



**CURACIÓN AVANZADA DE ÚLCERAS CRÓNICAS REFRACTARIAS MEDIANTE
LIBERACIÓN TRANSDÉRMICA DE FACTORES DE CRECIMIENTO Y
MOLÉCULAS BIOACTIVAS.**

Reporte de Caso.

Dubraska Suárez-Vega¹, Gladys Velazco de Maldonado², Ana María Velazco²

- 1. Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Departamento de Investigación.
Centro de Investigaciones Odontológicas. Mérida-Venezuela.**
- 2. Universidad de Los Andes. Facultad de Odontología. Cátedra de Materiales Dentales.
Centro de Investigaciones Odontológicas. Mérida-Venezuela.**

Email: dubraskitasuarez@gmail.com. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1648-417X>

CORRESPONDENCIA: Msc. Dubraska Suárez. Facultad de Odontología. Edificio del Rectorado. Calle 23, entre Avenidas 2 y 3, Departamento de Investigación, Universidad de Los Andes, Mérida (5101), Venezuela. Tel/Fax. 00(58) 274-2402379.

RESUMEN:

Proponemos un protocolo de curación avanzada de úlceras crónicas aplicando fibrina rica en plaquetas inyectable, plasma gel, membrana de quitosano y procaína para la bioestimulación del tejido bajo el esquema de repolarización celular con liberación transdérmica de factores de

*Recibido: 25\9\2019
Aceptado: 10\10\2019*



crecimiento y glicosaminoglicanos, en un paciente con úlcera refractaria por inyección iatrogénica en brazo. El paciente fue remitido del servicio de cirugía general a la consulta solicitando la cicatrización por segunda intención. La úlcera fue tratada anteriormente con técnicas convencionales de curación más una intervención para autotransplante de dermis al área ulcerada, estrategias fallidas para la reepitelización del área. El hemograma de control mostró normalidad y el cultivo bacteriológico fue negativo. Se estableció como diagnóstico “úlceras crónicas refractarias de origen iatrogénico estadio II por inyección inadecuada de fármaco” en extremidad superior izquierda. La terapéutica diseñada consistió en la limpieza de la herida, desbridamiento del tejido, cicatrización húmeda, bioestimulación de tejido de granulación y posterior reepitelización. En cada sesión una vez asegurada la limpieza de la úlcera, los bordes de la herida eran infiltrados con procaína al 2% para repolarización celular haciéndolo más receptivo al tratamiento; seguidamente se realizaban micro-inyecciones de fibrina rica en plaquetas líquida en la úlcera, se irrigaba el área interior con fibrina rica en plaquetas y finalmente se cubría toda el área de la úlcera con plasma gel cargado con antibiótico, a procurando cobertura total a modo de apósito, cubriendo el área con gasa estéril. Las primeras curaciones se realizaron cada 72 horas hasta la semana 3 y posteriormente semanalmente. Se realizó seguimiento de la evolución de la úlcera por 14 semanas, lapso en el cual se observó la reepitelización completa de la úlcera.

PALABRAS CLAVE: úlceras por presión, úlceras heridas crónicas, curación avanzada de heridas crónicas, fibrina rica en plaquetas inyectable, plasma gel, Andamio tisular.



ADVANCED CURE OF REFRACTORY CHRONIC ULCERS THROUGH TRANSDERMAL RELEASE OF GROWTH FACTORS AND BIOACTIVE MOLECULES

ABSTRACT:

We propose an advanced cure protocol for chronic ulcers by applying injectable platelet-rich fibrin, plasma gel, chitosan membrane and procaine for biostimulation of the tissue under the cellular repolarization scheme with transdermal release of growth factors and glycosaminoglycans, in a patient with ulcer refractory by iatrogenic injection in arm. The patient was referred from the general surgery service to the consultation requesting healing by second intention. The ulcer was previously treated with conventional healing techniques plus an intervention for autotransplant from the dermis to the ulcerated area, failed strategies for reepithelialization of the area. The control blood count showed normality and the bacteriological culture was negative. The diagnosis was "chronic refractory ulcer of iatrogenic origin stage II due to inadequate injection of drug" in the left upper extremity. The designed therapy consisted of wound cleaning, tissue debridement, wet healing, biostimulation of granulation tissue and subsequent re-epithelialization. In each session, once the ulcer was cleaned, the edges of the wound were infiltrated with 2% procaine for cellular repolarization, making it more receptive to treatment; Next, micro-injections of liquid fibrin rich in liquid platelets were made in the ulcer, the inner area was irrigated with platelet-rich fibrin and finally the entire area of the ulcer was covered with plasma gel loaded with antibiotic, seeking total coverage in the manner of dressing, covering the area with sterile gauze. The first cures were performed every 72 hours until week 3 and then weekly. The evolution of the ulcer was monitored for 14 weeks, during which the complete reepithelialization of the ulcer was observed.

KEY WORDS: Pressure ulcers, chronic wound ulcers, advanced chronic wound healing, injectable platelet rich fibrin, plasma gel, tissue scaffold.

Recibido: 25\9\2019

Aceptado: 10\10\2019

INTRODUCCIÓN

Por definición las heridas crónicas son aquellas que se han detenido en la fase inflamatoria debido a un desbalance entre los factores de crecimiento y las proteínasas (1). La fisiopatología de la persistencia o recurrencia de las úlceras se atribuye principalmente a la hipoxia (oxígeno por debajo de 40mmHg) que provoca daño tisular enlenteciendo la producción de colágeno. Esta isquemia del tejido incrementa el riesgo a infecciones de la herida, pues el sistema inmunológico genera un exudado en la herida como defensa en el control microbiológico, mecanismo fallido que no logra controlar la carga bacteriana progresando a la colonización crítica o microbiana no controlada (2).

Además, los neutrófilos pueden extender y agudizar la lesión tisular por la liberación de proteasas y especies reactivas de oxígeno, lo cual bloquea la producción factores de crecimiento retrasando la migración de los fibroblastos hacia las capas más superficiales

(3). Asimismo, la persistencia de un tejido necrótico en la herida retrasa la cicatrización, ya que la migración de queratinocitos y fibroblastos está inhibida por el incremento de las citoquinas y mediadores de la inflamación; hay constante liberación de endotoxinas de la úlcera; los fibroblastos son seniles e insensibles a ciertas citoquinas y factores de crecimiento aumentando la apoptosis; procesos que perpetúan un círculo vicioso que mantiene abierta la herida (1).

Las úlceras cutáneas crónicas suponen una entidad patológica de complejo y difícil abordaje por los múltiples factores que pueden ralentizar su curación. Imponen un desafío sustancial a los apósitos para heridas convencionales y exigen el desarrollo de modalidades novedosas y avanzadas de curación de heridas. No obstante el protocolo para su curación hasta el momento sigue inclinándose al empleo de apósitos que idealmente deberían proporcionar un entorno húmedo para heridas, ofrecer protección contra infecciones secundarias, eliminar el exudado de la herida y estimular la regeneración de tejidos (4).

Dentro de las estrategias para acelerar la curación de heridas ulceradas destaca el empleo de biomateriales, tejidos y células de origen autólogo y de carácter bioactivo empleados como scaffolds biológicos, siendo la fibrina rica en plaquetas parte de este arsenal que induce eficientemente la regeneración tisular (5) cuyas potencialidades en dicha área aún siguen descubriéndose. Algunos investigadores avocados a su empleo en la curación de heridas han reportado su efecto regenerador en tejidos y mucosas (6) con especial utilidad en heridas dérmicas recalcitrantes o crónicas de difícil curación (7).

Esta aplicación clínica de la Fibrina rica en plaquetas en úlceras crónicas ha sido exitosa empleándosele como matrices en forma de biogeles (8), membranas (9, 10) y parches (11,12). Su efecto promotor en la curación de úlceras dérmicas ha sido atribuido a la *bioestimulación tisular* o activación del entorno de la herida a través de la liberación de factores de crecimiento provenientes de los gránulos alfa plaquetarios (PDGF, TGF- β

beta, FGF, KGF, IGF-I y VEGF.) que contribuyen al proceso de epitelización (8), mediando en la comunicación intercelular al unirse a los receptores de superficie de las células, activando cascadas de señalización intracelular que resultan en migración, proliferación o diferenciación (13), dirigida y controlada que activa las funciones anabólicas de células y tejidos para propiciar principalmente la angiogénesis (14) , colagenesis e incluso la adipogénesis en la piel humana (15). Se ha reseñado que una vez en contacto con la matriz extracelular de la dermis, el PRP estimula la síntesis de colágeno II, III y IV, de elastina y ácido hialurónico. Todos estos eventos biológicos finalmente conducen a la curación por segunda intención de las úlceras tratadas (16).

La fibrina rica en plaquetas empleada como matriz biológica además de lo reseñado cumple con varios propósitos, mecánicamente fungir como un apósito o membrana de aislamiento transitorio de la herida con el medio ambiente, pero también es una matriz que sirve de soporte para la proliferación y migración celular. Además se



comporta como un potente antimicrobiano local dentro de la úlcera al estimular el péptido beta defensina 2 por estimulación primera de los queratinocitos (17), e inactivar el metaloproteínas, pues la sobreproducción de metaloproteínas degrada las proteínas de la matriz extracelular e inactiva los factores de crecimiento, por lo cual agregar matrices ricas en factores plaquetarios crea un ambiente protector de los factores de crecimiento locales de la herida y estimula la formación de tejido de granulación requisito fundamental para la curación.

Sin embargo en muchas ocasiones se hace necesario reducir la factibilidad de reinfeción de la herida, para lo cual contribuye enormemente la disposición de membranas o películas biodegradables que potencien el cierre de la úlcera o su completa reepitelización. En cuanto a estas matrices, un biomaterial empleado para la regeneración tisular desde hace varios años, muy versátil y dotado de numerosas propiedades biológicas es el Quitosano. Este biopolímero heterólogo es bien conocido en la literatura por sus

numerosos efectos biológicos, como la mucoadhesión y el aumento de la permeación, la actividad antimicrobiana y la acción hemostática y analgésica. También está dotado de un efecto de promoción de la cicatrización de heridas, debido a su capacidad para mejorar el factor de crecimiento y la expresión de citoquinas, y para promover la estabilidad de los factores de crecimiento (3).

Hasta el momento no se ha hallado evidencia científica del empleo de la fibrina rica en plaquetas, el plasma gel y membrana de quitosano en conjunto y/o secuencialmente empleados como andamios o scaffolds para la curación avanzada de úlceras crónicas refractarias. Razón por la cual buscando aprovechar la potencialidad de estos productos biológicos en el restablecimiento de la homeostasis tisular local de la úlcera, los autores del presente caso clínico proponemos una forma alternativa para la curación avanzada de heridas ulceradas crónicas, refractarias a tratamientos incluso de autotransplante.

El protocolo propuesto en el presente caso clínico consiste en aplicar fibrina rica en plaquetas, plasma gel y membrana de quitosano para la bioestimulación del tejido a través de la liberación transdérmica de factores de crecimiento y glicosaminoglicanos, ambos elementos fundamentales en procesos de regeneración tisular.

En ese tenor el objetivo del presente caso es evidenciar el efecto clínico de la fibrina rica en plaquetas, plasma gel y membrana de quitosano como andamios para la curación exitosa de úlcera crónica refractaria iatrogénica en extremidad superior reportada.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Paciente masculino de 53 años de edad, ASA I o sistémicamente sano con antecedente de atopia, quien fue remitido por el servicio de cirugía general del Hospital Universitario de la Universidad de los Andes (IAHULA) en Mérida para la cicatrización de úlcera por segunda intención. En el informe médico

referenciado se indicó que se trataba de una úlcera crónica en extremidad superior izquierda, cuyo origen fue a partir de la infiltración iatrogénica de AINE (diclofenac sódico) en el brazo del paciente.

De acuerdo con la historia médica del paciente la úlcera había sido tratada con técnicas convencionales intrahospitalarias de curación, que consistían en el desbridamiento, limpieza cada dos días de la úlcera, y gasa oclusiva del área, pero el tratamiento fue infructuoso para el cierre definitivo de la herida, por lo cual el paciente además fue intervenido quirúrgicamente para injertar tejido a través de un autotransplante de dermis al área ulcerada, estrategia que también resultó fallida y no logró reepitelizar el área afectada. De acuerdo con el relato del paciente la lesión le generaba una dermatitis atópica cuyo rascado intenso interfirió con la curación de la úlcera dejando cicatrices hipertróficas alrededor de la úlcera.

Posterior al interrogatorio se realizó la inspección clínica de la herida. Se observó una lesión con pérdida de sustancia cuya

profundidad exponía hipodermis en algunos sectores, observándose en el fondo de la lesión placas eritematosas con bordes irregulares. Se trataba de una úlcera de mediana profundidad, longitud aproximada de 12cm, localizada en extremidad superior izquierda. De acuerdo con el aspecto periférico de la úlcera y el relato del paciente, las lesiones intentaban cicatrizar dejando áreas hiperpigmentadas y cicatrices retráctiles.

Se solicitó una valoración por parte del Servicio de Cirugía Vascular, descartándose

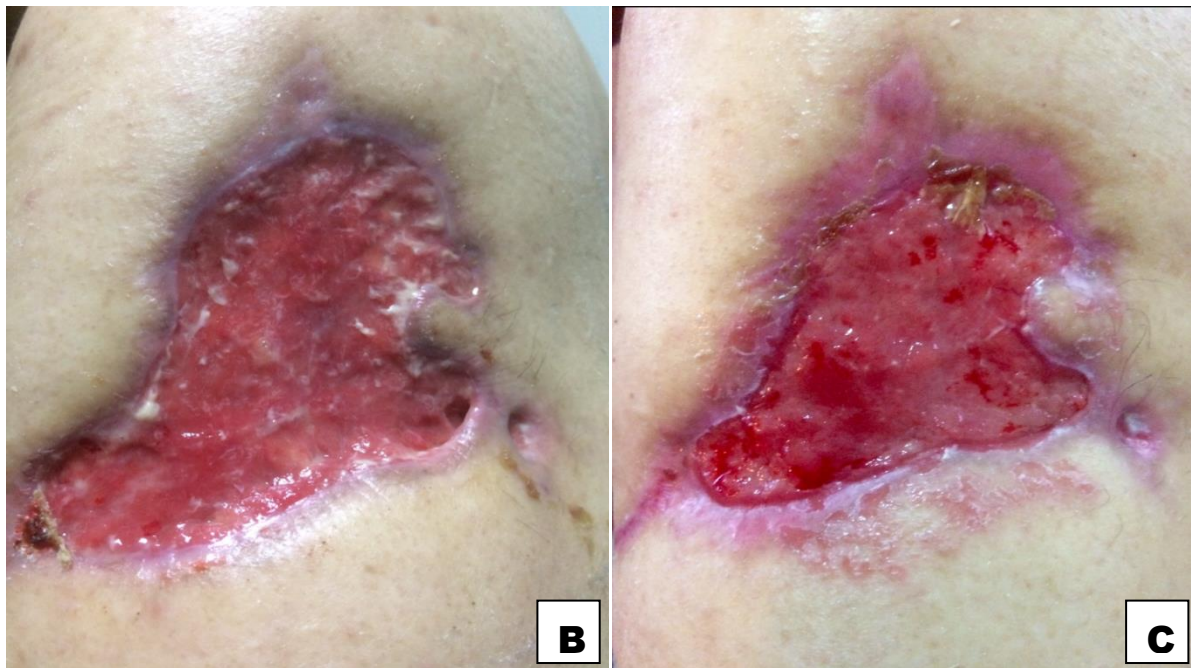
patología subyacente que complejizara el cuadro clínico. Se procedió a solicitar hemograma de rigor que arrojó valores dentro de los parámetros normales. Adicionalmente para verificar las condiciones del tejido ulcerado, se realizó toma de muestra para cultivo bacteriológico, que resultó negativo. Se estableció como diagnóstico “úlceras crónicas refractarias de origen iatrogénico estadio II por inyección inadecuada de fármaco” en extremidad superior izquierda (Figura 1).



A. Aspecto inicial de la úlcera.**Figura 1. Estado inicial de la úlcera en extremidad superior izquierda**

La terapéutica diseñada consistió en el abordaje local de la úlcera realizando limpieza de la herida, desbridamiento del tejido necrótico y avivamiento de los bordes de la herida, cicatrización húmeda, bioestimulación de tejido de granulación y

posterior reepitelización. Las sesiones de curación avanzada inicialmente se realizaron cada 72 horas hasta la semana 3, lo cual bioestimuló suficientemente al tejido tomando mejor aspecto y comenzado a reducir su diámetro (Figura 2).

**B. Semana 1****C. Semana 4****Figura 2. Aspecto de la úlcera a las semanas 1 y 4 de iniciado el protocolo de limpieza mecánica y andamiaje tisular**

En cada sesión una vez asegurada la limpieza de la úlcera, los bordes de la herida eran

infiltrados con procaína al 2% para repolarización celular haciéndolo más receptivo al tratamiento; seguidamente se realizaban microinyecciones de fibrina rica en plaquetas líquida (iPRF) en úlcera y sus bordes, se irrigaba el área interior de la úlcera con iPRF, el cual gelificaba dentro de la

herida y finalmente se cubría toda el área de la úlcera con plasma gel (Figura 3), a procurando cobertura total a modo de apósito biológico, cubriendo finalmente el área con compresa oclusiva usando gasa estéril envaselinada hasta la siguiente cura.

Figura 3. Andamios autólogos aplicados en la regeneración de la úlcera.

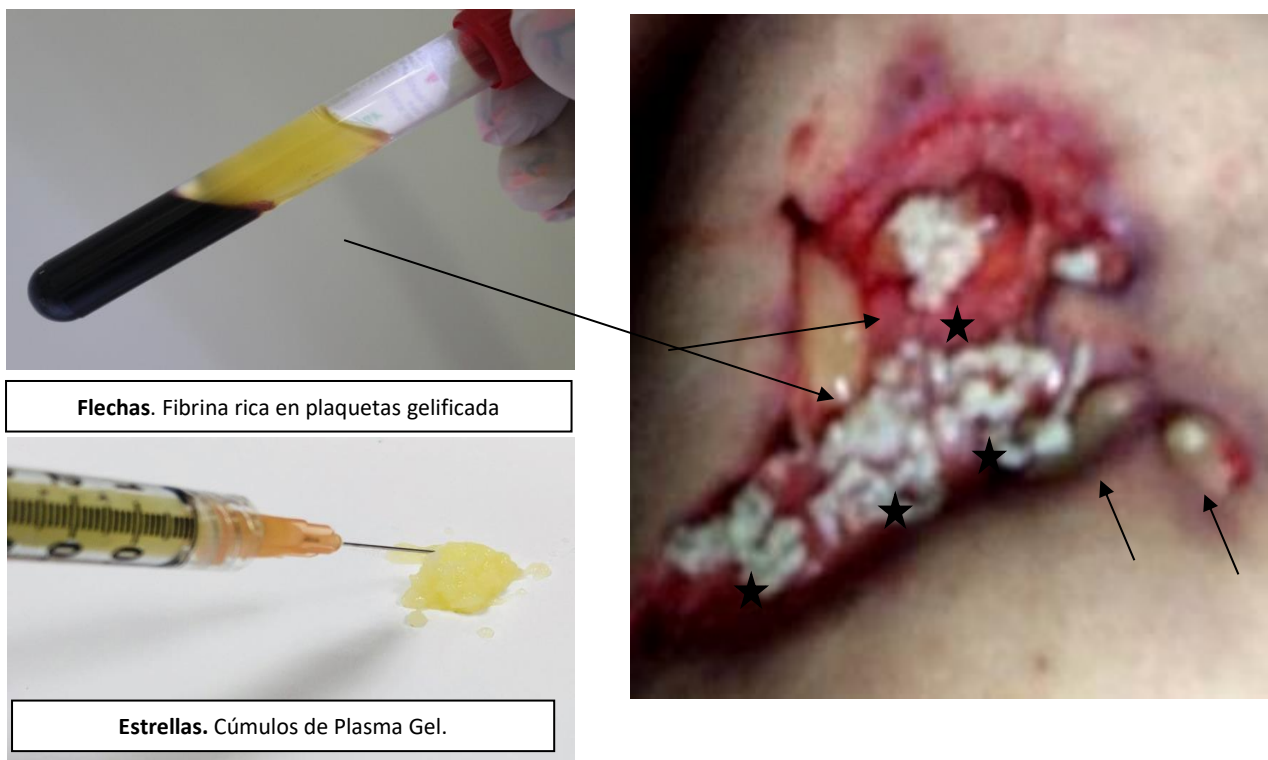
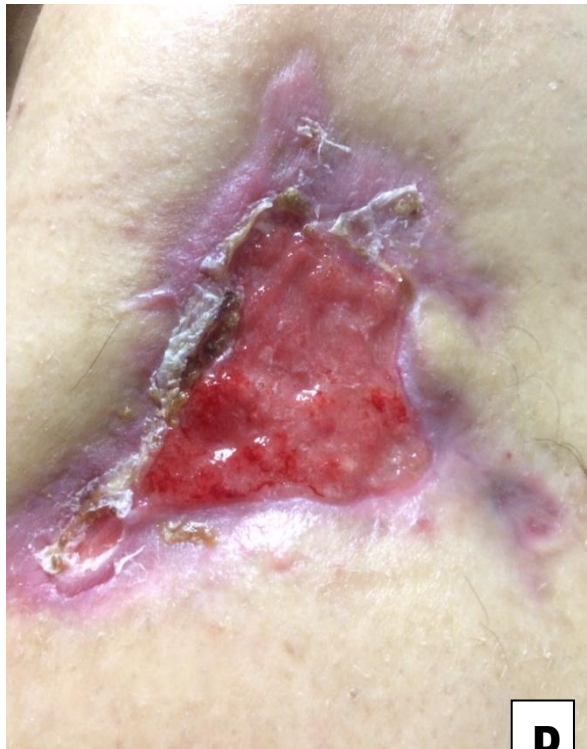


Figura 3. Andamios autólogos aplicados en la regeneración de la úlcera

La evolución de la ulcera fue favorable, la cual a partir de la semana 5 se tornó menos

eritematosa, disminuyó considerablemente su profundidad y continuó reduciéndose en diámetro hasta la semana 9 (Figura 4).



D. Semana 6



E. semana 8

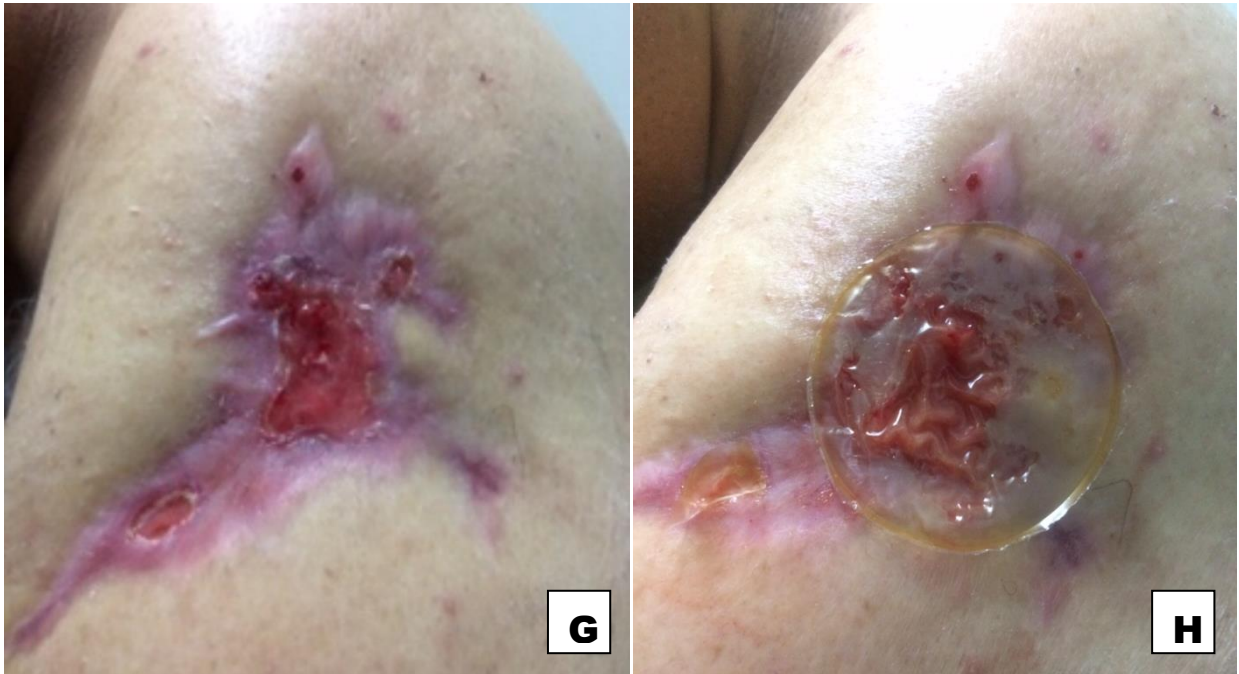


F. Semana 9

Figura 4. Evolución de la úlcera. Seguimiento a las 6 y 9 semanas con protocolo de andamiaje

En vista de esta evolución positiva, a partir de la semana 4 las sesiones de curación se distanciaron, siendo realizadas con frecuencia semanal, momento a partir del cual se modificó el protocolo, retirándose la aplicación del plasma gel, se continuó

aplicando la procaína y la fibrina rica en plaquetas y se incorporó como matriz bioactiva la colocación de membrana de quitosano, tal como se observa en la Figura 5-H, cubriendo la úlcera previamente tratada con iPRF y procaína.



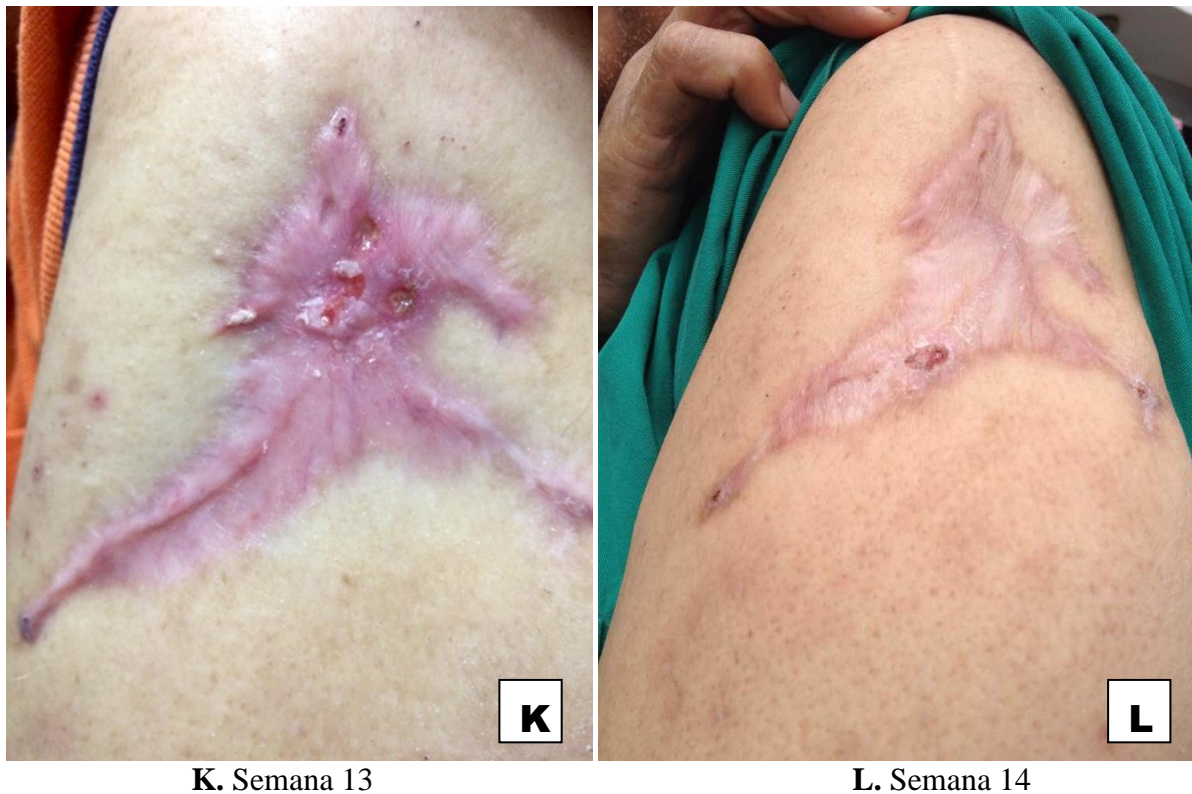
G. Semana 10. H. Semana 10. Adhesión de la membrana bioactiva de quitosano al tejido de la úlcera.



Figura 5. Reducción de la úlcera tratada con iPRF, procaína y membrana de quitosano

Se realizó seguimiento de la úlcera con un notable cierre progresivo de la misma con mayor rapidez desde la semana 10 (Figura 5) hasta la semana 14, lapso al final del cual se observó la reepitelización completa de la úlcera (Figura 6).

Figura 6. Resolución final de la úlcera



DISCUSIÓN

En esta década, se ha logrado un gran progreso en el campo de la regeneración de órganos y tejidos mediante la incorporación

de conceptos emergentes de los campos de la biología, incorporando el empleo de células madre, biomateriales autólogos y principios



bioactivos, progresos que abrieron una nueva frontera en la medicina regenerativa. Más recientemente, se ha logrado la regeneración de un sistema de órganos integumentarios, lo que demuestra que la medicina regenerativa está próxima al uso potencial de estos logros recientes y las direcciones futuras necesarias para realizar la próxima generación de terapia regenerativa para el reemplazo de órganos (18).

De estas emergentes tendencias el empleo de concentrados plaquetarios para tales fines ha sido ampliamente estudiado con resultados alentadores. Apoyándose en estos estudios (8-12) se decidió abordar el caso de un paciente con úlcera crónica en extremidad superior izquierda refractaria al tratamiento convencional y con rechazo de injerto de dermis autotransplantado al área ulcerada. El protocolo consistió en una terapéutica novedosa constituida por el empleo de un sistema de andamiajes bioactivos (I-prf, plasma gel y membrana de quitosano) para la liberación de factores de crecimiento y sustancias fundamentales para la reepitelización celular. Posterior al

seguimiento del presente caso clínico, se puede atribuir que la regeneración tisular observada en el paciente se debe en gran parte a la bioestimulación celular promovida por los concentrados plaquetarios, pudiéndose incluir como parte fundamental del protocolo habitual de curación avanzada de heridas abiertas, especialmente de úlceras crónicas refractarias.

Esta propuesta cuyo seguimiento clínico resultó exitoso como se reporta en el presente artículo, coincide con el protocolo de curación de úlceras crónicas en dermis propuesto por la Sociedad Argentina de Dermatología, quienes han convenido que el empleo del plasma rico en plaquetas como parte de la curación e indican que debe colocarse sobre la herida a tratar seguido de una cura oclusiva que se destapa a los 4-5 días para continuar posteriormente con los convencionales cuidados avanzados de heridas, aunque este procedimiento de acuerdo con los autores puede repetirse en el curso del tratamiento y también puede usarse conjuntamente con el injerto de piel y/o pinch



graft para asegurar la viabilidad del mismo (1).

Ubillos y cols. reportaron similares resultados empleando factores de crecimiento de venta comercial en úlceras refractarias al tratamiento con cura avanzada de heridas, a las cuales le inyectaron de forma complementaria al protocolo habitual factor estimulante de colonias de granulocitos. Las inyecciones se realizaron en piel periférica de la úlcera semanalmente, dos series de cuatro inyecciones; terapia que produjo la reducción en el área de las mismas alcanzándose la cicatrización total en un paciente y una reducción del 37% en el otro (19).

Por otro lado, el lapso de curación observado en el presente caso clínico se asemeja al lapso de las 11 Semanas de evolución reportadas por Trevissón y cols. quienes lograron en ese lapso una úlcera cicatrizada, pequeña herida de 0,1 cm de diámetro que continuó su curación espontánea. El protocolo empleado en este incluyó antiséptico tópico y vendaje con descarga, finalizando las curas con

coágulo de fibrina realizando 7 curas con distancia de 5 días (20).

Otras propuestas regenerativas a estos fines postulan al quitosano, un polisacárido que contiene en su estructura glicosaminoglicanos. Mo y cols. así lo refieren en su estudio clínico prospectivo sobre la seguridad y la eficacia de un quitosano como apósito para facilitar la curación de heridas crónicas que no cicatrizan, entre ellas úlceras por presión, úlceras vasculares, úlceras del pie diabético y heridas con infecciones leves o con riesgo de infección. De acuerdo con estos autores, la aplicación de apósitos de quitosano mejora la progresión de la herida hacia la curación, al facilitar la reepitelización de la herida y reducir el nivel de dolor de los pacientes (21). Cuando se aplica en las heridas, controlan las metaloproteinasas de matriz (MMP) y las actividades de la mieloperoxidasa (MPO), el estrés oxidativo y la contaminación bacteriana. Tiene actividad antioxidante superior al 90% y una inhibición de la MPO y la colagenasa en hasta un 98 %. Muestra una alta biocompatibilidad con los fibroblastos de

la piel humana, bioestimulándolo para la formación de colágeno y elastina, y permite que las células proliferen y se diferencien, acelerando el proceso de cicatrización (22).

Por esta mimesis biológica, el quitosano se ha empleado con éxito en reepitelización con buena elasticidad, así que en membrana o vendaje es capaz de absorber gran cantidad de exudado y agua que lo transforman en un gel caracterizado por sus propiedades reológicas que permiten tanto un lubricante como un efecto protector, por lo cual no solo se reabsorbe sino que su duración es lo suficiente para que conserve sus propiedades mecánicas óptimas a la proliferación celular mientras mantiene la actividad antioxidante en fibroblastos humanos (23). Así mismo, el quitosano ha sido empleado en el tratamiento local de heridas; se usa en forma de crema, gel o gasa impregnada para promover la curación, inclusive combinándole con plasma rico en plaquetas en curaciones complejas retrasadas por trastornos metabólicos como la diabetes (24). Por lo cual su inclusión en el protocolo del presente caso se fundamentó en la evidencia científica que avala su uso para

finés regenerativos, aunque es la primera vez que se reporta un caso tratado con el protocolo particular de membrana de quitosano posterior a la bioestimulación con concentrados plaquetarios.

También se le atribuye al quitosano las propiedades terapéuticas de reestructuración tisular pues tiene en su composición glicosaminoglicanos que son sustancias primordiales halladas en *la matriz extracelular*, lo cual lo convierte en un andamio o entorno que facilita y potencia el acoplamiento de moléculas y proteínas de señalización celular encargadas de codificar para la producción de sustancias elementales de sostén y para la bioestimulación de factores de crecimiento y otras sustancias implicados en la regeneración de los tejidos (25).

El efecto observado en el paciente del presente caso se atribuye a la remodelación del tejido inducida por las propiedades bioactivas del sistema de andamiaje basado en los 3 biomateriales: la fibrina rica en plaquetas, el plasma gel y en su fase final, la

membrana de quitosano. Con el empleo combinado de los andamios indujo una serie de eventos biológicos propios de la *ingeniería de tejidos autóloga in vivo*. Se trata de un arsenal de biomateriales biodegradables, biocompatibles, sinérgicos y bioestimuladores, por lo cual ante los resultados evidenciados en el presente caso clínico, se sugiere desarrollar ensayos clínicos aleatorizados para extrapolar la eficacia del protocolo propuesto e indicarse en úlceras crónicas refractarias no infectadas, o incluso infectadas empleando estos andamios para la liberación controlada de antibióticos.

Finalmente debe reconocerse que disponer de estrategias terapéuticas como la expuesta en el actual caso clínico, dirigidas a disminuir los tiempos de cicatrización, empleando andamios como la fibrina rica en plaquetas, el plasma gel, y la membrana de quitosano, contribuiría en reducir los costos regulares del tratamiento, haciéndolas terapias atractivas y accesibles para los sistemas sanitarios, que impactarán positivamente en el paciente y el sistema de salud.

Recibido: 25\9\2019
Aceptado: 10\10\2019

CONCLUSIONES

De acuerdo a los hallazgos semiológicos detectados en el paciente del presente caso el diagnóstico definitivo correspondió a úlcera crónica refractaria a tratamiento convencional y con rechazo de injerto de dermis, de origen iatrogénico estadio II por inyección inadecuada de fármaco en extremidad superior izquierda.

Ante esta herida crónica el empleo de un sistema de andamiaje celular constituido por Iprf, plasma gel y membrana de quitosano resultó exitoso, por lo cual basándose en la evolución clínica del paciente, la hipótesis derivada sugiere que la administración del protocolo propuesto potenció la respuesta autóloga del tejido en el lecho de la úlcera, induciendo su cicatrización.

En consecuencia, el protocolo propuesto podría indicarse cuando se requiera solventar complicaciones derivadas de una cicatrización refractaria en heridas recalcitrantes o de difícil curación,

cumpliendo un doble propósito, fungir de apósito biodegradable de protección de la herida y acelerar la regeneración del tejido ulcerado.

REFERENCIAS

1. Villalba LI, Bilevich E, et al. Consenso sobre cicatrización de heridas. Sociedad Argentina de Dermatología 2008; 10-12. Disponible en: <http://www.sad.org.ar/wp-content/uploads/2016/04/cicatrizacion.pdf>
2. Kavala A, Turkyilmaz S. Autogenously derived regenerative cell therapy for venous leg ulcers. Arch Med Sci Atheroscler Dis. 2018; 3(1):e156-e163. DOI:10.5114/amsad.2018.81000.
3. Bonferoni M, Sandri G, Rossi S, Dellera E, Invernizzi A, Boselli C, Icaro A, Del Fante C, Perotti C, Vigani B, Riva F, Caramella C and Ferrari F . Association of Alpha Tocopherol and Ag Sulfadiazine Chitosan Oleate Nanocarriers in Bioactive Dressings Supporting Platelet Lysate Application to Skin Wounds. Mar. Drugs 2018; 16 (56): 1-19. DOI: 10.3390/md16020056.
4. Hussain Z, Ei Thu H, Nazrun Shuid A, Katas H, Hussain F. Recent Advances in Polymer-based Wound Dressings for the Treatment of Diabetic Foot Ulcer: An Overview of State-of-the-art. Current Drug Targets. 2018; 19 (5): 527-550. DOI : 10.2174/1389450118666170704132523
5. Chignon-Sicard B, Georgiou CA, Fontas E, David S, Dumas P, Ihrat T, et al. Efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin in wound healing: a randomized controlled clinical trial. Plast Reconstr Surg. 2012; 130(6):819e-29e. DOI: 10.1097/PRS.0b013e31826d1711.



6. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Hernandez M, Choukroun J. Platelet-Rich Fibrin and Soft Tissue Wound Healing: A Systematic Review. *Tissue engineering. 2016. Part B Reviews.* 23(1):83-99. DOI: 10.1089/ten.TEB.2016.0233.
7. Lundquist R, Holmstrom K, Clausen C, Jorgensen B, Karlsmark T. Characteristics of an autologous leukocyte and platelet-rich fibrin patch intended for the treatment of recalcitrant wounds. *Wound repair and regeneration.* 2013; 21(1):66-76. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2012.00870.x.
8. Suzuki S, Morimoto N, Ikada Y. Gelatin gel as a carrier of platelet-derived growth factors. *Journal of biomaterials applications.* 2013; 28(4):595-606. DOI: 10.1177/0885328212468183
9. O'Connell SM, Impeduglia T, Hessler K, Wang XJ, Carroll RJ, Dardik H. Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers. *Wound repair and regeneration.* 2008; 16(6):749-56. DOI: 10.1111/j.1524-475X.2008.00426.x.
10. Reksodiputro M, Widodo D, Bashiruddin J, Siregar N, Malik S. PRFM enhance wound healing process in skin graft. *Facial plastic surgery.* 2014; 30(6):670-5. DOI: 10.1055/s-0034-1396527
11. Jorgensen B, Karlsmark T, Vogensen H, Haase L, Lundquist R. A pilot study to evaluate the safety and clinical performance of Leucopatch, an autologous, additive-free, platelet-rich fibrin for the treatment of recalcitrant chronic wounds. *The international journal of Lower extremity wounds.* 2011; 10(4):218-23. DOI: 10.1177/1534734611426755.

12. Londahl M, Tarnow L, Karlsmark T, Lundquist R, Nielsen AM, Michelsen M, et al. Use of an autologous leucocyte and platelet-rich fibrin patch on hard-to-heal DFUs: a pilot study. *Journal of wound care*. 2015; 24(4):172–4, 6–8. DOI: 10.12968/jowc.2015.24.4.172.
13. Fernandez-Moure JS, Van Eps JL, Cabrera FJ, Barbosa Z, Medrano del Rosal G, Weiner BK, Ellsworth IV WA, Tasciotti E. Platelet Rich Plasma: a biomimetic approach to enhancement of surgical wound healing. *Journal of Surgical Research*. 2017; 207:33-44. DOI: 10.1016/j.jss.2016.08.063.
14. Zumstein MA, Rumian A, Lesbats V, Schaer M, Boileau P. Increased vascularization during early healing after biologic augmentation in repair of chronic rotator cuff tears using autologous leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF): a prospective randomized controlled pilot trial. *Journal of shoulder and elbow surgery*. 2014; 23(1):3–12. DOI: 10.1016/j.jse.2013.08.017.
15. Sclafani AP, McCormick SA. Induction of dermal collagenesis, angiogenesis, and adipogenesis in human skin by injection of platelet-rich fibrin matrix. *Archives of facial plastic surgery*. 2012; 14(2):132–6. DOI: 10.1001/archfacial.2011.784
16. Desai CB, Mahindra UR, Kini YK, Bakshi MK. Use of Platelet-Rich Fibrin over Skin Wounds: Modified Secondary Intention Healing. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery*. 2013; 6(1):35–7. DOI: 10.4103/0974-2077.110096.
17. Bayer A, Lammel J, Rademacher F, Gross J, Siggelkow M, Lippross S, et al. Platelet-released growth factors induce the antimicrobial peptide human beta-defensin-2 in primary keratinocytes. *Experimental*

- dermatology. 2016; 25(6):460-5. DOI: 10.1111/exd.12966.
18. Takeo M, Tsuji T. Organ regeneration based on developmental biology: past and future. *Curr Opin Genet Dev*. 2018; 52:42-47. DOI: 10.1016/j.gde.2018.05.008.
19. Ubillos N, Valdés B, Echarte L, Sujanov A., Agorio C, Díaz L. Tratamiento complementario de heridas crónicas con factor de crecimiento estimulante de colonias de granulocitos. A propósito de dos casos clínicos. *Rev. urug. med. interna*. 2018; 3 (1): 30-38. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S239367972018000100030&lng=es. <http://dx.doi.org/10.26445/rmu.3.1.4>.
20. Trevisión Redondo, B.; García Rodríguez. C.; Álvarez Álvarez, M. P.; González Martín, S. Evolución de úlcera digital por presión utilizando terapia plasma rico en plaquetas con coágulo, en *Revista internacional de ciencias podológicas*. 2018; 13(1), 1-6. Disponible en : <http://dx.doi.org/10.5209/RICP.62339>
21. Mo X , Cen J , Gibson E , Wang R , Percival SL . An open multicenter comparative randomized clinical study on chitosan. *Wound Repair Regen*. 2015; 23(4):518-24. DOI: 10.1111/wrr.12298.
22. Stefanov I, Pérez-Rafael S , Hoyo J , Cailloux J , Santana Pérez OO , Hinojosa-Caballero D , Tzanov T. Multifunctional Enzymatically Generated Hydrogels for Chronic Wound Application. *Biomacromolecules*. 2017; 18(5):1544-1555. DOI: 10.1021/acs.biomac.7b00111.
23. Mori M , Rossi S , Ferrari F , Bonferoni MC , Sandri G , Chlapanidas T , Torre ML , Caramella C . J Sponge-Like Dressings Based on

the Association of Chitosan and Sericin for the Treatment of Chronic Skin Ulcers. I. Design of Experiments-Assisted Development. Pharm Sci. 2016; 105(3):1180-7. DOI: 10.1016/j.xphs.2015.11.047.

24. Xu N, Wang L, Guan J, Tang C, He N, Zhang W, Fu S. Wound healing effects of a Curcuma zedoaria polysaccharide with platelet-rich plasma exosomes assembled on chitosan/silk hydrogel sponge in a diabetic rat model. Int J Biol Macromol. 2018; 117:102-107. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2018.05.066.

25. Moura LI , Dias AM , Leal EC , Carvalho L , de Sousa HC , Carvalho E . Chitosan-based dressings loaded with neurotensin-an efficient strategy to improve early diabetic wound healing. Acta Biomater. 2014; 10(2):843-57. DOI: 10.1016/j.actbio.2013.09.040.