

PREPARACIÓN DEL CGFO3 Y AISLAMIENTO DE CÉLULAS CD34+. SU APLICACIÓN EN TRAUMATOLOGÍA

Dra. Adriana Schwartz

Objetivo

El propósito de este procedimiento operativo estandarizado (SOP) es describir los procedimientos estandarizados para preparar Concentrados de Factores de Crecimiento (CGF) y Gel de Plasma rico en colágeno para aplicaciones en traumatología.

Es importante apuntar que: El **INFORME/V1/23052013 Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas con fecha de publicación: 23 de mayo de 2013** declara que:

“Atendiendo a la composición del plasma rico en plaquetas, el mecanismo de acción postulado así como a sus fines o indicaciones, **cabe considerar “la aplicación del PRP como un medicamento de uso humano”**”.

Introducción

Los Concentrados de Factores de Crecimiento es un biomaterial autólogo denominado "segunda generación de concentrado de plaquetas"

CGF es una nueva tecnología de centrifugación en gradiente y diferenciada, que hace posible la concentración y extracción de factores de crecimiento tales como: TGF- β 1, VEGF y células CD 34+.

Responsabilidades

Este SOP debe ser aplicado en un entorno clínico controlado (cámara de flujo laminar o quirófano, solamente por un médico debidamente cualificado, formado y con experiencia para llevar a cabo esta tarea. El material biológico (CGF y gel de plasma), lo puede preparar un profesional calificado en: bioquímica, biología, farmacia clínica o enfermeras, pero la infiltración y aplicación debe realizarse únicamente por un médico entrenado.

Equipamiento

a) Dispositivos e instrumentos médicos

- Medifuge Sifradent^R (centrifugadora diferencial en gradiente)
- A.P.A.G. (sistema de formación de gel y activador de colágeno)
- Generador de Ozono con fuente de oxígeno medicinal
- Pinza formadora de membrana
- Gradilla de acero inoxidable para tubos de ensayo
- Cápsula de Petri (cristal)
- Pinzas

➤ Tijeras

b) Fungibles

- Guantes estériles
- Gasas estériles
- Clorhexidina
- Manguito
- Vacutainer con palomilla, 21G
- Paño de mesa estéril
- Contenedor para desechos biológicos y no biológicos.
- Tubos de tapa roja, siliconados, esterilizados y al vacío.
- Tubos de tapa blanca, esterilizados y al vacío.
- Topes de jeringa esterilizados
- Jeringas de 20 mL
- Jeringas de 10 mL
- Jeringas de 3 mL
- Jeringas de 1 mL
- Heparina Sódica 50 UI
- Cloruro cálcico 10%
- Llave de tres pasos
- Spinocan 22G x 3 ½" 0.7 x 88 mm
- Aguja de carga IM

Preparación CGFO3

- ❖ Previo a la extracción de sangre, cargar cada tubo (10 mL) de tapa blanca con 30 UI de Heparina Sódica.
- ❖ Extracción de sangre. La cantidad de sangre a extraer será en dependencia de la articulación o zona a tratar.
- ❖ Hombro: 30-40 mL de sangre. Se obtendrán (6-8) mL de CGF.
- ❖ Codo y muñeca: 20 mL de sangre. Se obtendrán 4 mL de CGF
- ❖ Cadera: 50-60 mL de sangre. Se obtendrán (10-12) mL de CGF.
- ❖ Rodilla: 40 mL de sangre. Se obtendrán 8 mL de PRP. 4 mL x rodilla.
- ❖ Paravertebral: (40-60) mL de sangre. Se obtendrán (8-12) mL de PRP. Se infiltra (1-2) mL por punto.
- ❖ Centrifugar en el concentrador de Factores de Crecimiento, programa CGF.
- ❖ Separación de las fracciones rica y pobre en factores de crecimiento.
- ❖ Ozonizarlo a 40 µg/mL durante 30 s.
- ❖ Se carga el CGF ozonizado en jeringas de 3 cc y se colocan en la APAG bajo el programa de activación de colágeno durante 5 min.
- ❖ Una vez activado el colágeno, se activa con Cloruro Cálcico. Cada 1 mL de CGF se usa 0,05 mL (50 µL) de Cloruro cálcico al 10%. Es decir, por cada 4 mL de plasma

0,2 mL de Cloruro Cálcico. En su defecto utilizar 0,6 mL de GluCa al 10% cada 4 mL de PRP.

Extracción de las células CD34+

- ❖ Se extraen de la parte más pegada a la pared del tubo en la porción más próxima al paquete eritrocitario.
- ❖ Se rasca la pared del tubo con el fin de dejar las células en suspensión y proceder inmediatamente a su aspirado. 0.5mL de volumen por tubo. Esta sangre no se anticoagula, no se activa con ClCa y no se ozoniza. Las CD34+ son células muy sensibles, así es que no se tratan con nada.
- ❖ Proceder a mezclar estas células con el CGFO3 preparado. Listo para infiltrar.

PROGRAMA DE CENTRIFUGACIÓN

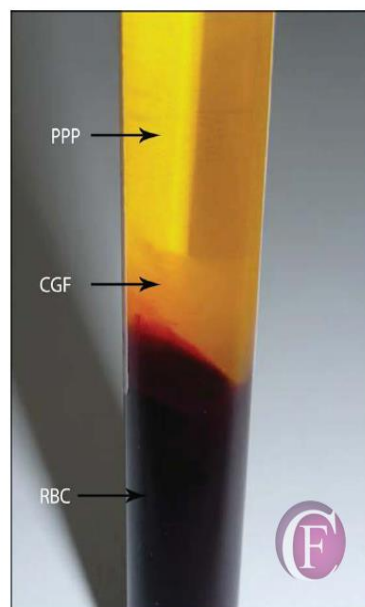
- ❖ 36 seg de aceleración de 0 a 1800-2700 rpm a RCF 150-600
- ❖ 2 Min 2700 rpm a RCF : 600
- ❖ 4 Min 2400 rpm a RCF : 500
- ❖ 4 Min 2700 rpm a RCF : 600
- ❖ 3 Min 3000 rpm a RCF : 750
- ❖ 36 seg. desaceleración de 3000 a 0 rpm a una RCF : 150

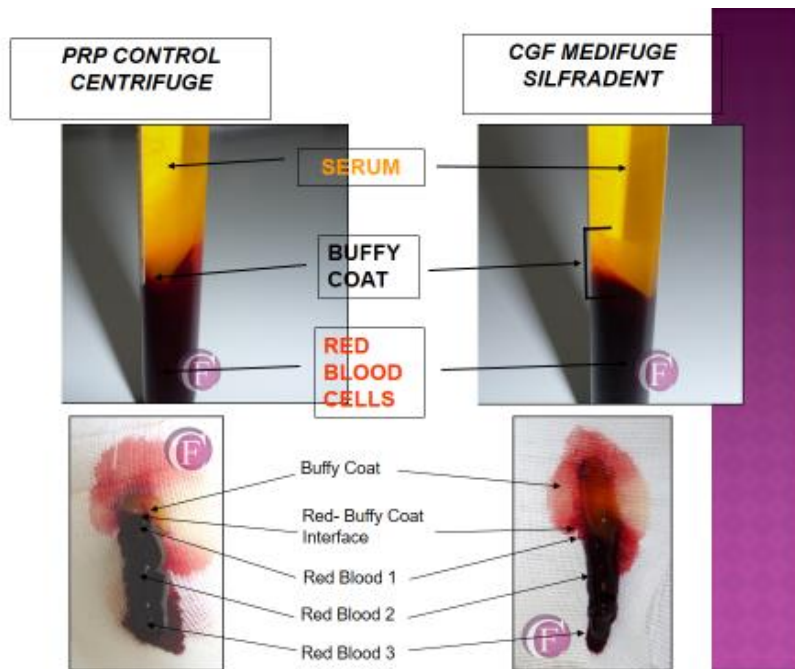
RELATIVE CENTRIFUGAL FORCE « RCF »

$RCF = F_c / F_g$

F_c = Gravity Force

F_g = Centrifugal Force





Papel del anticoagulante. Sobre el rendimiento. Comparativa

<u>Método</u>	<u>Anticoagulante</u>	<u>Centrifugación</u>	<u>Recuento de plaquetas X 103 /μL</u>
<u>RegenLab[®] (Sweden)</u>	<u>Adenosin-citrate-dextrose-acid (ACD-A).</u>	<u>300 g x 5 min</u>	<u>390.6</u>
<u>CHU de Liège (Belgium)</u>	<u>Sodium citrate 3.2%</u>	<u>180 g x 10 min</u>	<u>447.8</u>
<u>GPS II[®] (USA)</u>	<u>Adenosin-citrate-dextrose-acid (ACD-A).</u>	<u>180 g x 15 min</u>	<u>447.0</u>
<u>Curasan[®] (Germany)</u>	<u>Citrate-phosphate-dextrose-adenosine (CPDA)</u>	<u>1000 g x 10 min</u> <u>23 000 g x 15 min</u>	<u>693.8</u>
<u>Plateltex[®] (Slovakia)</u>	<u>Citrate-phosphate-dextrose-adenosine (CPDA)</u>	<u>180 g x 10 min</u> <u>1000 g x 10 min</u>	<u>864.6</u>

Kaux, J. F., Le Goff, C., Seidel, L., Peters, P., Gothot, A., Albert, A. & Crielaard, J. M. (2011) (Comparative study of five techniques of preparation of platelet-rich plasma). Pathol. Biol. Paris 59,157-60

Todo el material tanto fungible como de equipamiento lo puede adquirir en

www.medizeus.com

Tel: 645390796

Mail: medizeussl@gmail.com