados luego de la aplicación de cada método nuevamente por el analizador hematológico para obtener el conteo de plaquetas y serán anotados en una base de datos.

4.6. Aspectos éticos

Este protocolo será registrado en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) – Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y será evaluado por la Facultad de Medicina y el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previo a su ejecución. Durante la implementación del estudio se respetarán los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se seguirán estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

Al ser un estudio que utilizará muestras sanguíneas, se solicitará un consentimiento informado (anexo 1). Los riesgos adicionales a la extracción de las muestras de sangre para el estudio son nulos ya que provienen de la bolsa satélite del donante cuando está ya fue retirada. La información obtenida será codificada para guardar la confidencialidad del participante.

4.7. Análisis de datos

Para el análisis univariado, el sexo será resumido usando frecuencias y proporciones. La edad será resumida mediante un promedio y desviación estándar. Si la variable edad no tiene una distribución normal entonces será resumida utilizando una mediana y rangos. La tasa de recuperación será estimada mediante la resta del número de plaquetas tanto por el método A o B menos el basal. Luego, se procederá a evaluar diferencia de promedios mediante una prueba de T de Student pareada. Adicionalmente, se propone un análisis exploratorio mediante Bland-Altman para evaluar diferencias y acuerdo entre ambos métodos. Se considerará un $p < 0.05$ como significativo, y el reporte de intervalos de confianza. Los análisis serán realizados en Stata v15.

5. PRESUPUESTO

Este proyecto será autofinanciado por el investigador principal

MATERIAL DIDACTICO			
CONCEPTO	CANTIDAD	PRECIO/U	SUBTOTAL
Papel Bond 80 gr	2 millares	25	50.00
Copias	200	0.10	30.00
Plumón indeleble	2	4	8.00
Lapiceros de tinta liquida	3	6	18.00
Sub total: S/106.00			
MATERIAL DE LABORATORIO			
Algodón	1 bolsa	30.00	30.00
Alcohol	1Lt	10.00	10.00
Agujas vacuetteiner	1 cjs	25.00	25.00
Tubos con citrato de Toma de muestra al vacío con gel	25	30.00	30.00
separador	200 uni	0.20	40.00
Tubos de vidrio	2	10.00	20.00
Ligadura	1 caja	25.00	25.00
Curitas	1	----	----
Centrifuga de 12 tubos	1	-----	-----
Analizador hematológico CELL DYN			
Sub total: S/.180.00			
SERVICIOS			
Tipeo de Proyecto	2	50	160.00
Asesoramiento estadístico	30 h	10.00	300.00
Movilidad	30 h	60.00	60.00
Internet	30 h	1.00	30.00
Sub total: S/ 550.00			
Total: S/. 830.00			

6. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Meses											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. Búsqueda de bibliografía												
2. Elaboración del proyecto												
3. Revisión y firma de asesores del proyecto aprobado.												
4. Presentación del proyecto a la FMAH de la UPCH, para aprobación												
5. Presentación del proyecto al CIE de la UPCH, al para aprobación												
6. Presentación del proyecto al comité de ética del Hospital y oficinas correspondientes, para aprobación												
7. Ejecución del estudio												
8. Análisis estadístico de la información.												
9. Elaboración del informe final												
10. Publicación de trabajo												

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aydin O, et al. Platelet-Rich Plasma May Offer a New Hope in Suppressed Wound Healing When Compared to Mesenchymal Stem Cells. *J Clin Med*. 2018 jun 8;7(6).
2. 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.
3. Grand View Research. Platelet Rich Plasma (PRP) Market Analysis By Product (Pure, Leukocyte-Rich, Leukocyte-Rich Fibrin), By Application (Orthopedics, Cosmetic Surgery, Ophthalmic Surgery, Neurosurgery), And Segment Forecasts, 2018 – 2025. Market Research Report 2017:1-7
4. Hussain N, Johal H., Bhandari M. An evidence-based evaluation on the use of platelet rich plasma in orthopedics – a review of the literature. *SICOT J*. 2017; 3:57
5. Cerletti, C. Tamburrelli, B. Izzi, F. Gianfagna, and G. de Gaetano, “Platelet-leukocyte interactions in thrombosis,” *Thrombosis Research* 2012;129(3):263–266
6. Ghoshal K., Bhattacharyya M. Overview of Platelet Physiology: Its Hemostatic and Nonhemostatic Role in Disease Pathogenesis. *The Scientific World Journal* 2014:1-6
7. Balbaa M. Importance of Growth Factors. *Biochem Physiol* 2013;2(4):1-3
8. Amable P, Carias R, Teixeira M, da Cruz Pacheco I, 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(3):67.
9. Lacoste, *et al.*. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombina on endothelial cell proliferation and growth factor release. *Periodontal* 2003; 74(10):1498-507.
10. Arnoczky S, Sheibani-R: The basic science of platelet-rich plasma (PRP): What clinicians need to know. *Sports Med Arthrosc* 2013; 21: 180-185
11. Yin W, *et al.* Optimization of pure platelet-rich plasma preparation: A comparative study of pure platelet-rich plasma obtained using different centrifugal conditions in a single-donor model. *EXPERIMENTAL AND THERAPEUTIC MEDICINE* 2017;14: 2060-2070.
12. Mazzocca A, McCarthy M, Chowaniec D, Cote M, Romeo A, Bradley J, Arciero R, Beitzel K: Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94: 308-316

13. Magalon J, *et al.* Characterization and comparison of 5 platelet-rich plasma preparations in a single-donor model. *Arthroscopy* 2014;30: 629-638.
14. Roh Y, Kim W, Park K, Oh J. Cytokine-release kinetics of platelet-rich plasma according to various activation protocols. *Bone Jt Res.* 2016 feb;5(2):37–45
15. McCarrel T, Minas T, Fortier L: Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy. *J Bone Joint Surg Am.* 2012;94(19):1–8
16. Misso S, Feola B, Marotta C, Graziano D, Fratellanza A, Minerva V, *et al.* Sottopopolazioni leucocitarie in concentrati piastrinici da aferesi e da plasma ricco di piastrine. *La trasfusione del sangue.* 2001;46(4):258–262.
17. Ehrenfest D, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) *Trends Biotechnol.* 2009;27(3):158–167
18. Jo C, Roh Y, Kim J, Shin S, Yoon K. Optimizing platelet-rich plasma gel formation by varying time and gravitational forces during centrifugation. *J Oral Implantol.* 2013; 39:525–32.
19. Tamini F, Montalvo S, Tresguerres I, , Blanco Jerez L. A comparative study of 2 methods for obtaining platelet rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007; 65:1084–93
20. Kececi Y, Ozsu S, Bilgir O. A cost-effective method for obtaining standard platelet-rich plasma. *WOUNDS.* 2014; 26:232–8
21. Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Klüter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2002; 31:615–9.
22. Matadamas C, Hernández J, Pérez C, Majluf C. Alteraciones plaquetarias en la diabetes mellitus tipo 2. *Arch. Cardiol. Méx* 2009;79(2):102-108
23. Puig M. Función plaquetaria e hiperglucemia en el síndrome coronario. *Rev Esp Cardiol* 2014; 67:22-7
24. Etulain J, Mena H, Meiss R, Frechtel G, Gutt S, Negrotto S, Schattner M. An optimised protocol for platelet-rich plasma preparation to improve its angiogenic and regenerative properties. *Nature research* 2018;8(1513):1-15
25. MINSA. Resolución Ministerial N° 241-2018/MINSA NT N° 016 — MINSA / DGSP — V.01 Sistema de Gestión de la Calidad del Programa Nacional de Hemoterapia y Banco de Sangre (PRONAHEBAS) "Formatos y Registros"2018.