



# **UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL**

**DIRECCIÓN DE POSGRADO  
MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGIA MOLECULAR**

**TESIS PRESENTADA PARA OPTAR EL GRADO  
ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGÍA  
MOLECULAR**

**“CARACTERIZACIÓN BIOMECÁNICA Y  
MOLECULAR DEL PLASMA GEL PLAQUETARIO  
COMO RELLENO FACIAL AUTÓLOGO”**

**AUTOR: Dr. CÉSAR HENRY FREIRE SEMANATE**

**TUTOR: Dr. RICARDO SILVA BUSTILLOSPH.D.**

**GUAYAQUIL – ECUADOR**

**MAYO - 2017**

<b>REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA</b>		
<b>FICHA DE REGISTRO DE TESIS</b>		
<b>TÍTULO Y SUBTÍTULO:</b> CARACTERIZACION BIOMECAÁNICA Y MOLECULAR DEL PLASMA GEL PLAQUETARIO COMO RELLENO FACIAL AUTÓLOGO.		
<b>AUTOR:</b> Dr. CÉSAR HENRY FREIRE SEMANATE	<b>TUTOR:</b> PhD. RICARDO SILVA BUSTILLOS	
	<b>REVISORES:</b> BIOL. GABRIEL MOREY LEÓN, MSc.	
<b>INSTITUCIÓN:</b> Universidad de Guayaquil	<b>FACULTAD:</b> Dirección de Posgrado	
<b>CARRERA:</b> Maestría en Biotecnología Molecular		
<b>FECHA DE PUBLICACIÓN:</b> MAYO 2017	<b>No. DE PÁGS:</b> 95	
<b>TÍTULO OBTENIDO:</b> MAGÍSTER EN BIOTECNOLOGIA MOLECULAR		
<b>ÁREAS TEMÁTICAS:</b> 72 Medicina		
<b>PALABRAS CLAVE:</b> Factores de Crecimiento, Plasma Rico en plaquetas, Rellenos inyectables, Valoración Biomecánica, Evaluación facial		
<b>RESUMEN:</b> Se establecieron métodos para la obtención, caracterización y valoración del plasma gel plaquetario obtenido de la sangre propia del paciente y se demostró que un producto autólogo, económico, fácilmente obtenible puede ser tan eficaz o mejor que un producto comercial (heterólogo, caro y no seguro) para relleno facial, en beneficio del usuario. El proyecto consta de tres etapas: 1.- Elaboración experimental en donde se implementaron procedimientos para estandarizar la obtención del Plasma Gel Plaquetario, 2.- Caracterización mediante ensayos biométricos para evaluar las propiedades viscoelásticas, con parámetros reológicos como módulos de viscosidad, elasticidad, fase angular, velocidad de cizallamiento. 3.- Evaluación de su durabilidad in-vitro para ello se evaluó el plasma gel plaquetario en: ambiente abierto y cerrado, se comprobó las formas de conservación en el lapso del tiempo en condiciones estandarizadas. Los resultados de este estudio nos permitieron normalizar procesos de producción de este biomaterial, aportando una reducción de costos al usuario con otros productos similares de relleno de la industria estética y este producto una vez caracterizado se pueda mejorar.		
No. DE REGISTRO (en base de datos):	No. DE CLASIFICACIÓN:	
DIRECCIÓN URL (tesis en la web):		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO
CONTACTO CON AUTOR/ES	Teléfono: 0991639453	E-mail: henfre@hotmail.com
CONTACTO EN LA INSTITUCIÓN:	Nombre: Dirección de Posgrado	
	Teléfono: 2325530-38 Ext. 117	
	E-mail: posgradoug@ug.edu.ec	

## CERTIFICADO DEL TUTOR

En mi calidad de tutor del Programa de Maestría en Biotecnología Molecular, nombrado por el Director General de la Unidad de Posgrado, Investigación y Desarrollo, CERTIFICO: que he analizado la Tesis presentada, como requisito para optar el grado académico de Magíster en Biotecnología Molecular, titulada: Caracterización biomecánica y molecular del plasma gel plaquetario como relleno facial autólogo, la cual cumple con los requisitos académicos, científicos y formales que demanda el reglamento de posgrado.

Firma



---

Guayaquil, 26 de mayo del 2017

Ricardo José Silva Bustillos

N° de cédula: 0959586132

## CERTIFICADO DEL TUTOR

### INFORME DE ANTIPLAGIO DEL PROGRAMA URKUND

Yo, Dr. RICARDO SILVA BUSTILLOS PhD., tutor de la tesis: "CARACTERIZACIÓN BIOMECÁNICA Y MOLECULAR DEL PLASMA GEL PLAQUETARIO COMO RELLENO FACIAL AUTÓLOGO" presentada por el alumno CESAR HENRY FREIRE SEMANATE, portador de la cédula de ciudadanía número 1708547987, certifico que dicho proyecto de titulación fue evaluado por el programa Anti-plagio URKUND arrojando un porcentaje de similitud del 2% sin ninguna otra observación. Es todo en cuanto debo agregar en honor a la verdad.

Firma



---

Guayaquil, 19 de diciembre del 2017

Ricardo José Silva Bustillos

Nº de cédula: 0959586132

## ESTILO

Lcdo. Marlon Zambrano, con registro del SENESCYT 1034-11-1037579, por medio del presente tengo a bien **CERTIFICAR:** Que he revisado la redacción, estilo y ortografía de la tesis de grado, elaborado (a) por el Señor (a) Cesar Henry Freire Semanate, con C.I. 1708547987, previo a la obtención del título de Magister en Biotecnología Molecular.

Tema de tesis: Caracterización biomecánica y molecular del plasma gel plaquetario como relleno facial autólogo.

Trabajo de investigación que ha sido escrito de acuerdo a las normas ortográficas y de sintaxis vigentes.



---

Marlon Zambrano  
0103685889  
1034-11-1037579  
0999099777  
tesis.proyectos@live.com

## DECLARACIÓN JURADA DEL AUTOR

Yo, César Henry Freire Semanate, declaro bajo juramento ante la Dirección de Posgrado de la Universidad de Guayaquil, que el trabajo aquí descrito, así como sus resultados, conclusiones y recomendaciones presentadas es de mi autoría y exclusiva responsabilidad, que es inédito y no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional.

La reproducción total o parcial de esta tesis en forma idéntica o modificada, no autorizada por los editores transgrede los derechos de autoría. Cualquier utilización debe ser previamente solicitada a la Universidad de Guayaquil, a través de la Dirección de Posgrado o al autor.

**Firma.** -----

**N° Cédula: 1708547987**

## AGRADECIMIENTOS

*Agradezco a mi Dios,  
a la compañera de mi vida: Karina  
y sobre todo: a mis hijos,  
KEVIN ANDRÉ  
MAYTÉ CRISTINA  
que el tiempo libre que debí compartirlos, me los robé para  
depositarlo en mi trabajo*

*Quiero agradecer alDr. Ricardo Silva PhD.,  
por compartir su experiencia, y convertirse  
en un referente en el campo humano y de la Investigación  
y al Equipo de Producción de Red Salud Total.*

## DEDICATORIA

Dedicado al mayor de mis hijos:

BRYAN JAVIER, el que más trascendió en carne propia las consecuencias de esta obra.

A mis hermanos, amigos, colegas y pacientes

***Dr. Henry Freire***

## ÍNDICE GENERAL

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA .....	ii
CERTIFICADO DEL TUTOR .....	iii
INFORME DE ANTIPLAGIO DEL PROGRAMA URKUND .....	iv
ESTILO .....	v
DECLARACIÓN JURADA DEL AUTOR .....	vi
AGRADECIMIENTOS .....	vii
DEDICATORIA .....	viii
ÍNDICE GENERAL.....	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	xiii
ÍNDICE DE TABLAS .....	xv
ABREVIATURAS .....	xvi
RESUMEN .....	xvii
ABSTRACT .....	xviii
INTRODUCCIÓN .....	xviii
CAPÍTULO I .....	4
1. EL PROBLEMA .....	4
1.1. Planteamiento del problema. ....	4
1.2. Formulación del problema. ....	4
1.2.1. Problema general. ....	4
1.2.2. Análisis crítico. ....	5
1.2.2.1. Relación causa – efecto. ....	5
1.3. Objetivos.....	5
1.3.1. Objetivo general. ....	5
1.3.2. Objetivos específicos. ....	6
1.4. Justificación. ....	6
CAPÍTULO 2.....	11
2. MARCO TEÓRICO.....	11
2.1. Antecedentes de la investigación. ....	11

2.2.	La Fibrina y su proceso de polimerización.....	13
2.3.	Conceptos de Plasma Gel según la concepción estética. ....	14
2.4.	El Plasma Gel según la Reología. ....	15
2.5.	El Plasma Gel según la microscopía. ....	16
2.6.	Microscopio óptico compuesto.....	17
2.7.	Inmersión en aceite. ....	17
2.8.	Scanning Electron Microscope (SEM). ....	18
2.9.	Elaboración del Plasma Gel Plaquetario.....	19
2.10.	Aplicaciones del Plasma Rico en Plaquetas y Productos de relleno similares al Plasma Gel. ....	20
2.11.	Medidas faciales.....	22
2.11.1.	Ángulo Naso Labial.....	22
2.11.2.	Plano horizontal de Frankfurt.....	22
2.11.3.	Seguimiento.....	23
CAPÍTULO 3.....		24
3.	METODOLOGÍA O DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	24
3.1.	Materiales y métodos.....	24
3.1.1.	Caracterización de la zona de trabajo. ....	24
3.2.	Tipos de investigación. ....	25
3.2.1.	Investigación cuantitativa. ....	26
3.2.2.	Investigación experimental.....	26
3.2.3.	Investigación descriptiva. ....	26
3.2.4.	Investigación bibliográfica. ....	27
3.3.	Estudio transversal .....	27
3.4.	Justificación de la elección del diseño. ....	27
3.5.	Población y muestra. ....	28
3.6.	Viabilidad. ....	29
3.7.	Criterios de inclusión.....	30
3.8.	Criterios de exclusión.....	30
3.9.	Materiales, Equipos e Insumos.....	30
3.9.1.	Recursos humanos y materiales. ....	30
3.10.	Descripción y características de los productos y dispositivos utilizados.....	31

3.10.1.	Sección experimental para obtención de Plasma Gel.....	31
3.10.1.1.	Utilitarios y procedimiento para extracción de sangre venosa.....	31
3.10.1.2.	Procedimiento para obtención de sangre para Plasma Rico en Plaquetas.....	32
3.10.2.	Utilitarios para obtención del Plasma Gel. ....	33
3.10.3.	Caracterización de sus propiedades Físico - Químicas y Reológicas.....	34
3.11.	Determinaciones Reométricas del Plasma Gel Plaquetario. ...	34
3.11.1.	Diseño experimental. ....	34
3.11.2.	Análisis reológico. ....	35
3.11.3.	Análisis estadístico. ....	36
3.12.	Caracterización con Microscopía Óptica. ....	37
3.13.	Análisis Estructural del Plasma Gel con Microscopía Electrónica.....	37
3.13.1.	Microscopio SEM, sistema MIRA3.....	37
3.13.1.1.	Características clave.....	39
3.14.	Determinación de la duración “in vitro” del producto. ....	44
3.14.1.	Duración “in vitro” del producto en ambiente cerrado. ....	44
3.14.2.	Duración “in vitro” del producto en ambiente abierto. ....	45
CAPÍTULO 4.....		46
4.	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS.....	46
4.1.	Resultados y análisis. ....	46
4.2.	Procedimientos estandarizados para la obtención del Plasma Gel Plaquetario a partir de la 1ra y 3ra Fracción del PRGF. ....	46
4.2.1.	Procedimiento para gelificación del Plasma.....	46
4.3.	Identificación de las características y propiedades físicas escalares, vectoriales y tensoriales del plasma gel mediante equipos y dispositivos para ensayos reológicos y microscópicos.....	47
4.3.1.	Determinación de análisis con microscopía. ....	47
4.4.	Determinación de análisis con reología. ....	65
4.4.1.	Resultados de comparación para $G'$ por fracción de Plasma gel.....	65
4.4.2.	Resultados de comparación para $G''$ por Fracción de Plasma gel.....	68

4.5. Evaluación de la duración “in vitro” del producto en ambiente cerrado y abierto.....	72
4.5.1. En ambiente cerrado.....	74
4.5.2. En ambiente abierto.....	72
4.6. Comparando costos frente a comercial heterólogo.....	77
CAPÍTULO 5.....	78
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	78
5.1. Discusiones y Conclusiones. ....	78
5.2. Recomendaciones.....	84
BIBLIOGRAFIA.....	86
6. ANEXOS .....	89

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>GRÁFICO 1:</b> Árbol de problemas.....	5
<b>GRÁFICO 2:</b> Las Fracciones resultantes de la elaboración PRGF.....	7
<b>GRÁFICO 3:</b> Estructura de la molécula de fibrinógeno.....	12
<b>GRÁFICO 4:</b> Estructura de fibrinógeno.....	12
<b>GRÁFICO 5:</b> Sitios del Fbg.....	14
<b>GRÁFICO 6:</b> Ángulo Naso-Labial.....	22
<b>GRÁFICO 7:</b> Plano de Frankfurt horizontal.....	23
<b>GRÁFICO 8:</b> Ubicación del centro operativo.....	24
<b>GRÁFICO 9:</b> Ubicación del Laboratorio LEMAT.....	25
<b>GRÁFICO 10:</b> Microscopio óptico Leica DMRB, con cámara digital Leica DC 500.....	37
<b>GRÁFICO 11:</b> Microscopio SEM,MIRA3.....	38
<b>GRÁFICO 12:</b> Esquema del Microscopio SEM.....	38
<b>GRÁFICO 13:</b> Evaporizador de oro SputterCoatingQuorum Q105R.....	41
<b>GRÁFICO 14:</b> El Q150R tiene una amplia gama de opcionesaccesorio.....	41
<b>GRÁFICO 15:</b> Equipo de SEM .....	43
<b>GRÁFICO 16:</b> Parámetros de análisis.....	43
<b>GRÁFICO 17:</b> Plasma Gel, jeringas y cánulas.....	44
<b>GRÁFICO 18:</b> Procedimiento general para obtención del plasam gel plaquetario.....	47
<b>GRÁFICO 19:</b> Procedimiento dpara la obtención de plasma gel.....	47
<b>GRÁFICO 20:</b> Microfotografía 100x/i.a. de la Fracción 1 (PPP).....	48
<b>GRÁFICO 21:</b> Microfotografía 100x/i.a. de la Fracción 3 (PRP).....	49
<b>GRÁFICO 22:</b> Microfotografía 100x/i.a. Plasma Gel Plaquetario.....	50
<b>GRÁFICO 23:</b> Microfotografías de las muestras procesadas.....	51
<b>GRÁFICO 24:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP).....	53
<b>GRÁFICO 25:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP) cont.....	54
<b>GRÁFICO 26:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP), guía de la muestra procesada.....	56

<b>GRÁFICO 27:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP), guía de la muestra procesada, acúmulos plaquetarios.....	58
<b>GRÁFICO 28:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP).....	60
<b>GRÁFICO 29:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP) periferiade la muestra.....	61
<b>GRÁFICO 30:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP) cont.....	63
<b>GRÁFICO 31:</b> Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP), guía de la muestra procesada.....	64
<b>GRÁFICO 32:</b> Diagrama de cajas para módulo de almacenamiento (G').....	66
<b>GRÁFICO 33:</b> Módulo visco elástico y fase angular vs frecuencia de las fracciones del plasma gel. PPP y PRP.....	66
<b>GRÁFICO 34:</b> Diagrama de cajas para módulo de pérdida (G'').....	68
<b>GRÁFICO 35:</b> Diagrama de medias para módulo de pérdida (G'').....	69
<b>GRÁFICO 36:</b> Módulo de viscoelástico y fase angular vs frecuencia de las fracciones del plasma gel PPP yPRP.....	70
<b>GRÁFICO 37:</b> Módulo de Corte Elástico vs Frecuencia Angular del Plasma Gel plaquetario.....	71
<b>GRÁFICO 38:</b> De izquierda a derecha: Jeringuillas de 3ml, con tapón rosca luer color negro.....	72
<b>GRÁFICO 39:</b> Duración “in vitro” del producto en ambiente cerrado.....	73
<b>GRÁFICO 40:</b> Muestras del Plasma Gel Plaquetario, producto de la Fracción 1 PPP (etiqueta celeste) y de la Fracción 3 PRP (etiqueta amarilla), en ambiente abierto.....	74
<b>GRÁFICO 41:</b> Variación en el tamaño de las muestras del Plasma Rico Plaquetario en ambientes cerrado y abierto, durante el tiempo, así como el cambio de coloración por contacto del oxígeno del aire atmosférico....	75

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>TABLA 1:</b> Datos para la formula.....	28
<b>TABLA 2:</b> Nivel de confianza.....	28
<b>TABLA 3:</b> Aplicación de datos para en la fórmula.....	29
<b>TABLA 4:</b> Recursos humanos y materiales.....	31
<b>TABLA 5:</b> Kruskal-Wallis para Módulo de Almacenamiento (G') de muestras con Fracción 1 PPP Plasma Pobre en Plaquetas.....	65
<b>TABLA 6:</b> ANOVA para G" Fracción de plasma gel Kruska.....	67
<b>TABLA 7:</b> Pruebas de Múltiple Rangos para G" Fracción de plasma ge.....	68
<b>TABLA 8:</b> Comparación de costos entre el Plasma Gel Plaquetario y productos comerciales de ácido hialurónico para rellenos faciales.....	77

## ABREVIATURAS

Å	Ångström 1 Å = 0,1 nm o $10^{-10}$ m
F1 (PPP)	Fracción 1 correspondiente al Plasma Pobre en Plaquetas
F3 (PRP)	Fracción 3 correspondiente al Plasma Rico en Plaquetas
G'	Módulo de Almacenamiento
G''	Módulo de Pérdida
Hz	Hercio o Hertz, unidad de frecuencia
kx	Kilo aumentos (1000 aumentos)
mm	Milímetro equivale a milésima parte del metro: (0,001 m)
nm	nanómetro 1 nm = 10 Å
Pa	Pascal, unidad de presión
PRGF	Plasma Rico en Factores de Crecimiento
PRP	Plasma Rico en Plaquetas
SEM	ScanningElectronMicroscope (Microscopio Electrónico de Barrido)
µm	Micrómetro o Micra equivale a millonésima parte del metro: (0,000001 m), o 0,001 mm, 1 µm = 1000 nm
x/i.a	Aumentos en inmersión en aceite
ω(rad/s)	Radián/segundo, expresa la velocidad angular

## RESUMEN

En la actualidad hay una técnica médica, no quirúrgica con productos de relleno facial inyectables, disponibles en el mercado, efectivos, pero muy costosos y con resultados adversos si hay alergia. El propósito de esta investigación fue establecer métodos para la obtención, caracterización y valoración del plasma gel plaquetario obtenido de la sangre propia del paciente y demostrar que un producto autólogo, económico, fácilmente obtenible puede ser tan eficaz o mejor que un comercial (heterólogo, caro y no seguro) en beneficio del usuario. El proyecto consta de tres etapas: 1.- Elaboración experimental in-vitro para estandarizar la obtención del Plasma Gel Plaquetario, a partir de las fracciones resultantes Plasma Rico y Pobre en Plaquetas, (Plasma Rico en Factores de Crecimiento: PRGF® del método patentado del Dr. Anitua). 2.- Caracterización biomecánica con tecnología de un Laboratorio de Materiales con un Reómetro de Rotación de última tecnología, así como su durabilidad en ambientes abiertos y cerrados en el tiempo y su análisis estadístico. Su estudio microestructural se realizó con Microscopía Óptica y Microscopio Electrónico de Barrido (SEM). 3.- La evaluación experimental in-vitro para ello se aplicó el plasma gel en recipientes para ambiente abierto, y en cartuchos cook de vidrio y en jeringas con tapones tipo luer, para su documentación iconográfica. Los resultados de este estudio nos permitieron normalizar procesos de producción de este biomaterial a fin de llenar un vacío en la literatura mundial, aportando una reducción de costos al usuario con otros productos similares de relleno de la industria estética y este producto una vez caracterizado se pueda mejorar.

**Palabras clave:** Factores de Crecimiento, Plasma Rico en plaquetas, Rellenos inyectables, Valoración Biomecánica, Evaluación facial.

## **ABSTRACT**

Currently there is a medical, non-surgical technique with fillers, facial injectables, available on the market, effective, but very expensive and adverse if there is allergy. The purpose of this research was to establish the methods for obtaining, characterizing and evaluating the plasma, the gel, the platelet obtained from the patient's own blood and to demonstrate that an autologous, economical, easily obtainable product can be as effective or better than commercial (heterologous, expensive and unsafe) for the benefit of the user. The project consists of three stages: 1.- Experimental in vitro elaboration to standardize the obtaining of the Plaquetary Gel Plasma, from the resulting fractions Rich and Poor Plasma in Platelets, (Plasma Rich in Growth Factors: PRGF® of the patented method of the Dr. Anitua). 2.- Biomechanical characterization with technology from a Materials Laboratory with a Rotation Rheometer of the latest technology, as well as its duration in open and closed environments over time and its statistical analysis. His microstructural study was carried out with Optical Microscopy and Scanning Electron Microscope (SEM). 3.- The experimental in-vitro evaluation for this was applied to plasma gel in open-environment containers, and in glass cook cartridges and in syringes with luer-type plugs, for iconographic documentation. The results of this study allowed us to normalize the production processes of this biomaterial and its product once it can be identified. update it

**Key words:** Growth Factors, Platelet Rich Plasma, Injectable Fillers, Biomechanical Assessment, Facial Evaluation.

## INTRODUCCIÓN

El proceso del envejecimiento es normal, pero: “es duro mirarse en el espejo, ver fotografías anteriores y darnos cuenta que el tiempo ha pasado”, son las marcas típicas del envejecimiento facial debidas a la pérdida de volumen: surcos, arrugas, entre otras, acuérdesse que “el rostro es nuestra carta de presentación”.

En la actualidad existen tres tratamientos en la Medicina Estética no quirúrgica: 1) La toxina botulínica (“Botox”) el cual es una neurotoxina elaborada por una bacteria que provoca parálisis muscular y se usa en el tercio superior de la cara, contra las arrugas dinámicas de la frente, del entrecejo, patas de gallo. 2) Los rellenos inyectables se usan en el tercio medio e inferior de la cara (alrededor de la boca, mandíbula y labios. y 3) el Plasma Rico en Plaquetas, para la flacidez de la piel del rostro, cuello, escote y las manos, especialmente a partir de los 30 años, ya que la piel empieza a perder su poder de regeneración y los signos de envejecimiento comienzan a hacerse visibles; estos tres procedimientos si bien funcionan perfectamente separados, aplicados de manera combinada se complementan y potencian logrando un rejuvenecimiento facial natural, sin necesidad de ir a la cirugía (“liftings quirúrgicos”).

Los dos primeros productos que están disponibles en el mercado, son efectivos, pero muy costosos y con resultados adversos si hay alergia, especialmente los productos estéticos de relleno inyectables, tales como el ácido hialurónico de origen animal o bacteriano y los biopolímeros sintéticos permanentes, que son los culpables de producir una nueva enfermedad: la Alopecia latrogénica, con resultados a veces, catastróficos cuando estos productos migran a órganos vitales.

Es aquí, donde surgen las ventajas de utilizar el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) un producto que se obtiene al centrifugar la sangre extraída del mismo paciente y cuyo objetivo es retroceder las señales comunes del

envejecimiento de la piel, también busca mejorar algunas patologías como manchas, acné (y sus secuelas), estrías y cicatrices y precisamente de uno de sus componentes se obtiene un nuevo relleno facial: el Plasma Gel Plaquetario (biológico y autólogo) de fácil manipulación, el cual se ha utilizado en una forma empírica, no existe en la literatura mundial publicaciones o estudios formales acerca de su obtención, características de su composición, comportamiento y de su duración como un implante con alguna técnica de análisis facial para que se pueda comparar con los productos de relleno comerciales que oferta la industria cosmética.

Por lo que surge la siguiente Hipótesis: Si el plasma gel plaquetario cuenta con propiedades biomecánicas y moleculares apropiadas para servir como un elemento estructural de origen biológico, entonces la duración "in vitro" del producto obtenido debería mantenerse en el tiempo.

Mediante investigación experimental al paciente se extrae su sangre para obtener primero el Plasma Rico en Plaquetas, pero como no hay ningún procedimiento estandarizado como tal, se debe obtenerlo con el método del Dr. Anitua que ya está patentado y es la Técnica de Plasma Rico en Factores de Crecimiento (PRGF), luego se selecciona la 1ra y 3ra Fracción de su contenido líquido y se caracteriza las propiedades biomecánicas mediante un equipo para ensayos metrológicos y reológicos especializados propios de laboratorio de materiales, así como las características ópticas moleculares mediante Microscopia Electrónica de Barrido SEM. Al producto obtenido lo evaluamos "in situ" su degradación en ambientes abiertos y cerrados, mediante observación y recolección de datos al medio ambiente y en tubos o jeringas.

Se evalúa la duración "in vitro" del producto mediante investigación experimental inyectando en recipientes en ambiente abierto (en contacto con el aire del medio ambiente), y en ambiente cerrado con cartuchos de vidrio y jeringas etiquetadas de acuerdo a su origen de la Fracción líquida

correspondiente al sobrenadante del Plasma Rico (PRGF®). En un área de registro en forma estandarizada y con una cámara profesional, finalmente demostramos su durabilidad a lo largo del tiempo, recolectando los datos y comparando su duración, frente a productos comerciales heterólogos que se oferta en el mercado ecuatoriano.

### **Breve descripción del contenido de capítulos**

**CAPÍTULO I** En este apartado se aborda el Problema investigado, la justificación de mi trabajo, los objetivos propuestos para la investigación y por último la delimitación de problema formulado.

**CAPÍTULO II** Está conformado por los antecedentes investigativos relacionado con la temática abordada, así como las bases teóricas, científicas y legales que sustentan y argumentan la investigación.

**CAPÍTULO III** Aborda la caracterización de la zona de trabajo, el marco metodológico, protocolos de obtención, así como las técnicas e instrumentos para la recolección de información.

**CAPÍTULO IV** Aquí se expone la categorización de la información recolectada por medio de la entrevista y su respectivo análisis e interpretación teórica.

Para finalizar está el capítulo compuesto por las conclusiones y recomendaciones de la investigación de acuerdo a los objetivos.

## **CAPÍTULO I**

### **1. EL PROBLEMA**

#### **1.1. Planteamiento del problema.**

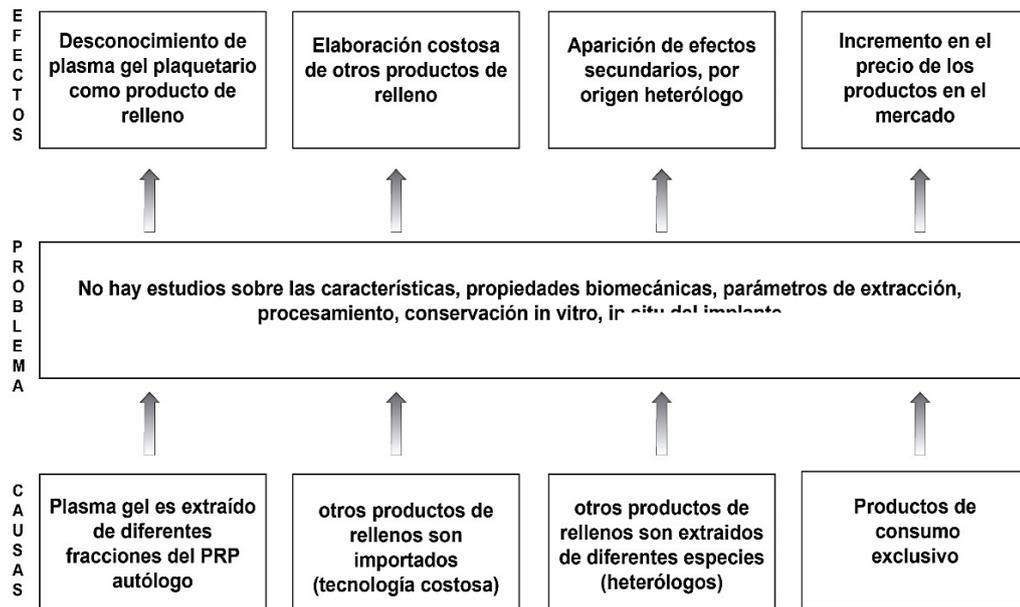
El Plasma Gel Plaquetario es un biomaterial que se emplea como un producto de relleno en intervenciones cosméticas, por la ventaja de ser autólogo es económico y seguro, pero se desconocen las propiedades biomecánicas del material y su comportamiento como implante facial.

#### **1.2. Formulación del problema.**

##### **1.2.1. Problema general.**

¿Es posible caracterizar las propiedades biomecánicas del plasma-gel, cómo varían dichas propiedades en función de los parámetros de extracción y procesamiento y como se conservan las propiedades a lo largo del tiempo?

## 1.2.2. Análisis crítico.



**GRÁFICO1:**(Freire H. 2017). Árbol de problemas.

### 1.2.2.1. Relación causa – efecto.

**Causa:** El Plasma Gel Plaquetario extraído de diferentes fracciones del PRP autólogo, presenta propiedades biomecánicas apropiadas.

**Efecto:**La duración del Plasma Gel Plaquetario se mantiene en el tiempo conservando sus características como producto de relleno de origen biológico, sobre el encarecimiento y efectos secundarios de los productos de relleno heterólogos y comerciales.

## 1.3. Objetivos.

### 1.3.1. Objetivo general.

Caracterizar las propiedades biomecánicas y moleculares del plasma gel plaquetario como relleno facial autólogo.

### **1.3.2. Objetivos específicos.**

1. Seleccionar procedimientos estandarizados para la obtención del Plasma Gel Plaquetario a partir de la 1ra y 3ra Fracción del PRGF.
2. Identificar las características y propiedades físicas escalares, vectoriales y tensoriales del plasma gel mediante equipos y dispositivos para ensayos reológicos y microscópicos.
3. Evaluar la duración “in vitro” del producto en ambientes abiertos y cerrados.

### **1.4. Justificación.**

A nivel mundial se observa un incremento significativo del consumo de productos estéticos en hombres y mujeres sanos y emocionalmente estables que quieren mejorar su aspecto físico y devolver a su rostro un aspecto más joven, en Latinoamérica y en nuestro medio persiste esta tendencia en la aplicación de productos de relleno, especialmente con productos derivados del ácido hialurónico para rejuvenecimiento facial, los cuales como son de origen heterólogo, pueden ser inseguros, aparte que son costosos (Anexo 1), pero que tienen como respaldo un buen soporte bibliográfico internacional, que les da cierta complacencia en su uso a los usuarios en el campo médico estético, pero hay un nuevo material autólogo y fácil de obtener como es el Plasma Gel Plaquetario, que se extrae a partir de una de las fracciones resultantes: la Fracción 1 (PPP) (Gráfico 2) esta fracción normalmente se desecha luego de la elaboración del Plasma Rico en Plaquetas (método PRGF patentado, que consiste en una técnica sencilla de centrifugación, capaz de realizarse en un consultorio médico) (Anitua E, 2016); (BTI Biotechnology Institute, 2012).



**GRÁFICO 2:** (Freire H. 2017). Las Fracciones resultantes de la elaboración PRFC, del cual se elaborará el Plasma Gel Plaquetario.

Realizando una búsqueda en Pubmed con el término Plasma Gel, no se encuentran artículos. Replanteando y empleando el término cercano Platelet-Rich-Fibrin (Plasma Rico en Fibrina), se encuentran 1390 referencias. Si se combina dicho término con cosmetología aparece un solo artículo en caninos, que no es en absoluto relevante. Si se combina el primer término con biomecánica, aparecen dos trabajos relacionados con tendones, que tampoco son relevantes. Si en vez de emplear plasma rico en fibrina se emplea plasma rico en plaquetas y biomecánica, aparecen 59 referencias, todas sobre tendones, las cuales nuevamente no son relevantes para el presente trabajo. Empleando las palabras clave: plateletrich plasma and nasal cartilage, aparecen 10 trabajos que son los más cercanos al tema tratado, de estos 10 trabajos referidos, únicamente el trabajo de (Gentile, 2016) es concurrente con la presente investigación.

En dicho trabajo 11 pacientes se sometieron a reconstrucción nasal alar con microinjertos de condrocitos vertidos suavemente sobre PRP en forma sólida. El resultado de dicha investigación muestra que microinjertos de condrocitos-PRP que se inyectaron por vía subcutánea producen un tejido cartilaginoso persistente con una morfología adecuada, una perfusión nutricional central adecuada sin necrosis u osificación central y un dorso nasal aumentado adicionalmente sin una contracción y deformación obvias.

El trabajo de (Gentile, 2016) no realiza ningún tipo de caracterización biomecánica del implante. Sus resultados favorecen el uso de PRP y condrocitos para la regeneración del cartílago pero no evalúan el empleo único de PRP, tal y como se realiza en este trabajo de maestría.

La ausencia de publicaciones científicas sobre este Plasma Gel Plaquetario para uso estético, se explica porque hay una confusión en la percepción de su terminología parecida con los geles o adhesivos de fibrina, que se obtienen al procesar los diferentes concentrados plaquetarios.

Prácticamente existe un argot de términos similares, (por ejemplo *“Gel de Fibrina del PRGF”, “Gel de Plaquetas Autólogo” que se obtiene cuando se coagula el PRP, “Coágulo de PRGF o Coágulo Blanco”, “Fibrina Autóloga”, “Cola de Fibrina”, “Fibrina Armada”, “Coágulos de Fibrina” en forma de placas o mallas, productos de la membrana adherente muy útil para suturas, etc.*) y Variantes de Concentrados Plaquetarios (por ejemplo: *“PRP”, “PRGF”, “P-PRP”, “L-PRP”, “P-PRP- Puro”, “PRF: Fibrina Rica en Plaquetas, “A-PRF”, “I-PRF”, “L-PRF”: Fibrina Rica en Plaquetas y Leucocitos, PRP de 2º Generación: “PRP Foto Activado”, PRP de 3º Generación: “PRP-O3” “Ozonizado”, PRP de 4º Generación: “Termoactivado”, etc.*)

Un ejemplo claro al continuar revisando Pubmed: la mayoría de publicaciones hacen referencia al uso del Gel Autólogo Plaquetario para uso en Cirugía estética como un pegamento corporal, sellante, e inclusive hay equipos (Smart PRP, Harvest Smart auto, Friadent–Schütze, etc.) que producen estos sistemas de concentrados plaquetarios, pero no hay una sola referencia del plasma gel para uso cosmético de relleno, ni existe ninguna publicación en revistas de impacto. (Everts P. A. M., 2006).

Inclusive la mayoría de médicos estéticos en nuestro medio que realizan estos procedimientos, confunden el significado entre PRP y PRFC (Plasma Rico en Plaquetas y Plasma Rico en Factores de Crecimiento), así como los concentrados plaquetarios de nueva generación.

El uso estético de este extracto plaquetario, se ha estado utilizando de forma empírica, no existen estadísticas serias e información científica exacta sobre su preparación, caracterización y su correlación clínica en pacientes, aunque existe un auge repentino sobre estos preparados plasmáticos que han generado grandes expectativas en la Medicina Regenerativa y un buen negocio con los kits de obtención comerciales, pero hay poca evidencia clínica de sus efectos, y una gran variabilidad en la preparación de los concentrados, en la literatura actual no se encuentra ninguna evidencia científica: (Carrasco J., 2014).

En estos últimos años han aparecido en el Mercado (especialmente en Internet) equipos que producen plasma gelificado, de origen chino “armados” en Colombia y Argentina, que no poseen normas técnicas serias, (ISO, etc.) cuya función es gelificar el plasma por calor y luego enfriarlo para que el personal estético lo aplique, sin ninguna garantía, protocolo o referencia científica de su fabricación.

En tal virtud, es necesario plantear una propuesta de investigación que nos permita en forma documentada establecerla viabilidad biomecánica y

molecular del material. Así mismo, la presente investigación cumple con las normas de investigación superior enfocadas al Plan Nacional del Buen Vivir, considerando como principal objetivo el No. 3: Mejorar la Calidad de Vida de la Población (2009 – 2013) en sus literales: 3.1 Promover prácticas de vida saludable en la población. 3.2 Fortalecer la prevención, el control, y la vigilancia de la enfermedad. (SENPLADES, 2009) En la Ley Orgánica de la Salud: Art. 196.- “Toda investigación que sea para beneficio y cumplimiento de la ley que existe en nuestro país es bien recibida. La salud en los últimos años desde que está este gobierno en el poder ha dado un vuelco gigantesco”.

Con los resultados que se generen en esta investigación podremos demostrar nuevas características evidentes para tratar los problemas de envejecimiento con una nueva técnica eficaz, en corto tiempo de recuperación sin necesidad de equipos costosos, sabemos que la medicina está en constante evolución, y a la hora de ofrecer un producto o un servicio este debe ir a la par de las nuevas tecnologías y poder ofrecer un nuevo biomaterial innovador con implicaciones biomédicas: viabilidad, biocompatibilidad, baja toxicidad y que puede competir con productos caros y hasta peligrosos de la industria cosmética y como sustitutos a futuro, e incluso ser mejorados gracias a los avances de las técnicas de la Biotecnología Molecular en futuros proyectos donde nuevas generaciones instauren campos de acción.

## CAPÍTULO 2

### 2. MARCO TEÓRICO

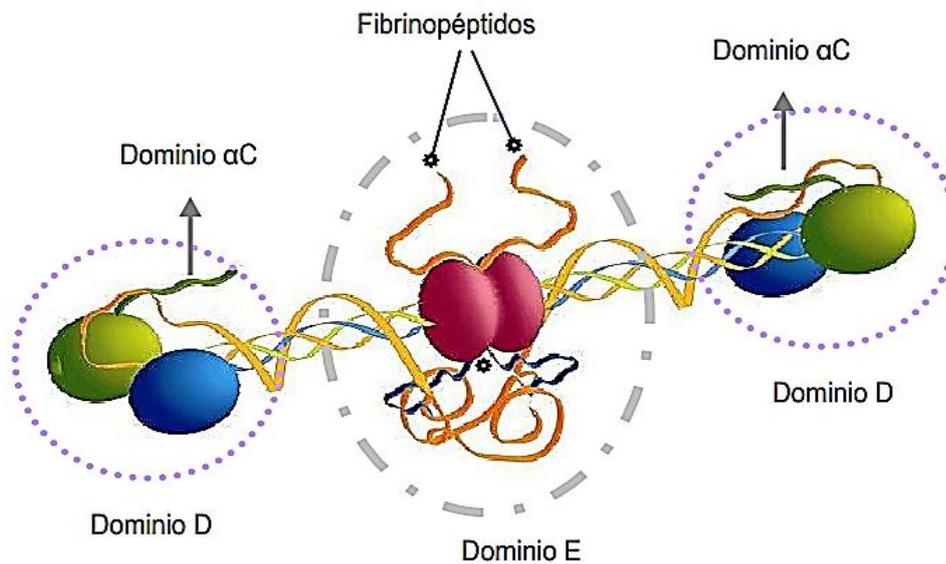
#### 2.1. Antecedentes de la investigación.

El Plasma gel derivado de las plaquetas, está definido según la percepción Regenerativa como el coágulo de fibrina que va a ser útil como un sellante y en la regeneración de tejidos, prácticamente es un biopolímero que actúa como un tejido de sostén, una estructura de soporte o un “scaffold” (andamio) cuando hablamos de la Ingeniería Tisular, ya que es biocompatible, no tiene respuesta inmune e incluso en su superficie tiene algo de porosidad, es decir que es un sustrato tridimensional poroso (Gamboa, 2011).

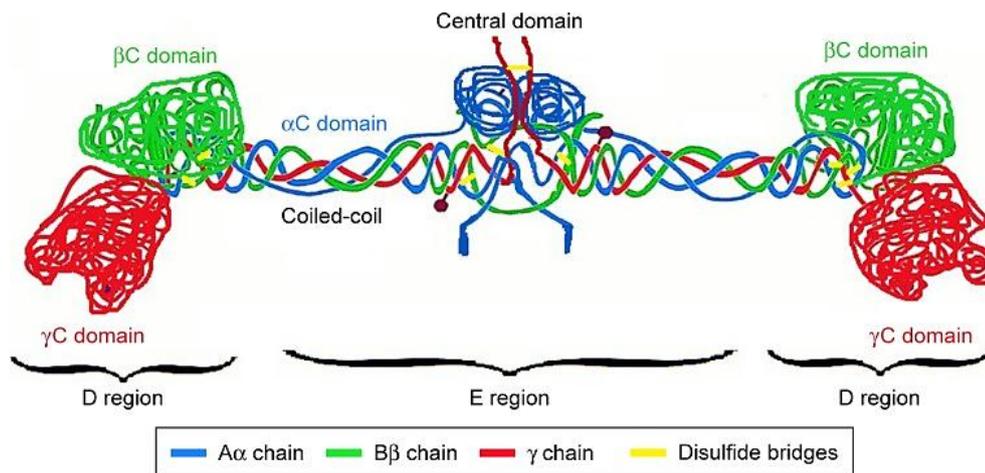
Este plasma gel es un polímero biológicamente inerte, y este biomaterial va a simular al colágeno como un “sellante de fibrina”, con un buen éxito en cirugías cardiorácicas, óseas, oftálmicas, ya que actúa como un soporte natural. Muy utilizada en el área clínica, su uso se extendió alrededor del mundo como adhesivo y agente hemostático.

El Plasma Gel Plaquetario, prácticamente es la fibrina coagulada, y como tal actúa como un soporte natural, cuyo principal componente es el Fibrinógeno, que tiene un tamaño de 450 Armstrong y un peso molecular de 340.000 kDalton, su estructura se compone de subunidades  $A\alpha$ ,  $B\beta$ , y

$\gamma$ ; compuestas de 610, 461 y 411 aminoácidos respectivamente (Standeven KF, 2005).



**GRÁFICO 3:**(Gamboa T, 2011).Estructura de la molécula de fibrinógeno.



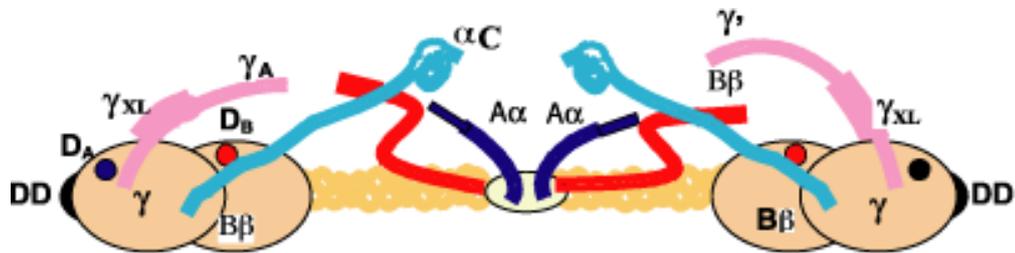
**GRÁFICO4:**(Noori A., 2017).Estructura de fibrinógeno. Las cadenas  $\alpha$ C se muestran en azul, las cadenas  $\beta$  $\beta$  se muestran en verde, y las cadenas  $\gamma$

y se muestran en rojo. Los puentes disulfuro que estabilizan las regiones de espiral enrollada se muestran en amarillo.

## **2.2. La Fibrina y su proceso de polimerización.**

La Fibrina es una proteína fibrosa, no globular que normalmente está involucrada en la coagulación de la sangre, se forma por la acción de la trombina (una proteasa) sobre el fibrinógeno que hace que se polimerice. La fibrina polimerizada junto con las plaquetas forma un tapón o coágulo hemostático sobre un sitio de la herida, el factor de coagulación XIII o Factor Estabilizador de la Fibrina, es una proteína plasmática de síntesis hepática y plaquetaria, es activado por la Trombina, en presencia de calcio en las etapas finales de la cascada de coagulación, estabiliza al coágulo blando de Fibrina es decir que lo polimeriza a la fibrina, con la formación de enlaces covalentes entre los residuos aminoacídicos de Glutamina y Lisina de las fibras de Fibrina, estabilizando las uniones intermonoméricas y evitando la lisis del coágulo y completa su reticulación para que se endurezca y se contraiga, esta fibrina reticulada forma una malla encima del tapón de plaquetas que completa el coágulo.

La Fibrina estructuralmente tiene correlación con el origen de los monómeros de fibrina, ya que forman largas hebras de proteína insoluble resistente que se unen a las plaquetas donde por interacciones hidrofóbicas se desligan los fibrinopéptidos y se forman los monómeros de fibrina insolubles en el plasma. Así mismo, existen los Fibrinopéptidos A y B, activan al Fibrinógeno y dejan un "Knob", cuando hay disminución de la concentración de la Trombina se ramifica en fibras gruesas pero por lo general tienen una agregación lateral, aquí es cuando los coágulos desarrollan fibras delgadas, es más existen sitios del Fibrinógeno que intervienen en el ensamble de la fibrina. (Lauricella A, 2007).



**GRÁFICO5:** Sitios del Fbg que intervienen en el ensamble de la fibrina.  
 Ana María Lauricella, Acta bioquímica clínica latinoamericana versión On-  
 line ISSN 1851-6114. Acta bioquím. clín. latinoam. v.41 n.1. La Plata  
 ene/mar2007.

### 2.3. Conceptos de Plasma Gel según la concepción estética.

**Aclaración:** El Plasma Gel Plaquetario como producto cosmético, no está descrito formalmente en la literatura científica, a diferencia del Gel derivado Plaquetario referido en la parte Regenerativa como un sellante, adhesivo y agente hemostático donde existen numerosas referencias bibliográficas, a continuación, se citan 3 definiciones como lo percibe y como lo mencionan los colegas estéticos en internet.

“El PLASMA GEL es una herramienta estética novedosa, con numerosos estudios realizados al respecto y otros muchos en marcha, con el fin de establecer las propiedades de este preparado de gel de Plasma (BiofillerPlasm) capaz de mejorar las características de diferentes partes del cuerpo con algún grado de deterioro como la pérdida de volumen” *Dr. Carlos Moreno*, Director Centro Biocar, Bogotá- Colombia (Moreno, 2009).

“El Plasma Gel, es un producto novedoso, mediante un proceso muy especializado derivado de las proteínas extraídas en la muestra durante la

realización de un procedimiento de plasma autólogo. Continúa siendo un derivado de la propia sangre del paciente... ya que se requiere de un proceso muy especializado en el laboratorio clínico se requieren de 2 horas de espera para la obtención de la Fase de Gel del plasma Pobre en Plaquetas.”(MEDESTETICA, 2017).

“El Gel de Plasma es un producto que se obtiene mediante la centrifugación o aféresis de la propia sangre del paciente a intervenir; primero se separa el plasma, enseguida se coloca en una aparatología especial que lo condensa... es ideal para el tratamiento de líneas de expresión y arrugas superficiales como patas de gallo y arrugas peribucles, aunque lleva un proceso más largo que el PRP, sigue tratándose de un producto totalmente autólogo, esto evita cualquier riesgo de rechazo del material, reacciones alérgicas, además de evitar el riesgo de transmisión de enfermedades... es revolucionario, que sin duda puede llegar a convertirse en uno de los rellenos autólogos favoritos de la industria estética” (LAUDACE, 2017).

#### **2.4. El Plasma Gel según la Reología.**

La Reología es la ciencia del flujo que estudia la deformación de un cuerpo sometido a esfuerzo extremo, en condiciones controladas; la Viscosidad es una medida de la resistencia a la deformación del fluido, sus unidades: en milipascales por segundo ( $\text{mPa}\cdot\text{s}=1 \text{ pas}$ ), existen 3 tipos de viscosidad: dinámica o absoluta, cinemática y aparente; la viscoelasticidad: es la deformación de la muestra reversible, con respecto al flujo y deformación: hay dos tipos: flujo de cizalla y flujo de elongaciones, todo los flujos son resistidos por la viscosidad, la velocidad se reduce cuando la viscosidad aumenta.

Gracias a los ensayos de fluencia y recuperación, se determina el rango visco elástico lineal de la muestra del gel, los geles pueden ser más viscosos que elásticos (recuperación elástica) y según su capacidad de retención de agua, se puede conocer si el plasma gel, cuanto es resistente, manejable y flexible por sus propiedades reológicas.

La Reología en general, permite identificar: la fluidez, procesabilidad y desempeño de un producto, su estructura y estabilidad, su viscosidad, el punto de gel y el curado, la nivelación, sedimentación y vida del producto e incluso su peso molecular.

Debemos concentrarnos en la caracterización reológica del material sólido blando: para ello disponemos del Reómetro, MALVERN KINEXUS PRO +, capaz de determinar la viscosidad del producto según su temperatura, determina gráficamente la viscosidad elástica vs velocidad de cizallamiento, como es un sistema de reómetro rotativo aplica una deformación de corte controlada a la muestra, para la medición de las propiedades de flujo (tales como viscosidad de corte y propiedades de material dinámico (módulo viscoelástico y ángulo de fase de ensayos de oscilación) para obtener: control de deformación directa, de velocidad de corte, del estrés por cizallamiento, con rangos de: 10nNm a 200mNm. (Viscometría) y de 2nNm a 200mNm (Oscilación).

## **2.5. El Plasma Gel según la microscopía.**

“Es importante proceder en esta fase de la caracterización con la microscopía óptica, como punto de partida más obvio, para observar con más detalle la superficie celular: la Microscopía Electrónica de Barrido

(SEM, de *ScanningElectronMicroscopy*), para definir la superficie y la naturaleza de las interacciones entre sus elementos” (Herráez, 2012).

Tanto los microscopios ópticos y el microscopio electrónico de barrido, usan lentes para enfocar “manchas de luz o electrones en la muestra” para luego analizar las señales generadas por el haz que interactúa con la muestra, existe un punto que luego se escanea sobre la muestra para analizar una región rectangular, se logra la ampliación de la imagen al mostrar los datos del escaneo de un área de muestra físicamente pequeña en una pantalla relativamente grande.

## **2.6. Microscopio óptico compuesto.**

Los microscopios ópticos tienen vidrio refractivo y ocasionalmente plástico o cuarzo, para enfocar la luz hacia el ojo u otro detector de luz. Utilizan luz visible y un sistema de lentes para ampliar las imágenes de muestras pequeñas, hay muchos diseños complejos que apuntan a mejorar la resolución y el contraste de la muestra, la imagen se magnifica por una segunda lente o un grupo de lentes oculares como una imagen virtual invertida ampliada del objeto.

## **2.7. Inmersión en aceite.**

La inmersión en aceite es una técnica utilizada para aumentar el poder de resolución del microscopio. Esto se logra sumergiendo tanto la lente del objetivo como la muestra en un aceite transparente de alto índice de refracción, aumentando así la apertura numérica de la lente del objetivo.

Los aceites de inmersión son aceites transparentes que tienen características ópticas y de viscosidad específicas necesarias para su uso en microscopía. Los aceites típicos utilizados tienen un índice de refracción alrededor de 1.515. Un objetivo de inmersión en aceite es un lente objetivo especialmente diseñado para ser utilizada de esta manera.

Muchos condensadores también ofrecen una resolución óptima cuando la lente del condensador está sumergida en aceite. Mejora la potencia de resolución en un factor  $1/n$ . Los índices de refracción del aceite y del vidrio en el primer elemento del lente son casi los mismos, lo que significa que la refracción de la luz será pequeña al ingresar a la lente (el aceite y el vidrio son ópticamente muy similares). El aceite de inmersión correcto para una lente de objetivo debe usarse para garantizar que los índices de refracción coincidan correctamente (Fankhauser, 2009), existen lentes de contraste de fase con microscopio de inmersión con lentes objetivo de hasta 100x (CreativeCommonsAttribution-ShareAlike, 2010).

## **2.8. ScanningElectronMicroscope (SEM).**

La Microscopía Electrónica de Barrido es una técnica bien conocida no destructiva que utiliza una sonda de haz de electrones para analizar las muestras de superficie a nanoescala, poseen una serie de lentes electromagnéticos y electrostáticos para enfocar un haz de electrones de alta energía en una muestra, producen imágenes de alta magnificación y alta resolución, incluye sistemas de SEM de emisión de gran rendimiento.

## 2.9. Elaboración del Plasma Gel Plaquetario.

Gracias a la fuerza centrífuga, vamos a obtener de la sangre extraída del paciente la porción del plasma, del cual se va a obtener el producto final, gelificándolo por temperatura con un equipo baño maría.

Sabemos que el centrifugado es una “sedimentación acelerada”, porque la aceleración de la gravedad se sustituye por la aceleración centrífuga. La fórmula  $w^2r$ : donde  $w$  es la velocidad angular de giro de la centrifugadora y  $r$  es la distancia al eje de la centrifugadora. Esta velocidad puede ser de miles de revoluciones por minuto, se alcanzan aceleraciones mucho mayores que la intrínseca de la gravedad.

El equipo Baño María que se utilice es importante que tenga un control de temperatura de hasta 100° C, y debe ser un equipo que se usa con agua destilada, en el laboratorio para realizar pruebas serológicas y procedimientos de incubación y aglutinación, cabina de acero inoxidable, control de temperatura por termorregulador bimetálico y calentador en forma de U., siempre hay que tener cuidados con el equipo de Baño María: Evitar el uso en ambientes en los que estén presentes materiales inflamables o combustibles, los líquidos pueden causar quemaduras si se mete la mano inadvertidamente dentro del equipo y es importante cuando se usa agua, la máxima temperatura del producto del recipiente superior no excederá los 100°C (punto de ebullición del agua a la presión de 1 atmósfera) Se debe utilizar siempre la bandeja difusora para colocar los tubos de ensayo y evitar el uso si algunos de los controles fallan (el de temperatura o límite) para ello cambiar el agua después de utilizarla y siempre mantenerla con agua destilada.

## **2.10. Aplicaciones del Plasma Rico en Plaquetas y Productos de relleno similares al Plasma Gel.**

Tomando en cuenta que el Plasma Rico en Plaquetas concentra niveles elevados de factores de crecimiento, es un excelente revitalizante o Regenerador Tisular, mientras que el Plasma Gel Plaquetario: tiene un enfoque como un producto de relleno comercial: es decir que debe ser ideal para el tratamiento de líneas de expresión y arrugas superficiales como patas de gallo y arrugas peribucales, en rellenos de arrugas faciales como las del entrecejo, surcos nasogenianos o líneas de marioneta, diseñado para restaurar volúmenes del rostro así como para el perfilado labial, aumento del volumen de labios, refuerzo de las comisuras e hidratación labial.

Los productos de relleno inyectables, se destacan por ser efectivos pero costosos, son biodegradables y no biodegradables de origen animal, humano, bacteriano y sintéticos para reponer volúmenes y armonía al rostro: como son los productos de relleno temporales como el Colágeno, Ácido Hialurónico, y permanentes: como son los biopolímeros disponibles en el mercado, con resultados adversos en alergias.

Existen en el mercado muchos productos, algunos mejores que otros, por consiguiente, unos más empleados que otros, por ejemplo, el Botox no es un relleno, es un inyectable que evita las arrugas paralizando temporalmente como máximo hasta seis meses los músculos, que causan la contracción por ejemplo sobre las arrugas de la frente y alrededor de los ojos. El Botox es aprobado por la FDA para fines cosméticos, es considerado seguro y efectivo, pero por cada jeringa contiene 100 unidades de un complejo de neurotoxina sin conservantes, de la bacteria *Clostridium botulinum*.

Los rellenos de colágeno de origen humano son biocompatibles y sus resultados son de cuatro o más meses, para los rellenos de colágeno que se derivan de las vacas, es necesario realizarse una prueba de tolerancia a este producto debido a potenciales alergias.

También hay productos aprobados por la FDA que contienen partículas de hidroxiapatita de calcio, suspendidas en una solución a base de agua. Este relleno es biocompatible, los resultados duran hasta seis meses o más. También hay productos con ácido sintético poliláctico, conocido bajo la marca de Sculptra, otros que son biopolímeros permanentes como el "ArteFill" que fue aprobado por la FDA en el 2006 para el tratamiento de los pliegues nasolabiales o líneas de expresión.

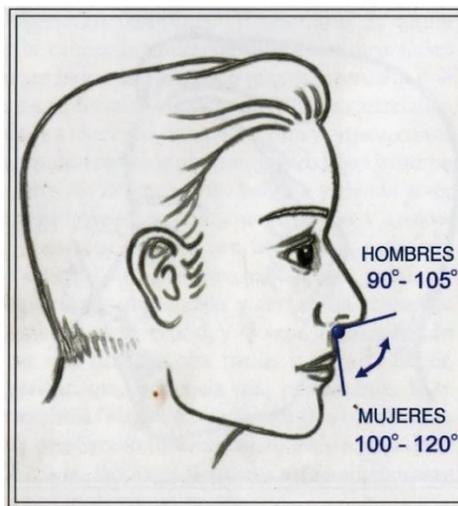
Así mismo es importante conocer que estos productos de relleno aunque fueron aprobados por la FDA para ciertos usos no cosméticos, es comúnmente utilizado para una serie de usos cosméticos, no solo lo que se indica en la etiqueta.

De acuerdo a la respuesta en su performance: en su eficiencia, durabilidad que presente el plasma gel plaquetario en esta tesis de maestría se cataloga, como un nuevo relleno facial autólogo con técnicas estandarizadas de evaluación facial.

## 2.11. Medidas faciales.

### 2.11.1. Ángulo Naso Labial.

Formado por la intersección de las dos líneas en el área subnasal: una es la tangente a la base de la nariz y la otra es la tangente al borde externo del labio superior (Celi, 2015). De acuerdo a los cánones de proporciones estéticas: El ángulo naso labial debe ser más abierto en las mujeres que en los hombres: menos de 105 grados en hombres y menos de 120 grados en las mujeres (Nácul, 2009).



**GRÁFICO6:** (Nácul, 2009) Ángulo Naso-Labial.

Cabe destacar que el ángulo Nasolabial es muy característico de cada persona, existen diferencias significativas en el valor de la población (García Linares S, 2014).

### 2.11.2. Plano horizontal de Frankfurt.

Es el “Plano cefalométrico que pasa por el punto infraorbitario (punto más bajo del reborde inferior de la órbita) y por el porion (punto más alto del conducto auditivo externo)”.



**GRÁFICO7:** (Witriw) 2012. Plano de Frankfurt horizontal.

### **2.11.3. Seguimiento.**

Se lo debe hacer: midiendo la durabilidad en un área incua (ángulo nasal) que representan el desplazamiento y caída de los tejidos por la gravedad dando las marcas típicas del Envejecimiento Facial: los surcos y arrugas. “es decir a mayor duración del producto: el ángulo naso-labial debe estar más abierto, no hay caída de la punta nasal” (Witriw A., 2012).



## LEMAT



**GRÁFICO 9:**Ubicación del Laboratorio LEMAT, ESPOL, donde se realizaron estudios de caracterización reométrica.

Dirección: Campus "Gustavo Galindo", Km 30.5 Vía Perimetral. Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción. Área de Materiales y Procesos de Transformación.

### 3.2. Tipos de investigación.

Al realizar la caracterización biomecánica y molecular del Plasma Gel Plaquetario como relleno facial plaquetario en el Centro Médico Red Salud Total, se aplicaron los siguientes tipos de investigación científica: cuantitativa, experimental, descriptiva y bibliográfica.

### **3.2.1. Investigación cuantitativa.**

Se lo considera a esta investigación cuantitativa, debido a que el estudio mide los componentes a investigar a través de la recolección de datos de las pruebas realizadas, permitiendo probar la hipótesis planteada.

### **3.2.2. Investigación experimental.**

El diseño de investigación a utilizar es de tipo experimental debido a que se manipuló variables para reconocer su efecto, donde el investigador manipula una variable y controla/aleatoriza el resto de las variables. Los sujetos son pacientes voluntarios, que han sido asignados al azar entre los grupos que se solicitó y el investigador sólo pone a prueba un efecto a la vez. Asimismo, es importante saber qué variable(s) se desean probar y medir.

Una definición muy amplia de la investigación experimental, o un cuasi experimento, es porque en esta investigación en donde el investigador influye activamente en algo para observar sus consecuencias, registrando paso a paso la duración del Plasma Gel Plaquetario en ambientes abiertos y cerrados.

### **3.2.3. Investigación descriptiva.**

Se considera descriptiva, ya que se busca describir la situación actual de la literatura nos puede revelar que hay "piezas y trozos" de teoría con apoyo empírico moderado esto es, estudios descriptivos que han detectado y definido ciertas variables, tal es el caso de la nula existencia estrictamente científica del plasma gel plaquetario en la parte Cosmética, pero que sin embargo existen blogs y portales de colegas médicos que opinan y aportan información de esta.

### **3.2.4. Investigación bibliográfica.**

Una investigación bibliográfica es un proceso de búsqueda de información en documentos para determinar cuál es el conocimiento existente en un área particular y precisamente este proceso de búsqueda de información nos determinará cuál es el conocimiento existente en un área particular.

Por tal motivo en esta tesis pretendemos presentar la materia simple y claramente con los principales hechos e ideas, de modo que su lectura sea interesante y estimulante.

### **3.3. Estudio transversal.**

Existen ventajas que nos permiten estudiar varias variables por ejemplo los resultados con la exposición del plasma gel en ambientes abiertos y cerrados. Así mismo existe un tiempo limitado de ejecución del estudio, y no genera un costo alto. Por ello es un buen paso inicial en la elaboración de un estudio de cohorte.

### **3.4. Justificación de la elección del diseño.**

El presente estudio contiene un enfoque cuantitativo. Así mismo siendo de la misma manera descriptivo y a su vez el corte del estudio es transversal por tratarse de una recolección de datos en un momento específico en el tiempo (Hernández R., 2010).

### 3.5. Población y muestra.

Para el presente estudio, se recolectaron las muestras de sangre en un grupo de pacientes del sexo femenino, voluntarias de Red Salud Total, la campaña para la inclusión de pacientes en el grupo experimental empezó en el mes de octubre del 2015 hasta febrero del 2017.

La muestra fue determinada a partir de un universo de 4020 historias clínicas (Anexo 3) del Centro Médico de Especialidades RED SALUD TOTAL, para lo cual se empleó el cálculo de muestreo para poblaciones finitas, establecida por nivel de confianza y margen de error (Suarez M. , 2011), (Suarez M. , 2004), utilizando la siguiente fórmula:

#### FORMULA

$$n = \frac{N \cdot Z^2 \cdot p \cdot q}{(N-1)E^2 + Z^2 \cdot p \cdot q}$$

Dónde:

<b>N=</b>	Tamaño de la población	4020
<b>Z=</b>	Nivel de confianza	84%
<b>E=</b>	Margen de error	16%
<b>p=</b>	Probabilidad de éxito	50%
<b>q=</b>	Probabilidad de fracaso	50%
<b>n=</b>	Tamaño de la muestra	?

**TABLA 1:** (Freire H, 2017) Datos para la formula.

<b>NIVEL DE CONFIANZA</b>	<b>75%</b>	<b>80%</b>	<b>85%</b>	<b>90%</b>	<b>95%</b>	<b>97,50%</b>	<b>99%</b>
<b>Z</b>	1,15	1,28	1,44	1,65	1,96	2,24	2,58

**TABLA 2:**(Freire H, 2017) Nivel de confianza.

Z	N	E	P	q	n	
1,408	4020	0,16	0,5	0,5	1992,37632	numerador
					103,382016	denominador
					19,2719817	tamaño de la muestra
					20	APROX.

**TABLA 3:** (Freire H, 2017) Aplicación de datos para en la fórmula.

Se obtuvo que 20 pacientes es una muestra representativa, debido a que equivalen al 0,50% de la población total de historias clínicas del Centro Médico de Especialidades Red Salud Total. De la cual se las clasificó de la siguiente manera: 10 pacientes jóvenes sanas, con edades comprendidas entre 18 a 37 años y 10 pacientes en edad climatérica entre los 37 y los 65 años de edad, las mismas que serán convocadas para esta investigación, cada paciente tiene su historia clínica registrada.

### 3.6. Viabilidad.

El presente estudio ya despertó interés como un proyecto de Desarrollo + Investigación + Innovación de la Ciudad del Conocimiento (Universidad YachayTech) (Anexo 4) por lo que las autorizaciones correspondientes son factibles así como el uso de servicios de laboratorios especializados con acreditación internacional privados (Netlab) y de universidades y politécnicas ecuatorianas (LEMAT, ESPOL, ESPE) entre otras, además laboro como médico tratante y propietario del centro de Estética “Total Estetic” y del Centro Médico de Especialidades de Red Salud Total con sede en la ciudad de Santo Domingo.

### 3.7. Criterios de inclusión.

Se incluye en el presente proyecto de investigación: Mujeres jóvenes sanas, sin tratamiento, mayores de edad - hasta 37 años, mujeres mayores de 37 años, en edad climatérica, sean premenopáusicas, perimenopáusicas, postmenopáusicas, (indiferentes a las manifestaciones clínicas del síndrome climatérico).

### 3.8. Criterios de exclusión.

Se excluye en el presente proyecto de investigación: Mujeres embarazadas o en período de lactancia. Pacientes que se encuentren participando en otro estudio clínico. Pacientes con diagnóstico de cáncer, colagenopatías, lesiones cutáneas activas. Infecciones sistémicas.

### 3.9. Materiales, Equipos e Insumos.

#### 3.9.1. Recursos humanos y materiales.

<b>HUMANOS</b>	
<b>DESCRIPCION</b>	<b>CANTIDAD</b>
Investigador	1
Tutor académico	1
Tutor metodológico	1
Operadores Reometría	2
Operadores Microscopia	2
Ayudantes obtención muestras	2
Pacientes voluntarios	20
Personal diseño y tabulación	2
<b>MATERIALES</b>	

<b>EQUIPO TECNOLÓGICO</b>	<b>CANTIDAD</b>
Computadora	1
Internet	1
Impresora	1
Cámara digital	1
Pen driver	1
Reómetro oscilatorio	1
Microscopio óptico	1
Microscopio electrónico de Barrido	1
<b>SUMINISTROS DE OFICINA</b>	<b>CANTIDAD</b>
Resma de papel	1
DVD-RAW	1
Cuadernos	1
Lapiceros	1
Anillados	1

**TABLA 4:**(Freire H, 2017) Recursos humanos y materiales.

### **3.10. Descripción y características de los productos y dispositivos utilizados.**

#### **3.10.1. Sección experimental para obtención de Plasma Gel.**

##### **3.10.1.1. Utilitarios y procedimiento para extracción de sangre venosa.**

Se utilizaron útiles propios para realizar la extracción de sangre venosa del paciente: tubos al vacío con sistema BD Vacutainer®, con anticoagulante citrato de sodio de 3,2%, de tubo de doble pared para asegurar la estabilidad del anticoagulante, Tapón de seguridad BD Hemogard™ (Color: Celeste), almacenamiento entre 4-25°C, Jeringas

desechables de plástico transparente de 5 ml con rosca LuerLock, incorporado aguja 21Gx 1 ½”.

### **3.10.1.2. Procedimiento para obtención de sangre para Plasma Rico en Plaquetas.**

Estos pasos son un resumen de la Técnica patentada del Dr. Anitua como Plasma Rico en Factores de Crecimiento (Anitua E, 2016), donde se obtiene de la misma sangre del paciente una porción de plasma rico en factores vitales para iniciar y acelerar la reparación y regeneración tisular, pero sin utilizar grandes cantidades de sangre, ni largas esperas en su proceso, sin adicionar sustancias extras como la trombina bovina o humana, ni utilizar lugares especiales que encarezcan su obtención.

Con el siguiente proceso lo puedo hacer ambulatoriamente, inclusive en un área de un consultorio que cumpla con las condiciones.

**1. Extracción:** Debemos seleccionar la vena cuidadosamente por palpación, Limpieza de la zona de punción con iodo povidona y alcohol, Punción venosa, Llenado de tubos con citrato de Sodio de 20 ml hasta máximo 60 ml. (tubos de tapa celeste).

**2. Centrifugación:** Aplicar tubos de manera cuidadosa sobre la centrifuga ya calibrada por un tiempo de 15 minutos hasta 30 minutos (no se necesita de realizar doble centrifugación).

**3. Separación:** 1. Aspiración de  $Cl_2Ca$  al 0.5% con jeringa seleccionada.  
2. Aspiración del tercio inferior del plasma (PRP) si se desea utilizar para la aplicación al paciente.

**4. Activación:** Mezclar  $Cl_2Ca$  al 10% junto con el plasma (PRP) y homogenizar.

**5. Aplicación:** Limpiar zona a tratar con iodo povidona y alcohol. Aplicar anestesia tópica dependiendo del umbral de dolor de cada paciente.

Para el presente estudio, se omite el paso 4 y 5, ya que obtenemos las 2 fracciones en la parte superior líquida del tubo y de ellas se va a obtener el plasma gel plaquetario. (Gráfico 2).

### **3.10.2. Utilitarios para obtención del Plasma Gel.**

Para la obtención del bioproducto en el presente estudio se extrae y se elabora el Plasma Gel Plaquetario, en días ordinarios, a la paciente modelo (Anexo 5), mediante venopunción se extrae sangre intravenosa al vacío de región cubital en tubos BD Vacutainer® de 4,5 ml con citrato de sodio al 3.2%, agujas 21g x 11/2, se realiza centrifugación con un centrífuga Hettich, EBA 20 de 8 tubos de 6,000 RPM, g-force: 3,461, Baño María HH-W420 BEILI Control PID de temperatura de hasta 100°C, control de tiempo hasta 120 minutos, gradillas de soporte para tubos de ensayos, para ello se utilizó la técnica basada en la tecnología PRGF patentada del Dr. Anitua, se obtienen luego del centrifugado 3 fracciones del plasma, el PRP destinado exclusivamente a la Regeneración Facial aplicada intradérmica, también se obtiene el Plasma Pobre en Plaquetas (PPP) que generalmente se descarta pero se puede utilizar como un nuevo relleno contra la pérdida de elasticidad, se debe obtener el Plasma Rico en Plaquetas de una manera estéril, con un generador de Ozono "Sanitron", 35 watts, 115 Volts, salida de 75 pgr. Eqv. O<sub>3</sub>/ml.

Se utilizó un Baño termostático digital DT5-6A marca BEILI, con las siguientes especificaciones: capacidad: 11 litros, voltaje: 110V 50-60 Hz,

consumo de energía: 2000W, temperatura fluctuación:  $\pm 0,5$  °C, con dimensiones de la cámara de trabajo: 600 mm x 300 mm x 180 mm.

### **3.10.3. Caracterización de sus propiedades Físico - Químicas y Reológicas.**

El Plasma Gel Plaquetario, como es un producto terminado se realizó en laboratorios apropiados en caracterización de materiales, como es Laboratorio de Ensayos Metrológicos y de Materiales (LEMAT) de la ESPO (Escuela Superior Politécnica del Litoral), que inclusive dispone de diversas técnicas complementarias, como: Microscopía Óptica y Electrónica de Barrido (SEM).

### **3.11. Determinaciones Reométricas del Plasma Gel Plaquetario.**

#### **3.11.1. Diseño experimental.**

Se aplicó un diseño de experimentos, el cual consistió en la recolección de las muestras por duplicado, es decir, por cada tipo de muestra (de las 2 fracciones: Fracción 1: PPP (de Plasma Pobre en Plaquetas) y Fracción3: PRP (de Plasma Rico en Plaquetas).

Para evaluar los efectos de las 2 fracciones, se realizó un diseño de experimentos sobre la variable de respuesta  $G'$  y  $G''$  por separado, en donde se evidenció si las concentraciones de las 2 fracciones tienen un efecto sobre las propiedades viscoelásticas del Plasma Gel.

Para evaluar si hay diferencia significativa entre las muestras con las dos fracciones estudiadas, se ejecutó un diseño de experimentos de un solo

factor, en este caso los niveles son ausencia o presencia del mismo en la formulación, sobre la variable de respuesta  $G'$  y  $G''$ , por separado.

### **3.11.2. Análisis reológico.**

Se realizó un análisis reológico de las muestras utilizando el reómetro rotacional "KINEXUS PRO de Malvern" en el laboratorio de ensayos metrológicos y de materiales de la ESPOL.(Anexo 7), cabe destacar que este equipo es el más moderno y completo en cuanto a sus funciones y sustituye a los otros equipos disponibles. Todas las funciones son controladas y monitoreadas directamente a través del software Space, además cuenta con un cartucho Peltier-Plato de capuchón activo con gradiente térmico para sistemas de medición de plato y utiliza un diseño propio para evitar pérdidas térmicas de la muestra, especialmente en las pruebas de temperatura crítica. La característica de un gel está definida en términos de dos mecanismos dinámicos: un módulo elástico (o de almacenamiento) y un módulo viscoso (o de pérdida), considerablemente menor que el módulo elástico en la región de la meseta. Las pruebas de cizallamiento oscilatorio de baja amplitud a una temperatura de  $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , utilizando el reómetro a esfuerzo inducido.

Las características que vamos a evaluar son "la Componente Elástica o módulo de almacenamiento  $G'$ ", "la Componente Viscosa o módulo de pérdida  $G''$ ", así como también la relación existente entre los dos componentes conocida como  $\tan \delta$ .

Antes de proceder a la medición de los módulos de "Pérdida" y "Almacenamiento" se hicieron pruebas para determinar la LVER (Región Viscoelástica Lineal) de las muestras, que es el área en donde los materiales exponen el menor grado de deformación. Para la prueba de LVER se utilizó la geometría de cono con separación de 0,1650 mm y se ejecutó a una "frecuencia constante de 1 Hz" y a un "rango de

deformación” de 0,1 a 100%, a una temperatura constante de 25 ° C.

Como este reómetro es de tipo oscilatorio, después de determinar y establecer la LVER, se midieron los módulos de Pérdida y Almacenamiento mediante la prueba “Frequency - Sweep”. Ésta mide la resistencia exhibida por el material a un movimiento oscilatorio, por medio del cual se obtuvieron los resultados de los módulos, así como la relación entre ellos, la Tan  $\delta$ .

Todos los parámetros utilizados para esta prueba fueron tomados del estudio realizado por Korus y Col (2008), en donde se especifica un rango de “frecuencia angular” de 0,1 a 100 rad/s a una temperatura constante de 25°C. Se aplicó el porcentaje de deformación de 0,1% según la recomendación del estudio mencionado.

### **3.11.3. Análisis estadístico.**

Se procedió a estimar la media para cada observación con el objetivo de tener un solo grupo de datos para cada fracción del plasma gel y de ésta manera hacer a las unidades de investigación más representativas.

Para los promedios de cada observación se realizaron las pruebas de normalidad con el propósito de identificar que análisis de varianza es factible a utilizar en el estudio correcto de los datos. Para los datos que continúan en una distribución de la forma normal, se recurrió a la herramienta estadística ANOVA, (Vicéns, Herrarte, & Medina, 2005) y para los datos que no presentaron distribución normal se utilizó la herramienta no paramétrica Krusal - Wallis.

### 3.12. Caracterización con Microscopía Óptica.

Cuentan con lentes objetivo intercambiables, permiten al usuario ajustar rápidamente la ampliación. La ampliación típica de un microscopio óptico, suponiendo una luz de rango visible, es de hasta 1250x con un límite de resolución teórico de alrededor de 0,250 micras o 250 nanómetros. Esto limita el límite de aumento práctico a 1500x (Aspden, y otros, 2015).



**GRÁFICO10:** (Freire H, 2017). Microscopio óptico Leica DMRB, con cámara digital Leica DC 500.

### 3.13. Análisis Estructural del Plasma Gel con Microscopía Electrónica.

#### 3.13.1. Microscopio SEM, sistema MIRA3.

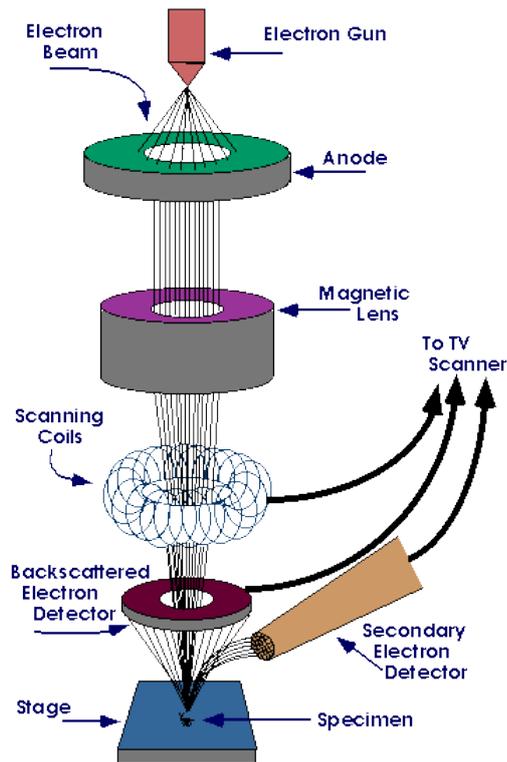
Precisamente el tipo MIRA3 es un sistema SEM de alto rendimiento que cuenta con un emisor de alto brillo que logra imágenes de alta resolución

y bajo nivel de ruido, que aprovecha las últimas tecnologías y desarrollos en SEM; la adquisición de imágenes es más rápida, ya que posee un sistema de escaneo ultrarrápido, además compensación dinámica y estática con scripts incorporados para aplicaciones definidas por el usuario.



**GRÁFICO11:** (Freire H, 2017). Microscopio SEM, MIRA3 ubicado en el laboratorio Cencinat de la ESPE, en Quito.

La técnica de análisis superficial, consiste en enfocar una muestra: un fino haz de electrones, el cual es acelerado con energías de excitación desde 0.1kV hasta 30kV y que permite obtener información morfológica, topográfica y composicional de las muestras produciendo imágenes de alta resolución (de hasta 3 nm).



**GRÁFICO 12:** (KÖRINFO, 2015). Esquema del Microscopio SEM.

### 3.13.1.1. Características clave.

Tiene una tecnología en tiempo real: Real-time BeamTracing™ para su rendimiento y la optimización del control directo y continuo del haz y la corriente. Este equipo posee un emisor (Schottky) de alto brillo para imágenes de alta resolución / alta intensidad / bajo nivel de ruido. El diseño Wide Field Optics™ con lente Intermediate Lens (IML) patentada que ofrece una variedad de modos de trabajo y visualización, para un campo de visión o profundidad de enfoque mejorados. Cuenta con la aplicación: BeamDecelerationTechnology (BDT) para una excelente resolución, con excelente imagen a cortas distancias de trabajo con el potente detector In-Beam.

Las cámaras MIRA3 proporcionan un manejo superior de las muestras con una etapa computarizada totalmente motorizada de 5 ejes y una geometría ideal. Posee numerosos puertos de interfaz con geometría

analítica optimizada - Investigación de muestras no conductoras en modos de presión variable. Varias opciones para el tipo de suspensión de cámara aseguran una reducción efectiva de las vibraciones ambientales en el laboratorio.

**Preparación de muestras**, se incluyen: Fijación, deshidratación, secado de punto crítico, metalización y evaporación.

Debido a las características propias de funcionamiento, las muestras deben ser conductoras y que estén libres de humedad. Relativamente la preparación de las muestras es sencilla, y se pueden observar muestras con objetos de tamaño desde centímetros hasta del orden de nanómetros. Debido a su gran profundidad de campo, le da una apariencia tridimensional a las imágenes, lo que permite enfocar y observar amplias zonas de la muestra al mismo tiempo se reconstruyen las imágenes en alta resolución, de hasta 3 nm.

Es preciso que exista un equipo metalizador para que se produzca un recubrimiento de grano fino (100 Å) uniforme y conductor, de revestimiento y recubrimiento con oro y técnicas de evaporación con carbono. También es necesario un equipo secador de punto crítico, mediante etapas de procesamiento, logra estabilizar y preservar la dócil estructura tridimensional de las muestras.

Las muestras deben ser cubiertas con un material conductor para su observación en el SEM. Para este fin se utiliza un Evaporizador de oro SputterCoatingQuorum Q105R bajo condiciones especiales: 15 mA y 80

mTorr por 60 segundos para producir una capa con espesor de aproximadamente 20 nm.



**GRÁFICO 13:** (Freire H, 2017) Derecha: Evaporizador de oro SputterCoatingQuorum Q105R. Izquierda: sistema de pulverización catódica Carbono de evaporación anatech CEA 2.2 (ubicado en el laboratorio Cencinat de la ESPE, en Quito).



**GRÁFICO 14:** (Freire H, 2017). El Q150R tiene una amplia gama de opciones y accesorios, entre ellos está el Sistema de pulverización catódica Carbono de evaporación Accesorio Anatech CEA 2.2.

Además, utiliza carbono y grafito para la evaporación, específicamente utiliza varillas de carbono y de grafito, sabemos que el grafito es la forma estable de carbono. El grafito es uno de los más suaves, en cambio el diamante es uno de los minerales más difíciles conocidos por el hombre, el carbono es más duro que el grafito, para las aplicaciones del microscopio SEM, se recomienda el grafito.

Así mismo, las películas de carbono y grafito son las más utilizables en SEM debido a sus características: uniformidad amorfa y una gran transparencia para los haces de electrones, debido a su bajo peso molecular y su estructura única (ya que el grafito tiene una estructura tipo lámina, es decir que todos los átomos se encuentran en un solo plano), las películas de carbono y grafito tienen una excelente estabilidad mecánica, e incluso el espesor de la película es de aproximadamente 1-2 nm.

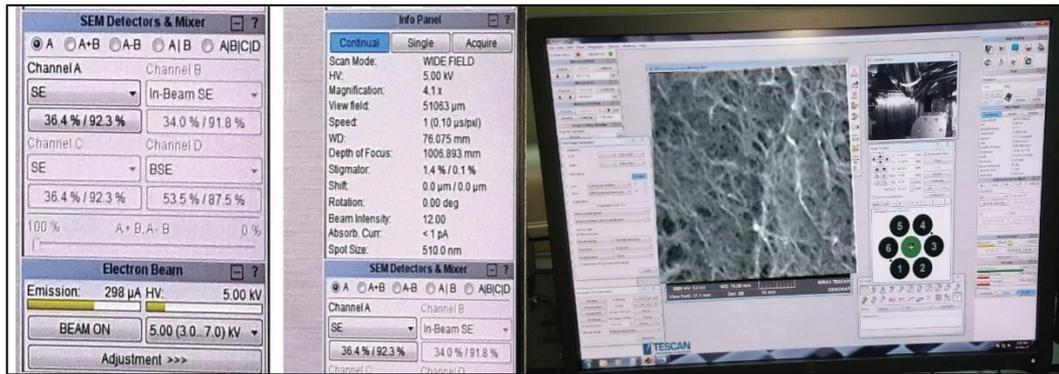
Las muestras de plasma gel plaquetario tanto de la Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas y Fracción 3 (PRP) Plasma Rico en

Plaquetas fueron obtenidas en forma de discos de 1 mm de espesor y menos de 1 cm de diámetro, para que puedan ser contenidas dentro de los pines del portamuestras del SEM (Gráfico 15).

Luego fueron secadas en el laboratorio, por una hora a 60°C y luego desecadas por 48 horas, para este fin se utilizó un evaporizador de oro SputterCoatingQuorum Q105R a 15 mA y 80 mTorr por 60 segundos para producir una capa con un espesor aproximado de 20 nm. A continuación, ambas muestras fueron cubiertas con un material conductor para su observación en el SEM. Las muestras fueron fijadas con cinta de carbono conductora doble faz a un soporte para SEM. Finalmente, los portamuestras fueron introducidos al microscopio electrónico de barrido TESCAN MIRA 3 alto vacío y fueron observadas con un voltaje de 5 kV en modo SEM.



**GRÁFICO 15:** (Freire H, 2017) Equipo de SEM, portamuestras y sus pines, elaboración previa de plasma gel en discos para su análisis.



**GRÁFICO 16:**(Freire H, 2017) Parámetros de análisis.

### 3.14. Determinación de la duración “in vitro” del producto.

Para determinar cuantitativamente la duración “in vitro” se procedió a escoger las capas que se obtuvo de la Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas y de la Fracción 3 (PRP) Plasma Rico en Plaquetas. Y vamos a determinar su durabilidad en el tiempo:

Las muestras del plasma gel plaquetario, producto de la Fracción 1 PPP y Fracción 3 PRP se los guardó en un anaquel, en ambiente cerrado y abierto para luego ver qué pasa con su estructura, en el tiempo.

#### 3.14.1. Duración “in vitro” del producto en ambiente cerrado.

Se pipeteó el bioproducto proveniente de la Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas y Fracción 3 (PRP) Plasma Rico en Plaquetas en jeringas y botellas de inyección esterilizadas para investigar su consistencia en ambientes cerrados (sin contacto directo con el aire del ambiente), y se los etiquetó para su identificación, y se los almacenó en alacena.

### 3.14.2. Duración “in vitro” del producto en ambiente abierto.

Se colocó el bioproducto proveniente de la Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas y Fracción 3 (PRP) Plasma Rico en Plaquetas, en recipientes de cristal y se expuso al aire libre, se los etiquetó para su identificación y se los guardó en alacena.



**GRÁFICO 17:** (Freire H, 2017) Plasma Gel, jeringas y cánulas.

## CAPÍTULO 4

### 4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE DATOS

#### 4.1. Resultados y análisis.

#### 4.2. Procedimientos estandarizados para la obtención del Plasma Gel Plaquetario a partir de la 1ra y 3ra Fracción del PRGF.

##### 4.2.1. Procedimiento para gelificación del Plasma.

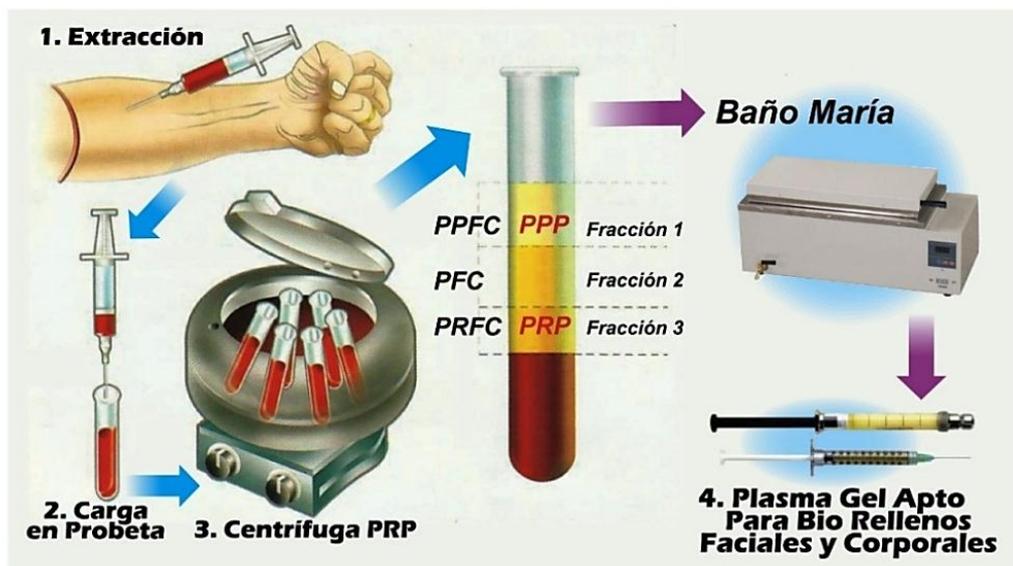
Una vez obtenido el Plasma Rico en Plaquetas, concretamente el Plasma Rico en Factores de Crecimiento, lo dividimos en 3 Fracciones (Gráfico 2) y es la Fracción 1, el (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas o (PPGF) Plasma Pobre en Factores de Crecimiento de acuerdo a la tecnología PRGF, es la Fracción 1 la que nos interesa procesarle en Plasma Gel, la misma fracción que es desechada en la técnica anterior, ya que como su nombre lo dice: es pobre en plaquetas, carece de los Factores de Crecimiento y no me sirve como regenerante en la aplicación al paciente, por lo que es desechado.

La gelificación de esta fracción la conseguimos calentando el material a baño maría (calentamiento indirecto por convección térmica desde el medio líquido, en este caso: agua, con un rango sobre temperatura de 85 grados centígrados controlada por el termómetro, en un período de 5 minutos. Es importante procurar que la temperatura sea estable para que el material gelifique correctamente, ya que un aumento de la temperatura y/o lapso de tiempo podemos saturar la disposición de gel y no se podrá utilizar, en nuestro estudio se realizó de una forma muy práctica, con la misma jeringa (de preferencia de 3 o 5 cm) que se extrajo la Fracción 1 del

Plasma Pobre en Plaquetas, la debemos introducir y mantener dentro de la cubeta que contiene el agua y de preferencia en posición horizontal y colocados el respectivo tapón tipo luer. De este modo, se calienta en primer lugar el líquido (agua destilada) contenido en el recipiente de mayor tamaño (equipo de baño maría) y este va calentando gradualmente el contenido del recipiente menor (jeringa con fracción líquida del plasma pobre), de un modo suave y constante. Es indispensable que en todo tiempo el recipiente interior más pequeño (jeringa) esté en contacto con el líquido para que se produzca la transmisión de calor. (Gráfico 18)

Una vez producida la Gelificación, el material debe ser enfriado, al cual lo vamos a denominar con propiedad: Plasma Gel Plaquetario, componente que luego de este estudio va a ser utilizado como material de relleno, para lo cual se deberá colocar a la temperatura corporal del paciente, como un relleno tisular autólogo. (Gráfico 19)

#### PROCEDIMIENTO GENERAL PARA OBTENCIÓN DE PLASMA PLAQUETARIO



**GRÁFICO 18:** Freire H. (2017). Procedimiento general para la obtención del Plasma Gel Plaquetario.



**GRÁFICO19:** (Freire H, 2017). Procedimiento para la obtención del Plasma Gel.

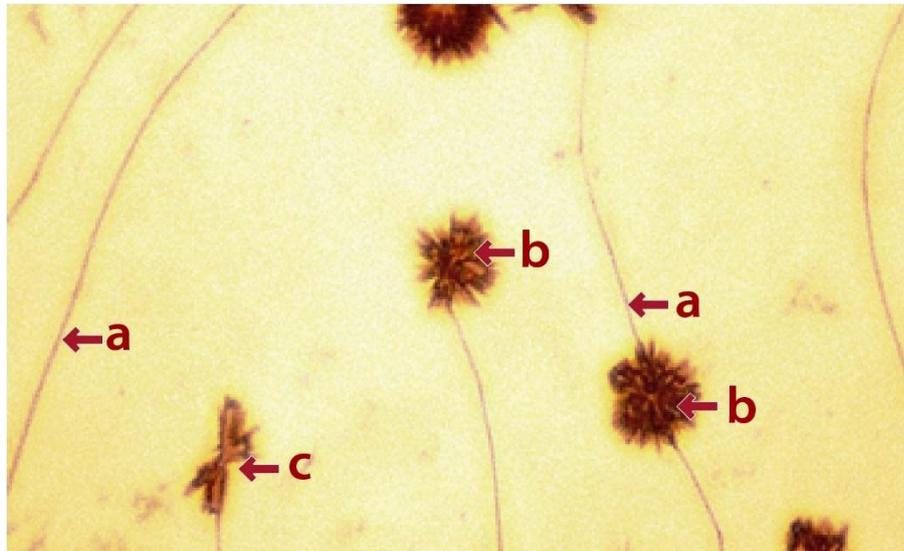
### 4.3. Identificación de las características y propiedades físicas escalares, vectoriales y tensoriales del plasma gel mediante equipos y dispositivos para ensayos reológicos y microscópicos.

#### 4.3.1. Determinación de análisis con microscopía.

##### A. Óptica.

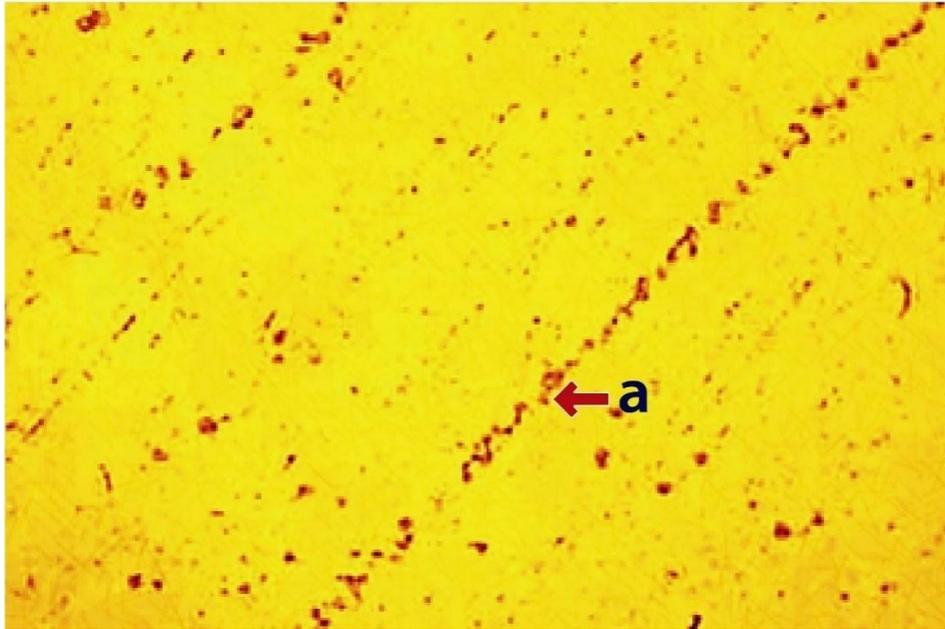
La resolución de 100 x, en la muestra de Fracción 1 (PPP) líquida, donde se observan algunas plaquetas aisladas, así como cristales de calcio y

microfibrillas (proteínas) dispersas muy largas sobre un fondo muy homogéneo. (Gráfico 20).



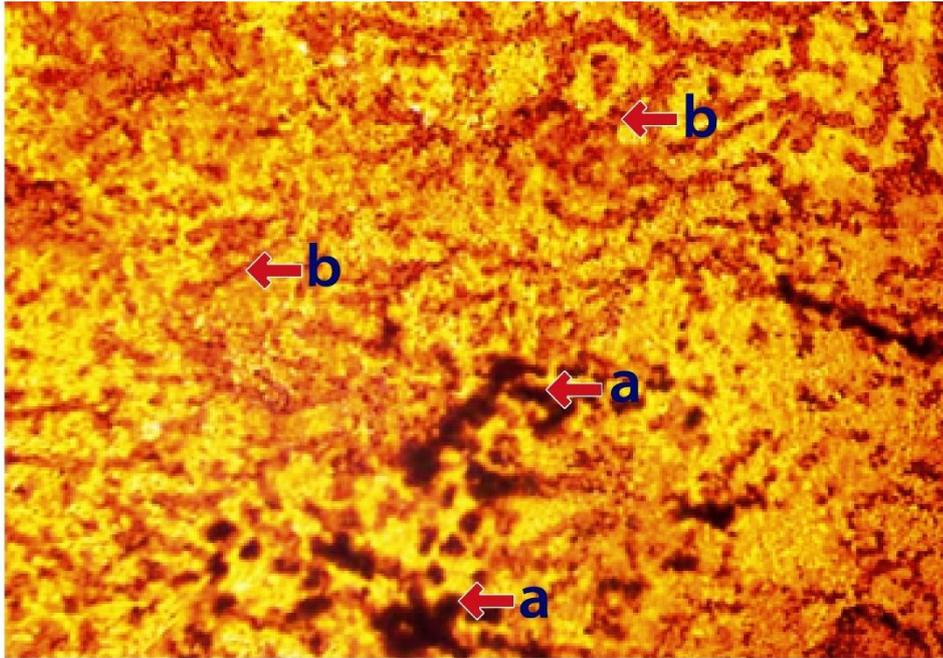
**GRÁFICO 20:**(Freire H, 2017) Microfotografía 100x/i.a. de la Fracción 1 (PPP) líquida, de Plasma Pobre en Plaquetas. Las flechas rojas con los literales nos indican **a**: filamentos de microfibrillas **b**: agregados plaquetarios **c**: cristales

En la Fracción 3 (PRP) líquida de Plasma Rico en Plaquetas, resolución de 100 x, con la presencia de gran cantidad de trombocitos, visualizamos acúmulos de fibrina coagulada (el material fibrilar está coagulado sobre una base amorfa con un número aproximado de 900.000 x mm<sup>3</sup>), los cuales son los llamados a generar la acción de factores de crecimiento.(Gráfico 21).



**GRÁFICO 21:** (Freire H, 2017) Microfotografía 100x/i.a. de la Fracción 3 (PRP) líquida del Plasma Rico en Plaquetas. Las flechas rojas con los literales nos indican. **a:** acúmulos de material fibrilar en forma de columnas.

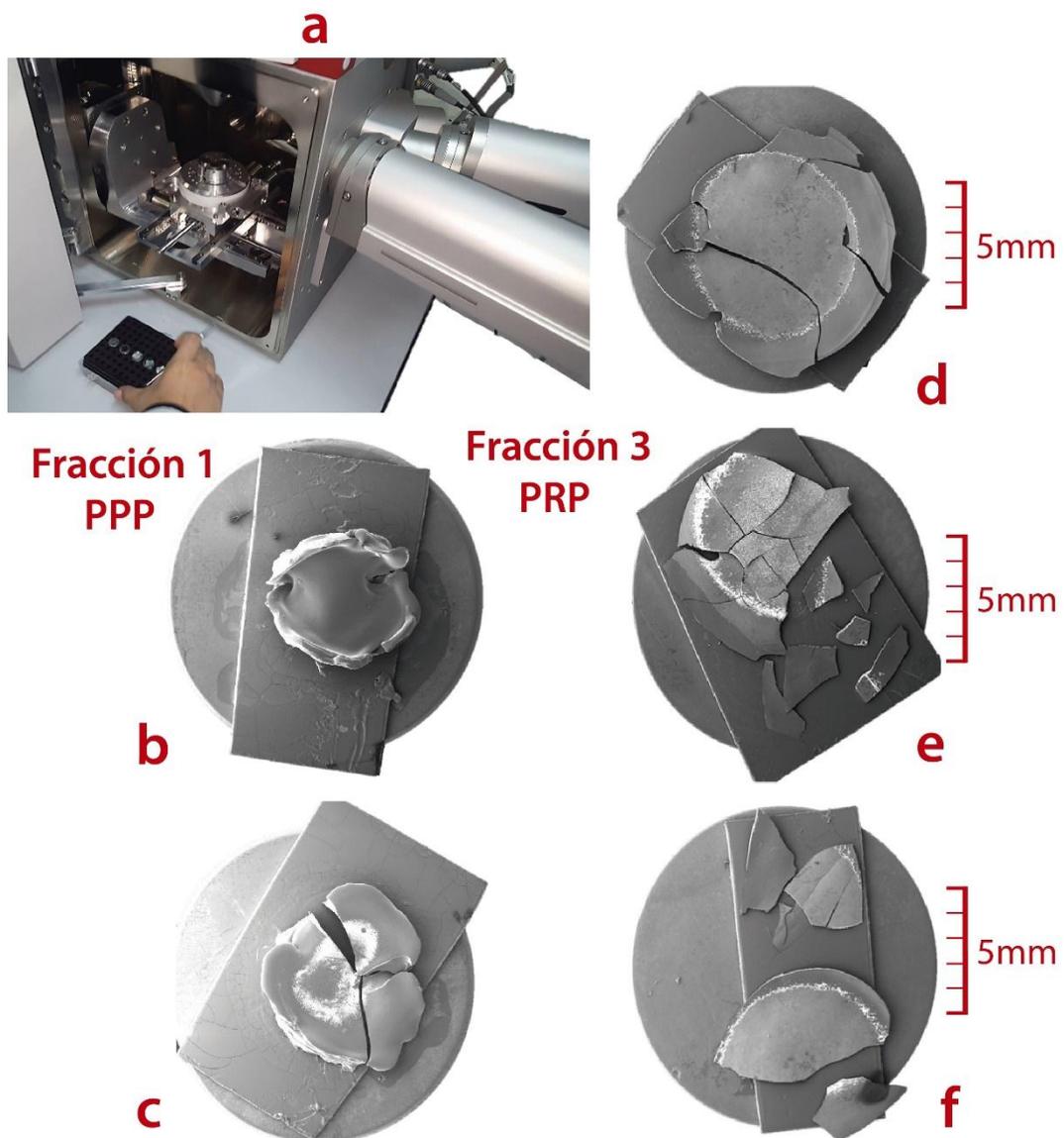
La Fracción 1 gelificada de Plasma Pobre en Plaquetas se puede apreciar como un gran conglomerado que aglutinó al material rico en fibrinógeno en fibrina y que hace característico al Plasma Gel Plaquetario, y que nos da la idea como un material de relleno presenta un volumen propio, como característica principal es la presencia de las retículas, frente a los aglomerados plaquetarios en una relación doscientos a uno. Prácticamente tiene una morfología de un biopolímero, pero, de fibrina coagulada. (Gráfico 22).



**GRÁFICO22:**(Freire H, 2017) Microfotografía 100x/i.a. Plasma Gel Plaquetario. Correspondiente a la Fracción 1 gelificada de Plasma Pobre en Plaquetas, Las flechas rojas con los literales nos indican. **a:** agregados plaquetarios en forma de columnas **b:** retículas.

## **B. Microscopía Electrónica de Barrido.**

Para el presente análisis de las muestras: se los clasificó en diferentes carpetas digitales, donde se obtuvieron varias microfotografías a diferentes magnificaciones de cada una de las muestras procesadas.(Gráfico 23).Se analizó un total de 5 muestras:3 con Fracción 3 (PRP) Plasma Rico en Plaquetas y 2 con Fracción 1 (PPP)Plasma Pobre en Plaquetas, podemos apreciar el portamuestras introducidas a la cámara del Microscopio de Barrido y en detalle el Pin para SEM, con su correspondiente muestra de Plasma Gel Plaquetario (estas muestras deben ser de 1 mm de espesor y un diámetro inferior a 1 cm (para que pueda caber en dentro del Pin)).



**GRÁFICO 23:** (Freire H, 2017). Microfotografías de las muestras procesadas a: en recuadro: Portamuestras introducidas al SEM, TESCAN MIRA 3., a la izquierda: **b y c:** pines con F1 (PPP), a la derecha: **d, e y f:** pines con F3 (PRP), con una magnificación de 15 x (campo visual: 13, 8 mm).

### Resultados por Fracción del Plasma Gel Plaquetario.

Para este análisis, (Gráfico 24). Vamos a tener como referencia: en la parte superior una imagen guía a 15x, para que se pueda reconocer las

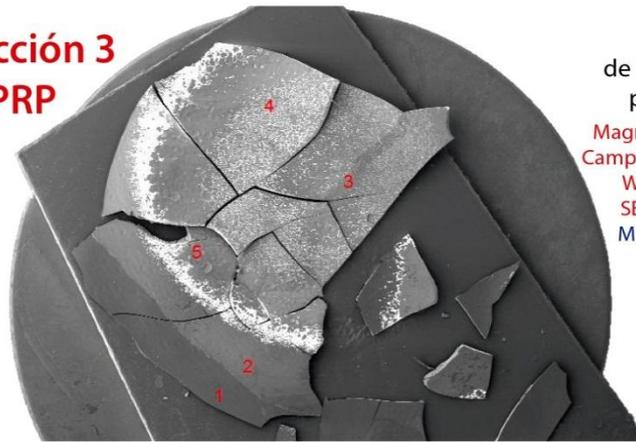
zonas en las que se tomó la imagen, cada imagen tiene la codificación de la zona en la que fue tomada.

De las muestras obtenidas de la Fracción F3 (PRP) Plasma Rico en Plaquetas, podemos apreciar de las zonas de la periferia del disco en el sector 1-3, a 1kx (1000x) una superficie no homogénea, algo uniforme con presencia de pequeños poros, a 10 kx (10,000 x) estos agujeros se aprecian no tan numerosos, aproximadamente de 1 a 3  $\mu\text{m}$ , aunque también se aprecia plisados pero siempre con la presencia de poros, en el sector 3 (más central del disco), se aprecia ciertas elevaciones sobre un fondo granulado, que no son más que aglomeraciones de los agregados plaquetarios y las llamadas retículas, razón por la cual ya son evidencias de una andamio estructural.

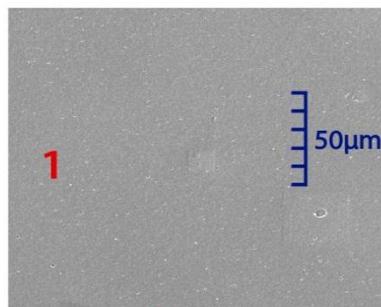
Como vemos en la parte superior del Gráfico 25 en el mismo sector 3, hay dos fotografías, la primera fotografía a una resolución de 5 kx se aprecia un segmento muy homogéneo, (a manera de fragmento de unas 15  $\mu\text{m}$ ) sobre una superficie granulosa, que corresponde a un pedazo de Plasma Pobre, que está encima de toda la extensión muy heterogénea, granular y rugosa del Plasma Rico, como se aprecia en el sector 4, mientras que la fotografía con resolución a 10 kx presenta la superficie particular del Plasma Rico.

En el sector 5 vemos claramente el límite entre las 2 fracciones: lisa y homogénea de la Fracción 1 (PPP) frente a la superficie heterogénea y granulosa de la Fracción 3 (PRP), esto se debe a los artefactos propios que se producen en la obtención de las 2 fracciones líquidas antes de la gelificación.

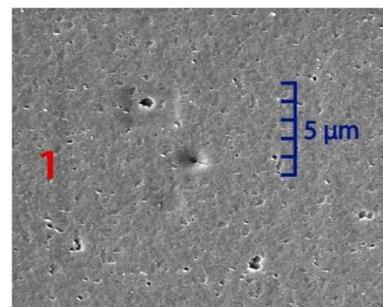
**Fracción 3  
PRP**



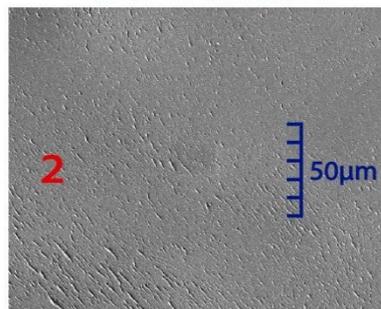
**GUÍA**  
de las muestras  
procesadas  
Magnificación a 15 x  
Campo Visual: 13.8 mm  
WD: 26.33 mm  
SEM HV: 5.0 kv  
MIRA 3 TESCAN



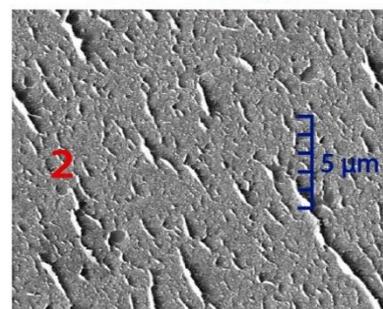
1.00 kx CV: 208 mm



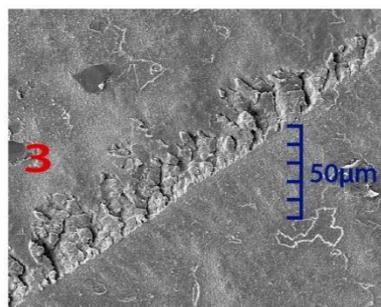
10 kx CV: 20,8 mm



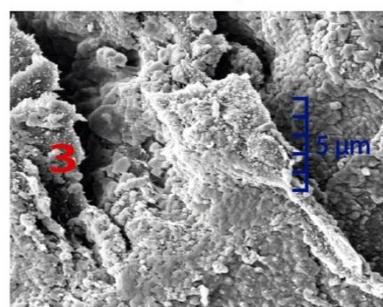
1000 x CV: 208 mm



10 kx CV: 20,8 mm

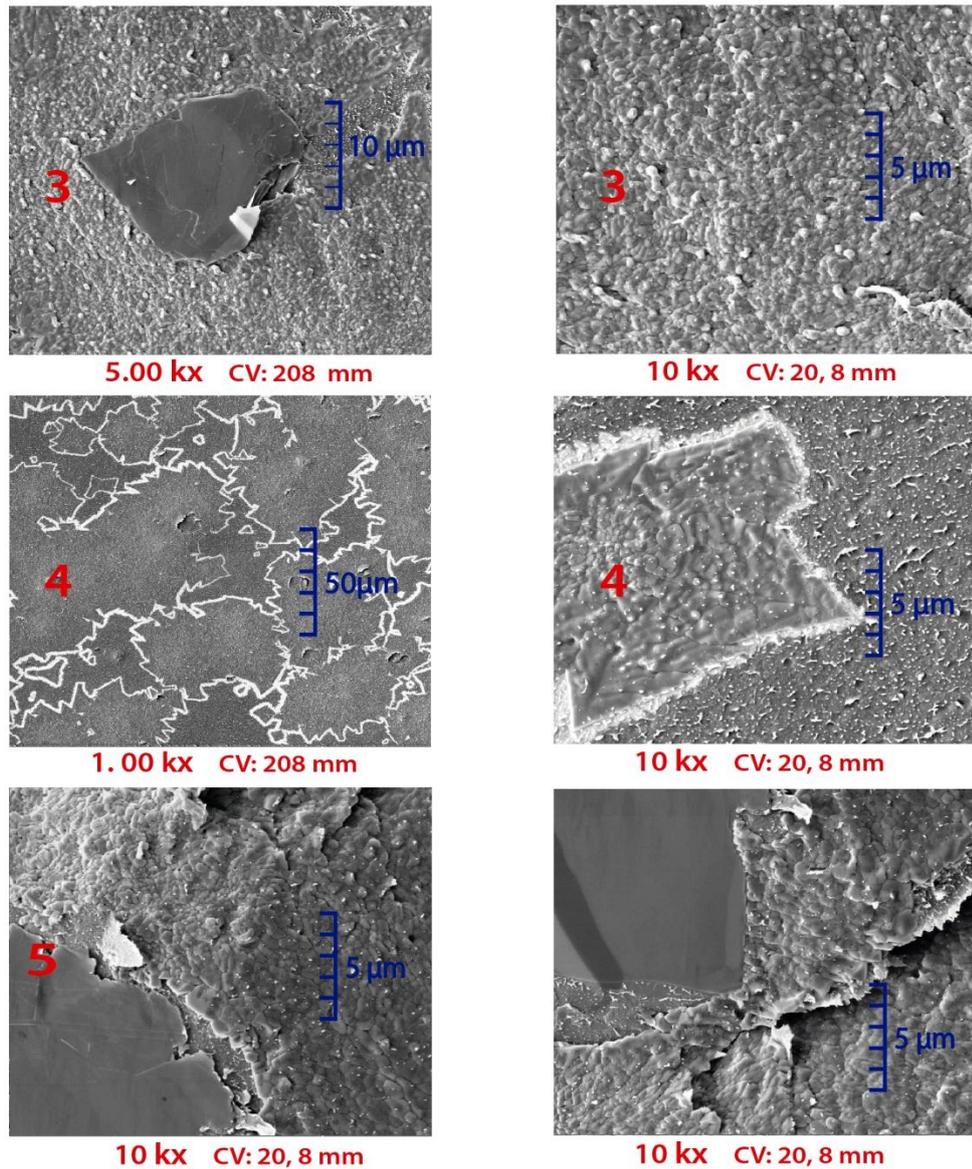


1.00 kx CV: 208 mm



10 kx CV: 20,8 mm

**GRÁFICO24:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP), en la parte superior: se observa la Guía de la muestra procesada, con una magnificación de 15 x (campo visual: 13, 8 mm). Las fotos 1 y 2 corresponde a la periferia de la muestra y la foto 3 corresponde al centro.



**GRÁFICO25:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP), continuación de la Guía procesada anterior, Las fotos **3**, corresponde a otra área de la parte central de la muestra, las fotos **4** en el tercio externo de la muestra, y la foto **5** en la frontera.

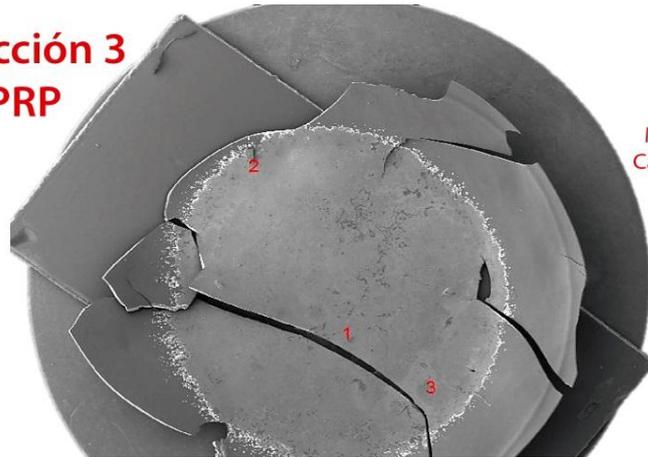
(Gráfico 26):

En esta muestra: el sector 1, ubicado en la parte central del disco, se aprecia muy claramente a 1 kx: superficie granulosa de la Fracción F3 (PRP) Plasma Rico en Plaquetas, con la presencia de poros, a manera de cráteres o lagunas, con espacios entre variables entre si entre 20 a 50  $\mu\text{m}$ , a 10 kx: se visualiza un poro, cuya silueta no es del todo regular, alrededor están los trombocitos aglomerados, producto de la activación plaquetaria, y su morfología cambia drásticamente.

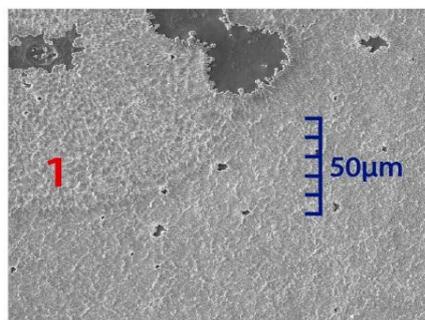
En el sector 2, a 1 kx: en la parte periférica del disco de la muestra, presenta el aspecto de un panal de abejas, de aproximadamente 40 a 50  $\mu\text{m}$  de diámetro, se aprecia en las partes centrales ciertos acúmulos plaquetarios a 10 kx están magnificados la morfología en 3D de las plaquetas activadas, donde los trombocitos incrementan su tamaño, de hasta más de 5  $\mu\text{m}$ , en un patrón de formas muy variables.

En el sector 3, a 5 kx: la superficie granular de esta fracción queda evidenciada por el gran conglomerado de plaquetas, los cuales se encuentran aglutinados como se aprecia a 10 kx: con la consiguiente disminución de su tamaño, de uno a tres  $\mu\text{m}$ . y de una forma muy desordenada, no dejando ninguna oportunidad para que se forma orificios o poros en su superficie.

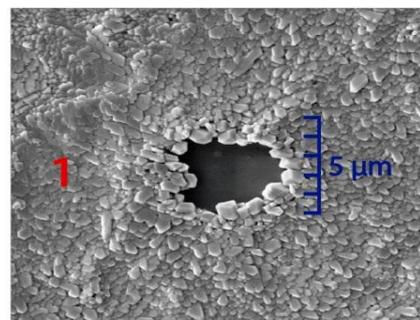
## Fracción 3 PRP



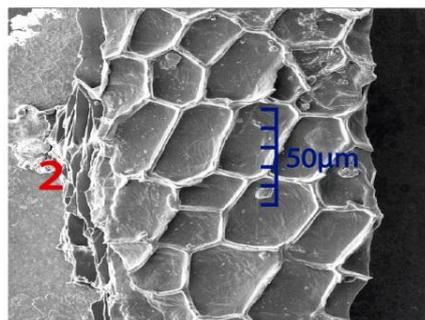
GUÍA  
de las muestras  
procesadas  
Magnificación a 15 x  
Campo Visual: 13.8 mm  
WD: 26.33 mm  
SEM HV: 5.0 kv  
MIRA 3 TESCAN



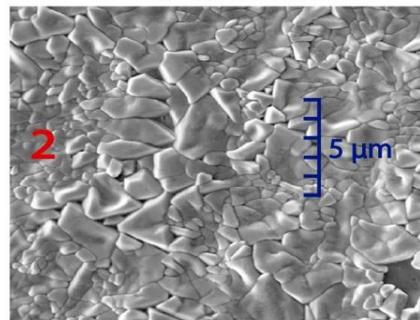
1.00 kx CV: 208 mm



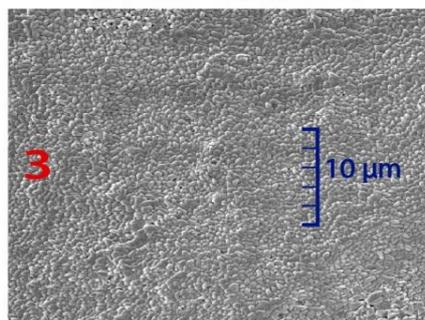
10 kx CV: 20,8 mm



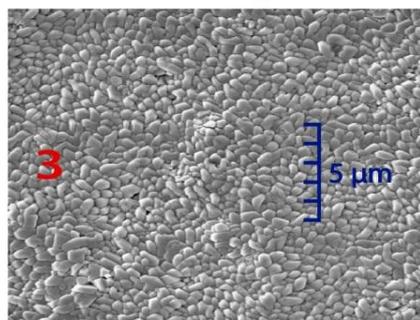
1.00 kx CV: 208 mm



10 kx CV: 20,8 mm



5 kx CV: 41,5 mm



10 kx CV: 20,8 mm

**GRÁFICO26:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP), en la parte superior: se observa la Guía de la muestra procesada, con una magnificación de 15 x (campo visual: 13,8 mm). Las fotos 1 de la parte central 2 son border line y 3 en un área saturada de plaquetas.

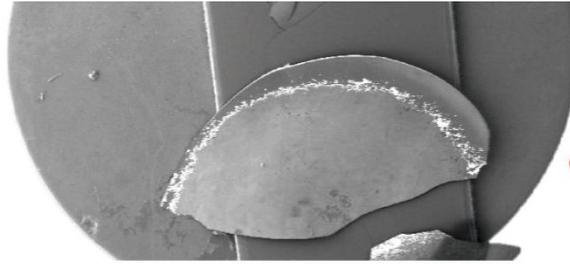
(Gráfico 27):

Con magnificación a 1kx: la presencia de acúmulos plaquetarios, de aspecto mapeado es la constante en la superficie que le da un aspecto granular, con la presencia de algunos poros de distribución y tamaño irregular (de entre uno a diez  $\mu\text{m}$ ).

Con magnificación a 5kx: se demuestra la presencia de los acúmulos de trombocitos aglomerados, que dan la apariencia en 3D, de formar oleadas, producto de la gran congestión de estos acúmulos plaquetarios activados que dan la oportunidad de que se formen muy pocos poros y muy pequeños en el resto de la superficie del gel plaquetario.

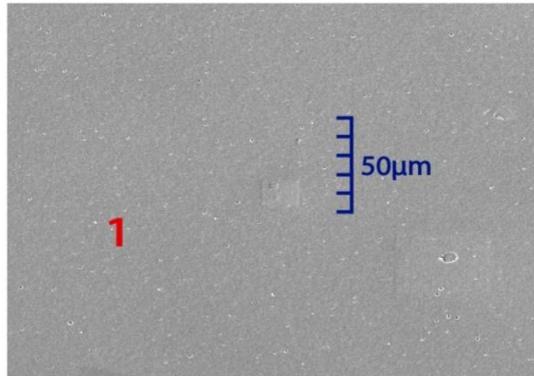
Con magnificación a 10 kx: los trombocitos aglomerados, producto de la activación plaquetaria y su morfología muy irregular.

### Fracción 3 PRP

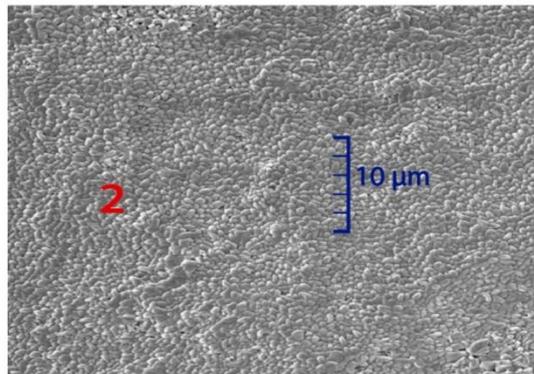


GUÍA  
de la muestra  
procesada  
Magnificación a 15 x  
Campo Visual: 13.8 mm  
WD: 26.33 mm  
SEM HV: 5.0 kv  
MIRA 3 TESCAN

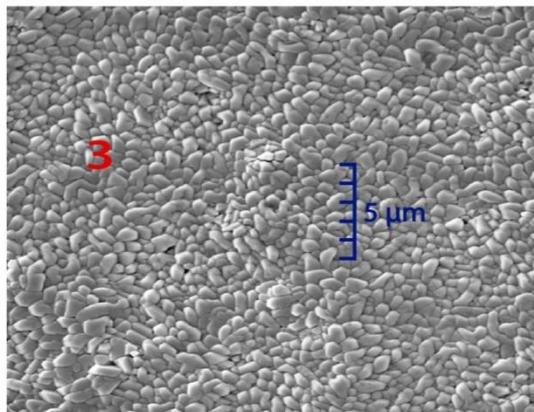
1. 00 kx  
CV: 208 mm



5 kx  
CV: 41, 5 mm



10 kx  
CV: 20, 8 mm



**GRÁFICO27:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F3 (PRP), en la parte superior: se observa la Guía de la muestra procesada, con una magnificación de 15 x (campo visual: 13, 8 mm). Las fotos **1,2 y 3** están en orden secuencial de acúmulos plaquetarios.

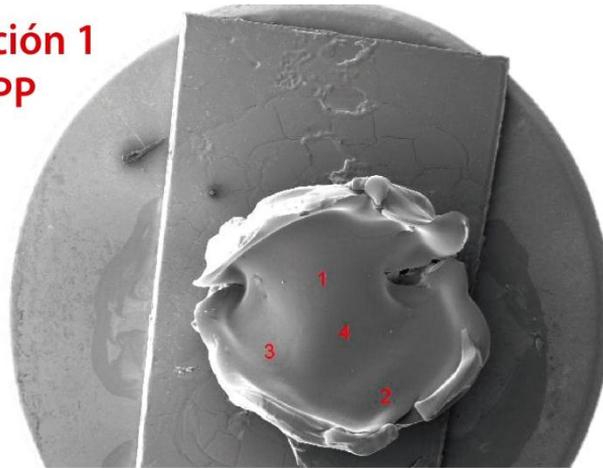
(Gráfico 28):

En la muestra, con la Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas, se aprecian 4 fotos del sector 1, al centro del disco de la muestra del gel plaquetario, se han obtenido microfotografías SEM, a 1 kx: se aprecia una superficie homogénea, no granular, a 10 kx: se aprecian pequeños orificios y poros, los cuales no son uniformes en su distribución y espacio entre sí, pero si son numerosos.

(Gráfico 29):

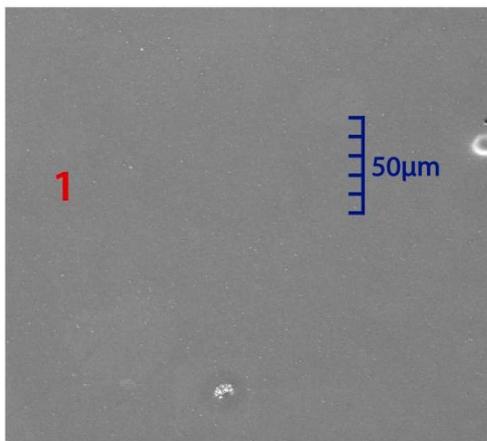
En los sectores 2 y 3, del disco de la muestra del gel plaquetario, de la Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas, se muestran casi el mismo patrón homogéneo, a 1 kx: la superficie del plasma gel, da la apariencia de ser levemente granuloso, pero a 10 kx: se aprecia la presencia de poros, en un importante número, pero pequeños que no sobrepasan los 0,2  $\mu\text{m}$ . sobre una superficie homogénea.

**Fracción 1  
PPP**

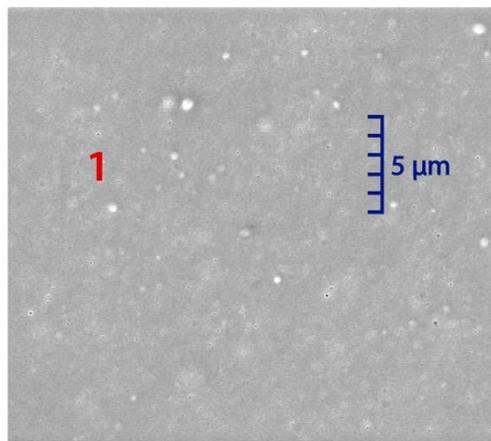


**GUÍA**  
de las muestras  
procesadas

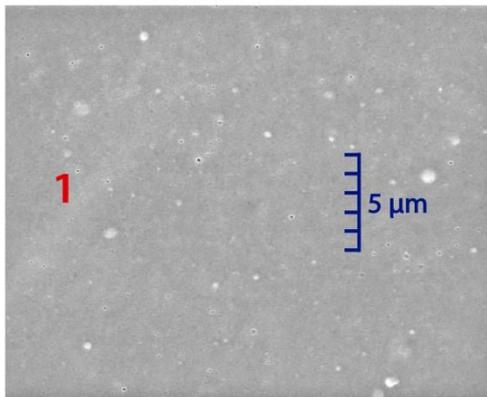
Magnificación a 15 x  
Campo Visual: 13.8 mm  
WD: 26.33 mm  
SEM HV: 5.0 kv  
MIRA 3 TESCAN



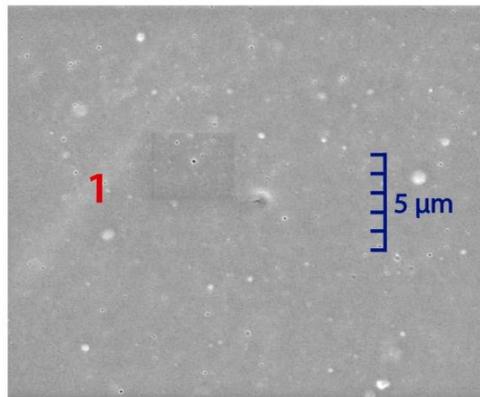
1.00 kx CV: 208 mm



10 kx CV: 20,8 mm

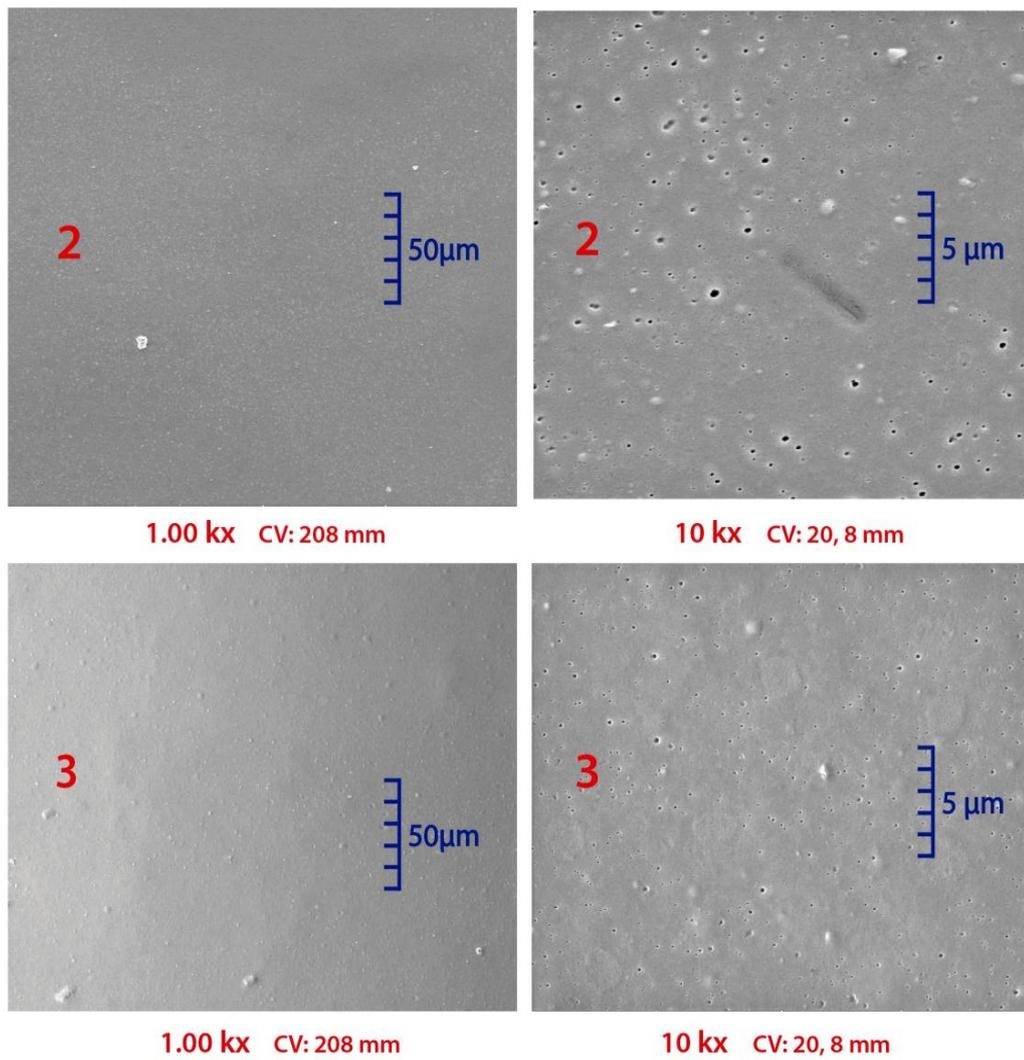


10 kx CV: 20,8 mm



10 kx CV: 20,8 mm

**GRÁFICO28:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP), en la parte superior: se observa la Guía de la muestra procesada, con una magnificación de 15 x (campo visual: 13, 8 mm). Las fotos 1 corresponden a la parte central de la muestra.



**GRÁFICO29:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP), es la continuación de la muestra Guía del **Gráfico 28**. Las fotos **2** corresponden a la parte central y las fotos **3** a la periferiade la muestra.

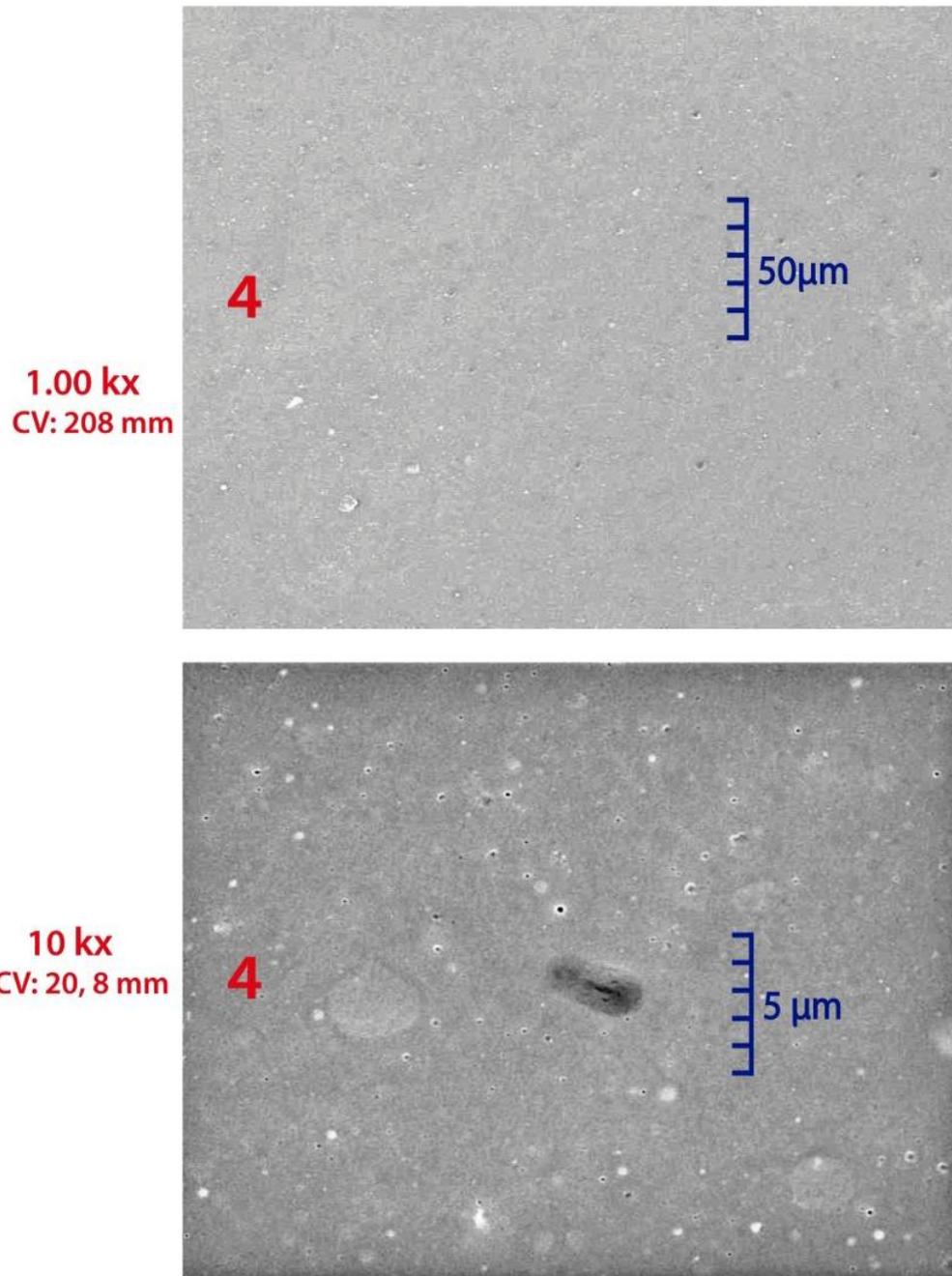
(Gráfico 30):

Estas fotos corresponden a la continuación del Gráfico 29, de la Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas.

En el sector 4, de la muestra, a 1 kx: presenta la superficie casi el mismo patrón homogéneo, constituido mayormente de fibrina coagulada, a 10 kx: la presencia de pequeños y numerosos poros, distribuidos de forma irregular.

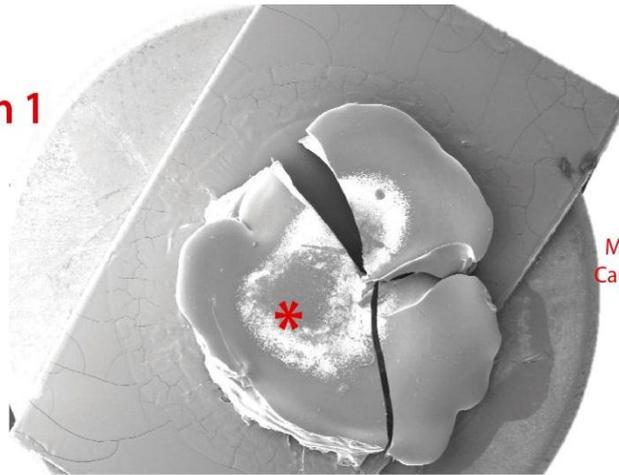
(Gráfico 31):

Las microfotografías SEM, de la muestra Fracción 1 (PPP) Plasma Pobre en Plaquetas, como referente presenta a 1 kx: una superficie con el mismo patrón homogéneo, casi monótono, constituido mayormente de fibrina coagulada, a 10 kx: la presencia de pequeños y numerosos poros, distribuidos de forma irregular.



**GRÁFICO30:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP), es la continuación de la muestra Guía del **Gráfico 32**, Las fotos **4** corresponden a la parte central de la muestra.

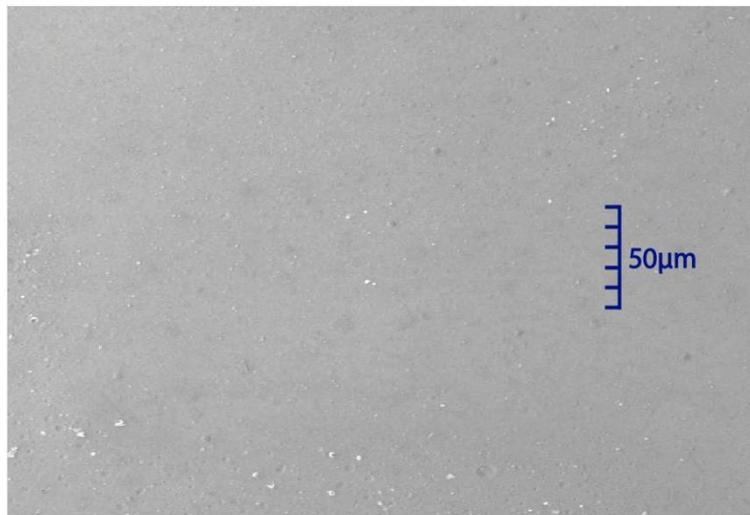
**Fracción 1  
PPP**



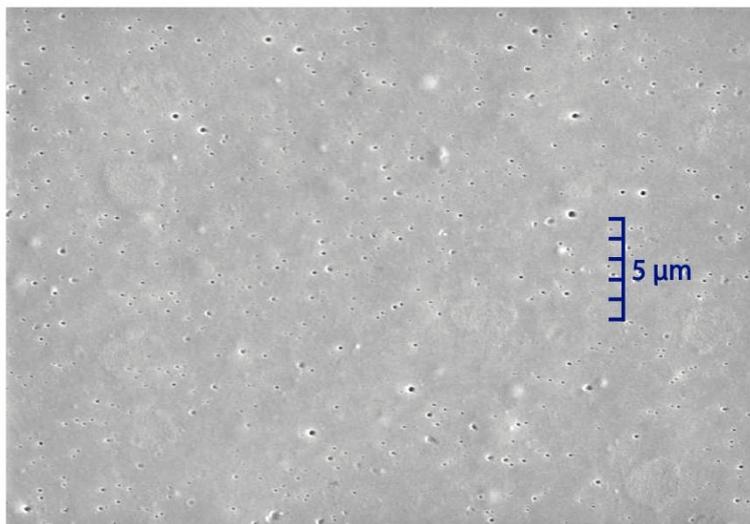
**GUÍA  
de la muestra  
procesada**

**Magnificación a 15 x  
Campo Visual: 13.8 mm  
WD: 26.33 mm  
SEM HV: 5.0 kv  
MIRA 3 TESCAN**

**1.00 kx  
CV: 208 mm**



**10 kx  
CV: 20,8 mm**



**GRÁFICO31:** (Freire H, 2017). Microfotografías SEM, de la Fracción F1 (PPP), en la parte superior: se observa la Guía de la muestra procesada, con una magnificación de 15 x (campo visual: 13, 8 mm). Las fotos a la parte marcada con asterisco de la muestra.

#### 4.4. Determinación de análisis con reología.

##### 4.4.1. Resultados de comparación para G' por fracción de Plasma gel.

Debido a que las dos muestras de la fracción 1 PPP y fracción 3 PRP del componente G' tienen distribución no normal, se procedió a realizar la prueba de análisis de varianza Kruskal-wallis a 2 niveles PPP y PRP, con el cual se emplea el siguiente contraste de hipótesis:  $H_0$ : Las medianas de G' de las dos fracciones son iguales. Vs  $H_1$ :  $\neg H_0$ .

Con esta prueba se obtuvo los resultados mostrados en la tabla 5 que indica un valor  $p=0,0761456$ , el cual es mayor que 0,05, concluyendo que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas, con un nivel del 95,0% de confianza.

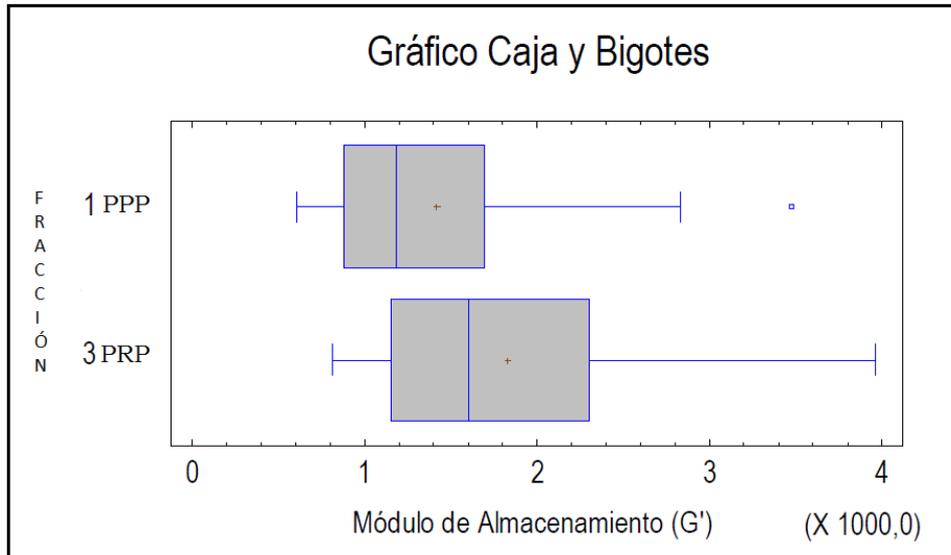
Fracción	Tamaño de Muestra	Rango Promedio	Estadístico	Valor P
<b>1: PPP</b>	21	18,1429	3,14523	0,076146

**TABLA 5:**(Freire H, 2017) Kruskal-Wallis para Módulo de Almacenamiento (G') de muestras con Fracción 1 PPP Plasma Pobre en Plaquetas.

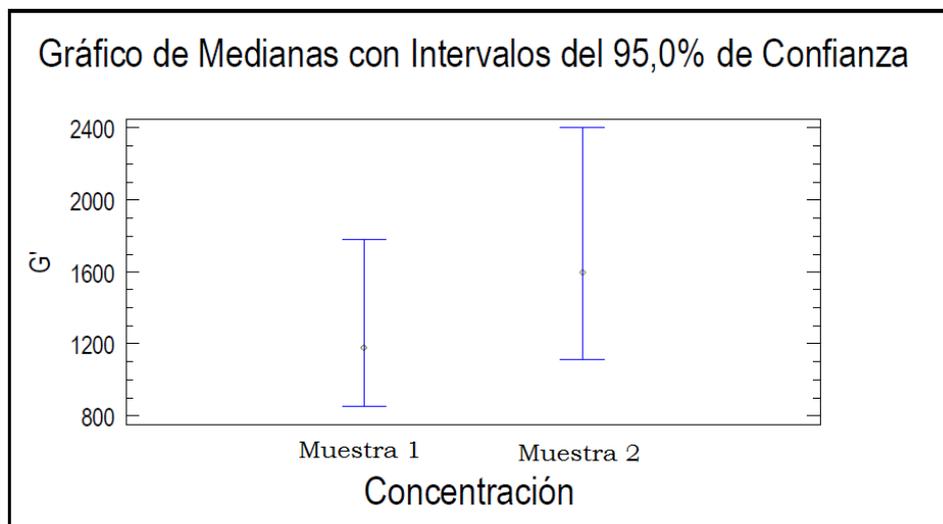
En los gráficos 32 y 33 se muestra como están agrupadas las unidades de evaluación de la data, además se puede apreciar la ubicación de la mediana de una Fracción con respecto a otra, lo que puede llegar a dar indicios de sus diferencias.

Por último, se puede llegar a la conclusión de que el conjunto de datos con la Fracción 3 de PRP posee una mayor variabilidad debido a la extensión de su gráfico, cabe recalcar la presencia de un dato atípico en el

conjunto de datos con Fracción 1 PPP, el cual es representado por pequeño cuadrado ubicado a 3400 (Pa) aproximadamente.



**GRÁFICO 32:**(Freire H, 2017) Diagrama de cajas para módulo de almacenamiento ( $G'$ ) de acuerdo a las fracciones de plasma gel.



**GRÁFICO 33:**(Freire H, 2017) Diagrama de medianas para módulo de almacenamiento ( $G'$ ) de acuerdo a las fracciones de plasma gel.

Como acotación final se puede decir que las fracciones del PPP y del PRP no presentaron diferencias significativas entre sí, pero al observar los gráficos obtenidos en la prueba el dato se distingue que la Fracción 1 de PPP tiene valores menores en comparación con la Fracción 3 PRP, lo que hace imaginar que a mayor concentración de algún componente como por ejemplo el Fibrinógeno, la componente elástica de la muestra puede tender a disminuir.

#### 4.4.2. Resultados de comparación para G'' por Fracción de Plasma gel.

Se probó estadísticamente que las muestras poseen una distribución normal por lo que se procedió a realizar un análisis ANOVA, en donde se plantea el siguiente contraste de hipótesis: H0: Las medias de G'' de las dos Fracciones del Plasma gel son iguales Vs H1:  $\neg$ H0.

La tabla 6, muestra un valor  $p=0,0541$ , lo que indica que no hay evidencia estadística suficiente para rechazar H0 a favor de H1, con un nivel del 95,0% de confianza. Se puede concluir que las muestras no presentan diferencia significativa.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
<b>Entre grupos</b>	440281	1	440281	3,94	0,0541
<b>Intra grupos</b>	4,47391E6	40	111848		
<b>Total (Corr.)</b>	4,91419E6	41			

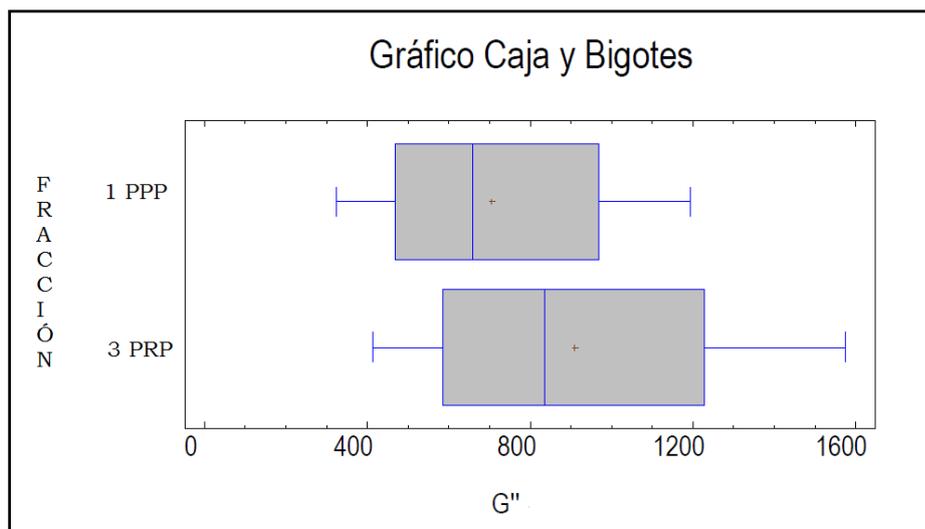
**TABLA 6:**(Freire H, 2017) ANOVA para G'' Fracción de plasma gel  
Kruska.

En la tabla 7, se evidencia la prueba de múltiples rangos donde se demuestra que los dos grupos comparten una misma columna, corroborando la conclusión de la tabla ANOVA.

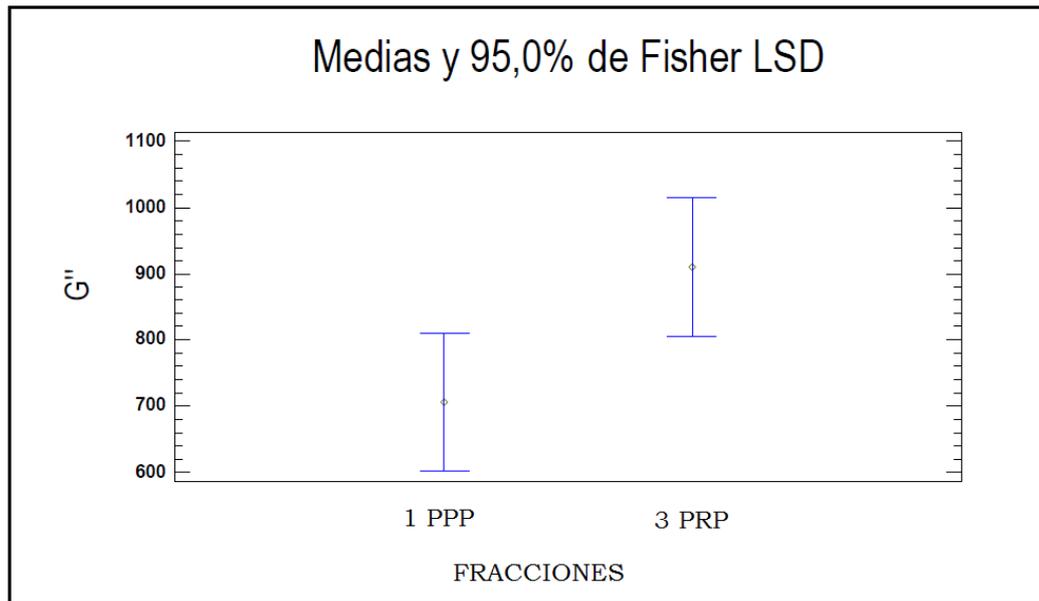
Concentración	Casos	Media	Grupos homogéneos
Muestra 1	21	705,353	x
Muestra 2	21	910,125	x

**TABLA 7:**(Freire H, 2017) Pruebas de Múltiple Rangos para G'' Fracción de plasma gel.

A continuación, se muestra el diagrama de cajas en el gráfico 34 y el diagrama de medias en el gráfico 35, donde se aprecia que no existe diferencia significativa entre las dos muestras con la Fracción 1 PPP, ya que sus medias están casi al mismo nivel.



**GRÁFICO 34:**(Freire H, 2017) Diagrama de cajas para módulo de pérdida (G'') de acuerdo a las fracciones del plasma gel.



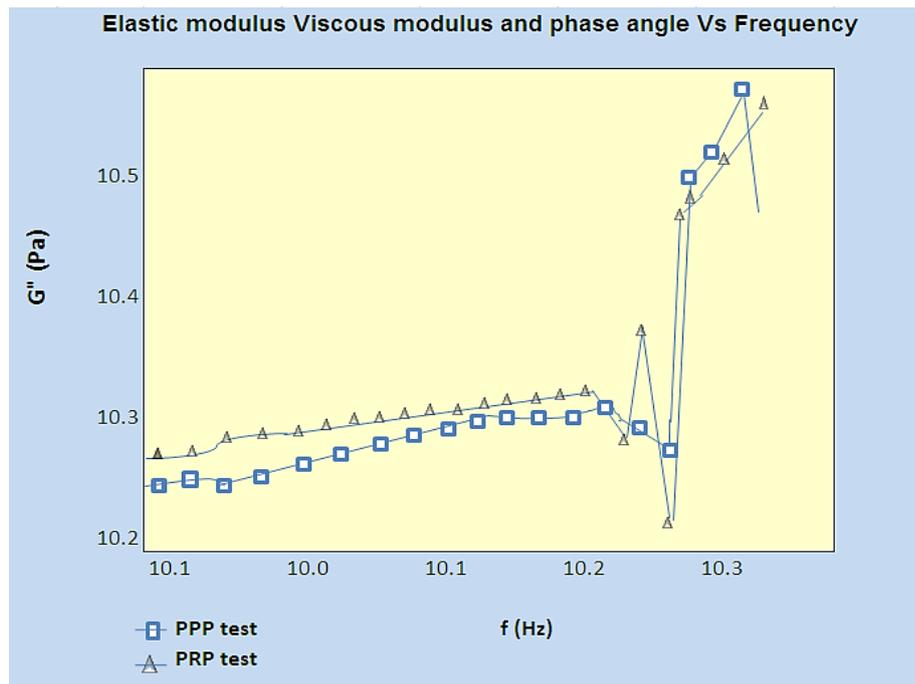
**GRÁFICO 35:**(Freire H, 2017) Diagrama de medias para módulo de pérdida ( $G''$ ) de acuerdo a fracciones de plasma gel.

Las componentes viscosas de las muestras con la Fracción 1 PPP y Fracción 3 PRP, no presentaron diferencias entre sí, pero los gráficos de cajas y medianas expresan que la muestra con Fracción 1 PPP posee valores inferiores de la componente viscosa en comparación con la muestra de la Fracción 3 PRP.

Esto puede indicar la presencia de algún componente que a mayor concentración el  $G''$  tiende a disminuir.

En el Gráfico 36, vemos el comportamiento viscoelástico del Plasma Gel Plaquetario a la deformación, las dos Fracciones PRP y PPP, van casi paralelamente y a la misma altura de acuerdo a la frecuencia progresiva (expresada en Hz) que produce el reómetro, mientras se va aplicando el esfuerzo de cizalla se consume en comprimir y deformar la fase dispersa es decir que se llega al límite de la elasticidad, justamente coincide con la

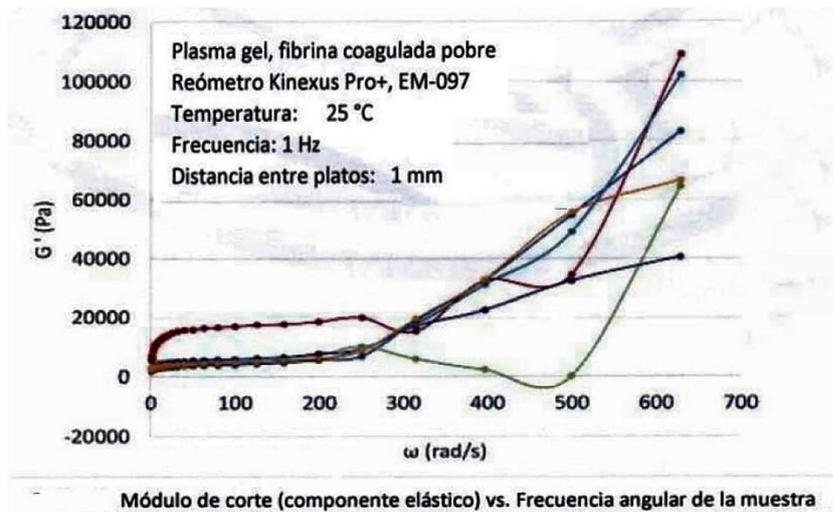
fase angular, y se dispara el módulo  $G''$ , (expresada en Pascales (Pa) en forma de aguja, cabe resaltar que este fenómeno, no es usual en la pruebas de reometría, por lo que se describe el comportamiento súbito en cambiar de estado, el plasma gel plaquetario en una forma sumamente rápida, pero este proceso es reversible debido a la recuperación de parte de la energía empleada para la deformación.



**GRÁFICO 36:** (Freire H, 2017) Módulo visco elástico y fase angular vs frecuencia de las fracciones del plasma gel. PPP y PRP.LABORATORIO LEMAT.

En el Gráfico 37, vemos el comportamiento de la Fracción 1 (PPP) en cuanto a su comportamiento o Módulo de Corte Elástico frente a la Frecuencia Angular (en rad/seg) que produce los platos del Reómetro oscilatorio, y vemos el comportamiento casi del gráfico 36 del Plasma Gel plaquetario, cabe recalcar que son varios elementos o copias de la Fracción 1 (PPP), que para validar estas pruebas se realizan en el

Laboratorio, por ello en el Gráfico de líneas, aparecen de varios colores, pero siempre con el mismo comportamiento.



**GRÁFICO 37:** (Freire H, 2017). Módulo de Corte Elástico vs Frecuencia Angular del Plasma Gel plaquetario, Fracción 1(PPP) LABORATORIO LEMAT.

#### 4.5. Evaluación de la duración “in vitro” del producto en ambientes cerrados y abiertos.

##### 4.5.1. En ambiente cerrado.

Consideramos ambiente cerrado: cuando el Plasma Gel Plaquetario no está en contacto con el aire atmosférico, en primer lugar evaluamos la duración “in vitro” del producto en ambiente cerrado en un “cartucho cook” (tubo de vidrio de 1,8 cc, que viene precargado la anestesia de los odontólogos), entre el diafragma y el tampón (stopper) que es un freno de goma, va a existir este ambiente cerrado, pero también utilizamos a las mismas jeringas, donde se obtuvieron el plasma gel con el siguiente razonamiento: entre el émbolo y el tapón de plástico es suficiente para que exista un ambiente cerrado y nos damos cuenta que se ha perdido

este ambiente cerrado, por el aspecto (color) del plasma gel, ya que tanto el PPP y el PRP, contienen hierro y se oxidan al contacto del aire.



**Fecha:** 23 de Abril del 2016



**Fecha:** 23 de abril del 2017

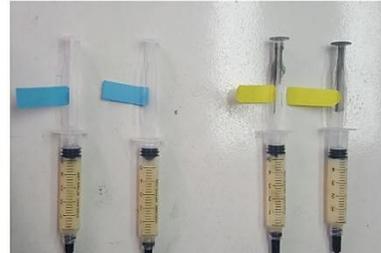
**GRÁFICO 38:**(Freire H, 2017) De izquierda a derecha: Jeringuillas de 3ml, con tapón rosca luer color negro, jeringas de 1 ml y cartuchos de 1,2 ml., rotuladas con etiqueta celeste la Fracción 1 (PPP) y sin etiqueta la Fracción 3 (PRP).

A estas jeringas se los rotuló y obtuvimos los siguientes resultados: Luego de 12 meses no cambió en absoluto, su morfología externa, ni su color ni

tamaño, es decir que las jeringas de 5ml, con tapón rosca luer color negro, que fueron rotuladas con etiquetas celestes la fracción 1 (PPP) y etiquetas amarillas la fracción 3 (PRP), se comprueba que están herméticamente cerradas entre el tapón luer y el émbolo. (Gráficos 38 y 39)



Fecha: 23 de Abril del 2016



Fecha: 23 de Octubre del 2016



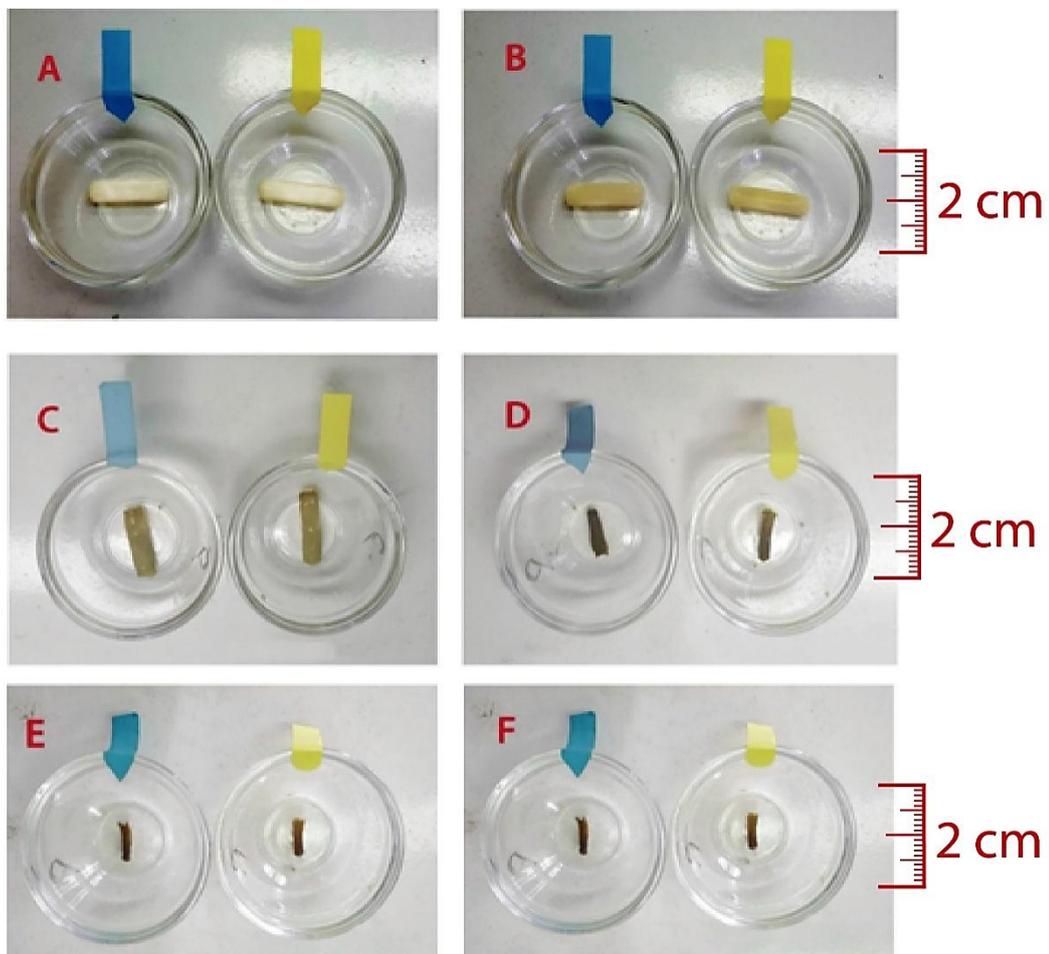
Fecha: 23 de Abril del 2017

**GRÁFICO39:**(Freire H, 2017) Duración “in vitro” del producto en ambiente cerrado. Jeringas de 5ml, con tapón rosca luer color negro, rotuladas con etiqueta celeste la fracción 1 (PPP) y etiqueta amarilla la fracción 3 (PRP).

#### 4.5.2. En ambiente abierto.

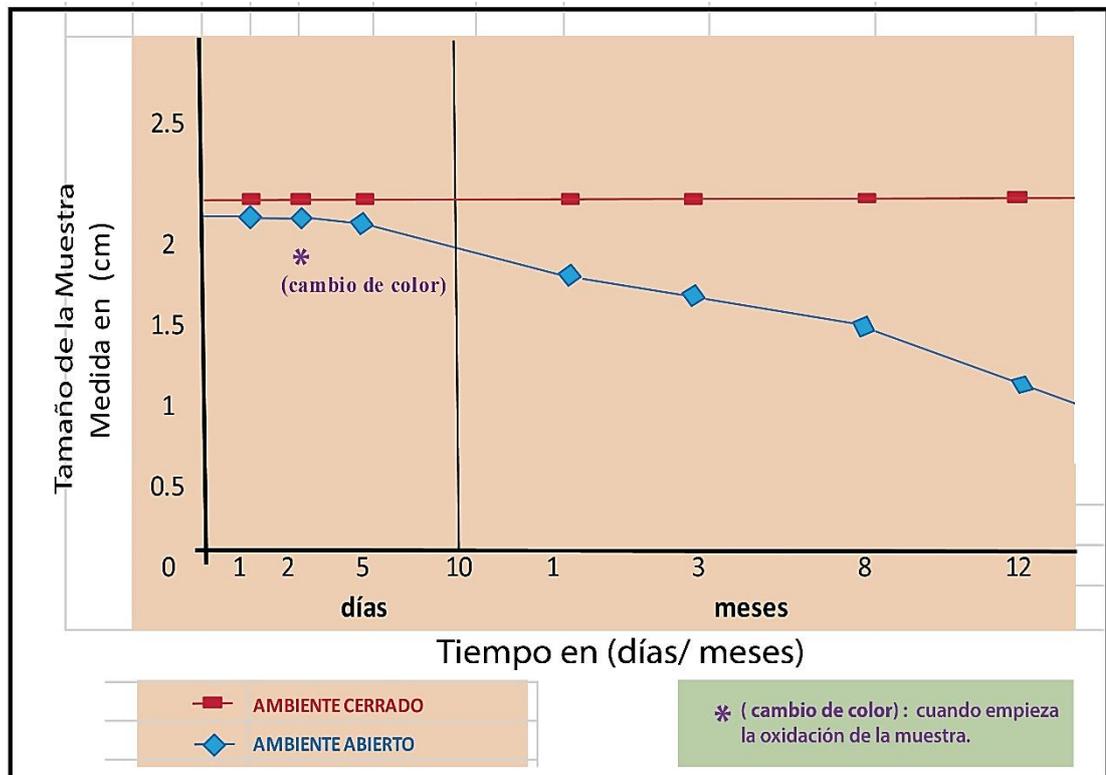
Consideramos ambiente abierto: cuando el bioproducto está en contacto directo con el aire del ambiente, es decir que el Plasma Gel Plaquetario se lo colocó en unos recipientes, se los etiquetó de diferente color por su origen ( si es de la Fracción 1 PPP o de la Fracción 3 PRP) (Gráfico 40) En el primer día, ambas muestras del producto presenta un color claro y tienen la forma tubular, debido a que adoptaron la forma donde fueron obtenidos (en jeringas descartables), al segundo día notamos que

adquiere un color marrón a café, a los cinco días empieza a cambiar su morfología externa, a adelgazarse por igual, tanto la Fracción 1 PPP y Fracción 3 PRP, al mes: empiezan a secarse y endurecerse, se hacen muy oscuros, disminuyen ligeramente su tamaño, al tercer mes: pierden tamaño, pero mantienen su consistencia dura, al octavo mes: se mantienen duros, algo pegajosos y disminuyen ligeramente su tamaño. Se evidencia que el plasma gel plaquetario en ambiente abierto, al contacto directo con el aire, empiezan a cambiar su morfología externa: su color y su tamaño.



**GRÁFICO 40:**(Freire H, 2017). Muestras del Plasma Gel Plaquetario, producto de la Fracción 1 PPP(etiqueta celeste) y de la Fracción 3 PRP (etiqueta amarilla), en ambiente abierto:A: 1º día, B: 2º día, C: 5 días, D: 1 mes, E: 3 meses, F: 8 meses.

Se pudo evidenciar la variación en el tamaño de las muestras del Plasma Rico Plaquetario en ambientes cerrado y abierto, (Gráfico 41) durante el tiempo, donde se demuestra que la jeringa con el taponluer con el Plasma Gel Plaquetario permanece inalterable pasados los doce meses, sin cambio de color, es prácticamente hermético, no tiene contacto con el oxígeno del aire atmosférico, mientras que al contacto con el aire atmosférico, cambia de coloración al segundo día y luego va perdiendo gradualmente de tamaño



**GRÁFICO 41:**(Freire H, 2017). Variación en el tamaño de las muestras del Plasma Rico Plaquetario en ambientes cerrado y abierto, durante el tiempo, así como el cambio de coloración por contacto del oxígeno del aire atmosférico:

#### **4.6. Comparando costos frente a comercial heterólogo.**

Teniendo en cuenta que los productos de relleno comerciales más utilizados son los que contienen ácido hialurónico, para este estudio hemos escogido a un grupo de una marca conocida que se distribuye en nuestro medio, los precios de estos productos no autólogos tienen un costo variado, de acuerdo a sus características como se demuestra según el afiche de una empresa conocida en el país, de los siete productos comerciales de ácido hialurónico, (obviamente divididos por marketing) escogimos como referencia para su comparación, específicamente al TEOSYAL meso, el más económico de la gama, a un precio sin IVA de \$ 180,00 y al TEOSYAL ultimate, que tiene un costo de los \$ 675 sin IVA, para el paciente o para el médico, y como se puede apreciar en el recuadro del flyer: consta el registro sanitario y la dirección de la casa comercial. (Anexo 1).

En la (Tabla 8), podemos ver claramente la diferencia de costos entre el Plasma Gel Plaquetario y los productos comerciales dermoscosméticos, que se utilizan como rellenos faciales heterólogos, elaborados por la purificación del ácido hialurónico extraído de la cresta de gallo, que demanda costos en su elaboración y su purificación (Lago, 2007), mientras que para la elaboración del plasma gel, se puso como costo referencial un precio máximo de diez dólares, (por los insumos, utilitarios y gastos elementales en producirlo: tubos, jeringa, aguja, uso de equipos: centrífuga, baño maría, uso de luz eléctrica, agua, tiempo de personal, etc)

Asimismo la gran diferencia en la cantidad del Plasma Gel Plaquetario que está a nuestra disposición, prácticamente a demanda del paciente, que lo abarata más frente a los productos comerciales que vienen en jeringas precargadas de un mililitro o tres mililitros en blíster en su empaque original.

Producto	Cantidad	PRECIO	ORIGEN
PLASMA GEL *	a demanda *****	\$10 ***	AUTÓLOGO
TEOSYAL meso **	2 x 1 ml *****	\$180 ****	HETERÓLOGO (cresta de gallo)
TEOSYAL ultimate **	1 x 3 ml *****	\$675 ****	HETERÓLOGO (cresta de gallo)

\*= Con cualquiera de las dos fracciones . **F1** (PPP) o **F3** (PRP)

\*\*= Con productos de la gama Teosyal (de los 7 productos) que ofrecen los laboratorios TEOXANE - BIOBELLE.

\*\*\*= Costo estimado en deducibles (insumos y utilitarios) utilizados para la extracción de sangre, procesamiento y obtención del Plasma Gel Plaquetario

\*\*\*\*= Precio no incluye IVA. Según el folleto que distribuye la casa comercial. (Harryono J. 2011). Registro Sanitario Ecuador: DM-1999-04-11. (Anexo 1).

\*\*\*\*\*= Presentación comercial acondicionadas en Blister, jeringas precargadas vs. la gran cantidad que se obtiene del Plasma Gel

**TABLA 8:**(Freire H. 2017). Comparación de costos entre el Plasma Gel Plaquetario y productos comerciales de ácido hialurónico para rellenos faciales.

## CAPÍTULO 5

### 5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

#### 5.1. Discusiones y Conclusiones.

Ha existido un desconocimiento formal de este biomaterial como un producto de relleno cosmético, por lo que esta tesis de Maestría realiza un aporte a la Ciencia basada en la evidencia.

El Plasma Gel Plaquetario es un biomaterial de origen autólogo, se elabora de las fracciones resultantes al elaborar Plasma Rico en Plaquetas, sea de la Fracción 1 (PPP: Plasma Pobre en Plaquetas) o de la Fracción 3 (PRP) Plasma Rico en Plaquetas y no se necesita de gran cantidad de sangre, ni de equipos costosos para su elaboración, es decir que para su obtención hay una gran sencillez del procedimiento: la extracción de sangre es proporcional a la cantidad de plasma Gel necesario, no afecta la volemia del paciente.

Muchas de las propiedades particulares de calidad y comportamiento que implican al plasma gel como un material de relleno cosmético están particularmente relacionadas con la reología: su consistencia, suavidad, fragilidad, blandura, dureza. La caracterización de las propiedades reológicas cobra más importancia para la evaluación de la calidad del plasma gel como materia prima de un auténtico y efectivo producto cosmético y lo convierten como un modo de predecir el comportamiento de los materiales durante el procesamiento y poder cumplir con los requisitos de almacenamiento y estabilidad, EN CONCLUSIÓN: Este

producto tiene propiedades visco elásticas adecuadas para su manejo comercial por su fluido, se esparce y no se adhiere y no es frágil.

Reológicamente se encontró una diferencia poco significativa de las fracciones del PRP y PPP: El efecto de las Fracción 1 PPP (Plasma Pobre en Plaquetas) y Fracción 3 PRP (Plasma Rico en Plaquetas) en la elaboración del Plasma Gel Plaquetario, sobre las propiedades viscoelásticas de la muestra. Aunque se observa que aumenta un poco más en la propiedad elástica de la Fracción 1 PPP frente a la Fracción 3 PRP, esto puede ser debido a la influencia de la cantidad de fibrinógeno y otros productos presentes en la Fracción 1, como ácidos grasos y otros elementos, que forman complejos estructurales en el plasma gel por ello se torna más débil que la Fracción 3 (PRP).

Mediante las pruebas viscoelásticas, se demuestra que posee una maleabilidad factible para que el médico trabaje con jeringas, se expresa al comprobar de manera constante la viscosidad y el límite de elasticidad como un producto consistente que garantiza la calidad. Mientras que la viscosidad del plasma gel es un parámetro particularmente importante para la producción y para la evaluación del producto durante el desarrollo, el límite de elasticidad corresponde directamente con las propiedades elásticas de la muestra en reposo y es especialmente importante para evaluarlo como un producto final, EN CONCLUSIÓN: El plasma gel es un bioproducto que tiene un comportamiento viscoelástico frente a la aplicación de un esfuerzo o deformación, el componente que responde primero es la parte elástica.

La viscosidad es la medida de la resistencia del plasma gel al flujo, cuando aumenta la velocidad de cizalla (es como el chocolate con el calor se diluye) debe considerarse cuando el plasma gel, en ese instante se transforme en estado líquido y se esparce o difunde dentro del espacio

reticular, como un verdadero implante cosmético, que luego lo ocupará al instante rellenándolo (como un chocolate que ocupará en un molde para barras, figuras, etc.), esto es relevante cuando se trata de verter por la jeringa y dispersar con facilidad por el espacio tisular diana (rellenando), pero también influye en la forma en que se adapta al espacio del relleno. Ambos valores dependen de la tensión de cizalla, en otras palabras, es un complemento casi perfecto: “la piel se distiende y el plasma gel la acorrale y la envuelva”, lo que nos daría una gran ventaja sobre su más cercano competidor en rellenos faciales: el ácido Hialurónico, que por más reticulado sea, jamás va a rellenar al instante, porque reológicamente tiene menos resistencia a la deformación y es más fluido (menos viscoso). EN CONCLUSIÓN: el Plasma Gel Plaquetario presenta características biomecánicas demostradas reológicamente para ser un excelente producto para relleno cosmético facial.

El Plasma Gel Plaquetario es un biomaterial y como está constituido de fibrina coagulada tiene mucha analogía con las sustancias del medio intersticial (intercelular) donde se va a rellenar, es afín al mecanismo del tejido que va a rellenar, por sus características reológicas se demuestra que no solamente va a rellenar los espacios entre las células, si no que va a permitir la compresión y estiramiento de las células, permitiendo la degradación de los desechos tóxicos que no necesita nuestro cuerpo para así purificarnos. EN CONCLUSIÓN: el Plasma Gel para su comportamiento como un producto de relleno, no va a necesitar de aditivos y al ser un producto autólogo, no va a producir ningún rechazo cuando se utilice en la misma persona.

Mediante el estudio ultramicroscópico con SEM, la fracción del PRP tiene características heterogéneas con gran acúmulos de plaquetas, la similitud del PRP en ciertos sitios con la superficie homogénea y “monótona” del

PPP, cuando no existe los acúmulos plaquetarios, solamente se repiten los orificios o poros que pueden tener potencial para el desarrollo de recursos para el andamiaje en biomedicina, constituyéndose en un material poroso que se puede aplicar como un scaffold o andamio para ingeniería celular con un diámetro aproximado desde los 250A hasta decenas de  $\mu\text{m}$  y son bastante largos que contribuyen a la rigidez a la bioestructura del polímero.

Además, por las características ultramicroscópicas, apreciadas en las microfotografías SEM, el plasma gel demuestra la presencia de retícula que forman redes de filamentos tridimensionales de fibrina, repletos de proteínas, que le refuerzan a este andamio estructural (scaffold) natural para que actúen, interactúen y/o se unan con múltiples miembros de proteínas, como reguladores cruciales de muchas vías clave para la regeneración de tejidos. EN CONCLUSIÓN: El Plasma Gel Plaquetario por sus características microestructurales observadas, se convierte en un aporte para los trabajos en la Ingeniería de Tejidos.

Conocer el comportamiento del flujo es esencial para predecir la facilidad de procesamiento y el comportamiento del llenado de los materiales, el comportamiento del plasma gel es compresible, tiene respuesta viscoelástica a la deformación. Por este motivo el esfuerzo de cizalla se consume en comprimir y deformar la fase dispersa, proceso que es reversible debido a la recuperación de parte de la energía empleada para la deformación. (Gráfico 36). Se puede deducir que en este fenómeno estén involucradas las fibras de la fibrina coagulada, como se demostró en las microfotografías del SEM, están distribuidas aleatoriamente, pero con la presión que hace el émbolo de la jeringa, requiere de la Fuerza de Cizallamiento necesaria para que estas fibras se alineen y es cuando cambia la estructura el plasma gel, como un buen fluido no

newtoniano: sale por el orificio de la jeringa con una velocidad súbita, (corresponde al pico del gráfico del módulo viscoelástico vs la frecuencia, del Gráfico 36), es entonces cuando el Plasma Gel va a ingresar al tejido donde se desee rellenar, la piel se estire y se va a moldear al instante. EN CONCLUSIÓN, el Plasma Gel Plaquetario le va a dar una gran ventaja para el médico cuando lo use como relleno facial. Es de fácil manipulación: va a ser fácil de colocar y fácil de manejar.

La duración in vitro del Plasma Gel Plaquetario, en ambiente cerrado es de más de año en un “cartucho cook” tubo de vidrio de 1,8 cc, y la conservación dentro de la jeringa donde se obtuvo: también. Y es suficiente con un tapón que se adapte a la rosca tipo luer: para que se mantenga hermético el producto y se pueda seguir utilizándolo, sin necesidad de volver a extraer la sangre del paciente y tener que volver a procesar y obtener el plasma gel. Nos damos cuenta que se ha perdido este ambiente cerrado, por el aspecto (color) del plasma gel, ya que tanto el PPP y el PRP, contienen hierro y se oxidan al contacto del aire. Cuando se conserva en ambiente cerrado, en jeringa y a temperatura ambiente: tiene una duración de más de un año, y sigue íntegro. La duración in vitro del bioproducto en ambiente abierto se observó que, en 8 meses, al contacto con el aire tiende a desaparecer. No es necesario adquirir equipos, tecnología especial y onerosa para su conservación, en nuestro caso se usó una nevera por política de salud de la clínica. EN CONCLUSIÓN: el Plasma Gel Plaquetario se puede conservar herméticamente solamente en una jeringuilla tapada, bien rotulada y no necesita refrigeración, y nos damos cuenta que está herméticamente cerrada, cuando no cambia de color (no se oxida), lo me garantiza su bioseguridad.

Se ha evidenciado, al comparar costos el Plasma Gel Plaquetario, con la GAMA TEOSYLAL, (Tabla 10) que son productos de relleno facial que

contienen acidohialuronico(se debe aclarar que la existencia de esta diversidad de productos es al marketing, ya que se puede observar claramente en el folleto que la diversidad se debe por la concentración del acidohialuronico y su reticulación, que le va a dar mayor duración al implante), El Acido Hialurónico se comercializa internacionalmente (entre otros) por la firma LabDepot a un precio de 435.84 dólares USA, por cada gramo (Lago, 2007), mientras que para la elaboración de Plasma Gel su costo estimado es hasta los 10 dólares, al comparar aun con el más económico de los implantes comerciales “Teosyal meso” que cuesta \$ 180 + IVA. (Tabla 10) por lo que existe una diferencia muy significativa y un beneficio para el usuario.

Asimismo el plasma gel puedo utilizarlo a demanda al paciente: es decir que puedo extraerlo y obtener una gran cantidad del bioproducto y utilizarlo solamente la cantidad que requiera y programarlo para otras sesiones, ya que el resto se va a conservar en el tiempo (siempre que no se pierda su hermeticidad por el cambio de coloración, (oxidación al contacto con el oxígeno del aire atmosférico).

**EN CONCLUSIÓN:** este producto autólogo para rellenos es económico en su preparación y es mas rentable aún si lo utilizo a demanda del paciente

## 5.2. Recomendaciones.

Continuar este trabajo de investigación como un implante en el paciente (procedimiento IN VIVO) con los mismos elementos que se detalla en esta obra, es decir con la técnica del ángulo nasolabial, y documentar iconográficamente su eficacia, a fin de demostrar que un producto de origen biológico cuenta con las propiedades biomecánicas y microestructurales apropiadas como un elemento estructural que se mantiene en el tiempo como un implante de relleno facial, para ello se debe contar con la aprobación de un Comité de Bioética.

Para continuar con los estudios que pueda originar los resultados de esta investigación, en base a la caracterización de este biomaterial, crear una base de datos, un centro que involucre a más personas de diversas áreas dentro de la Medicina Regenerativa, Microscopía, Ingeniería de Tejidos, Ciencias Biomédicas, Nanotecnología y otras especialidades.

Queda en continuación este estudio, con la esperanza de que los nuevos proyectos, se centren en la comparación con otros productos comerciales que duran más y quedan inquietudes, tales como: qué tal si al Plasma Gel le adicionamos algún otro producto que lo potencie a fin de mejorar su durabilidad, si se combina con medicamentos que entren en su estructura y se liberen dentro del cuerpo o si la nanotecnología tiene de aliado a un andamio estructural autólogo bueno, bonito y barato.

La política de gobierno es no aportar fondos para la parte cosmética y estética del pueblo, es verdad que hay otras prioridades en salud, “nadie se muere de feo” pero acaso las personas de escasos recursos, las menos favorecidas económicamente también tienen derecho a verse bien,

a levantar su autoestima e indirectamente van a aumentar su productividad laboral, por lo que recomiendo a quien lea esta Tesis de Maestría, fomentar su interés.

Así mismo, recomiendo a los colegas (“porque ahora ya existe evidencia”) a que confíen en utilizar productos autólogos.

## BIBLIOGRAFIA

- Anitua E, M. F.-L. (2016). PRGF exerts more potent proliferative and anti-inflammatory effects than autologous serum on a cell culture inflammatory model. *Exp. Eye. Res.*
- Aspden, R. S., R., G. N., A., M. P., S., T. D., Lena, M., G., T. M., . . . "Phot, P. M. (2015). Photon-sparse microscopy: visible lighth imaging using infrared illumination. (OsaPublishing, Ed.) *Optica II*, 49.
- BTI Biotechnology Institute. (Junio de 2012). *PRGF®-Endoret® PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO*. (Vitoria-Gasteiz, Ed.)  
Obtenido de [https://bti-biotechnologyinstitute.com/web/uploads/media/public/0001/01/2012\\_es\\_catalogo\\_prgfendoret.pdf](https://bti-biotechnologyinstitute.com/web/uploads/media/public/0001/01/2012_es_catalogo_prgfendoret.pdf)
- Carrasco J., B. D. (14 de Enero de 2014). *Plasma Rico en Plaquetas vs. Plasma rico enfactores de crecimiento*. Obtenido de [https://www.researchgate.net/publication/228485228\\_Plasma\\_Rico\\_en\\_Plaquetas\\_vs\\_Plasma\\_rico\\_en\\_factores\\_de\\_crecimiento](https://www.researchgate.net/publication/228485228_Plasma_Rico_en_Plaquetas_vs_Plasma_rico_en_factores_de_crecimiento)
- Celi, M. (2015). *Evaluación de los cambios a nivel cutáneo producidos por el tratamiento de plasma rico en plaquetas, un año posterior a la última aplicación en mujeres perimenopáusicas en la la última aplicación en mujeres perimenopáusicas*. Obtenido de <file:///C:/Users/RED%20SALUD%20TOTAL/Downloads/T-UCSG-PRE-MED-NUTRI-119.pdf>
- Dohan D., S. G. (2013). *Guidelines for the publication of articles related to platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma -PRP, or Platelet-Rich Fibrin -PRF): the international classification*. (P. C. concentrate, Ed.)  
Obtenido de <http://www.poseido.info/publication/volume-1-2013/poseido-20131117-27-dohan.pdf>
- Everts P. A. M., K. J. (Junio de 2006). *Platelet-Rich Plasma and Platelet Gel: A Review*. Obtenido de National Center for Biotechnology Information:  
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4680757/>
- Fankhauser, D. (2009). *IMMERSION OIL MICROSCOPY*. Clermont College.
- Gamboa, M. C. (2011). *Soportes híbridos polímero/fibrina para ingeniería tisular*. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado el 22 de septiembre de 2017, de <https://www.educacion.gob.es/teseo/imprimirFicheroTesis.do?idFichero=22899>

- García Linares S, O. C. (2014). *Parámetros estéticos del perfil facial: el ángulo nasolabial*. Kiru.
- García, L. S., 2014, O. C., & 11(1): 86-9., c. 2. (s.f.).
- Gentile, P. S. (2016). Reconstruction of Alar Nasal Cartilage Defects Using a Tissue Engineering Technique Based on a Combined Use of Autologous Chondrocyte Micrografts and Platelet-rich Plasma: Preliminary Clinical and Instrumental Evaluation. *Plastic and Reconstructive Surgery Global*.
- Hatakeyama I., M. E. (Febrero de 2014). Effects of Platelet-Poor Plasma, Platelet-Rich Plasma, and Platelet-Rich Fibrin on Healing of Extraction Sockets with Buccal Dehiscence in Dogs. (N. C. Information, Ed.) *Tissue Engineering. Part A*, 20(3-4), 874–882.
- Hernández R., F. C. (2010). *Metodología de la Investigación* (Quinta edición ed.). México D.F.: McGraw-Hil.
- Herráez, Á. (2012). *Biología molecular e ingeniería genética*. Barcelona: Elsevier España, S.L.
- Lago M. G., (2007). *Cordones umbilicales residuales, nueva fuente de obtención de ácido hialurónico y sus fracciones*, Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Farmacéuticas, *Instituto de Farmacia y Alimentos. Departamento de Química Farmacéutica*, Pág. 139, 142, Recuperado el 24 de julio del 2107 de [http://tesis.repo.sld.cu/186/1/Tesis\\_de\\_Lago\\_Guillermo.pdf](http://tesis.repo.sld.cu/186/1/Tesis_de_Lago_Guillermo.pdf)
- LAUDACE. (13 de Junio de 2017). *Conoce que es el Plasma gel, lo último en rellenos autólogos*. Recuperado el 20 de septiembre de 2017, de Clinica Laudace: <http://clinicalaudace.com/blog/25-conoce-que-es-el-plasma-gel-lo-ultimo-en-rellenos-autologos>
- Macroestetica.com. (24 de Julio de 2015). *El portal de la Industria Estética*. Recuperado el 02 de febrero de 2017, de <http://www.macroestetica.com/medicina-estetica/1627-plasma-gel-lo-ultimo-en-rellenos-autologos.html>
- MEDESTETICA. (2017). Salud, belleza y bienestar. *Unidad Medestetica*, 127.
- Moreno, C. (2009). *Relleno Autólogo, Plasma de Cuarta IV Generación*. Ministerio de Educación Nacional, Centrobicare. Recuperado el 22 de septiembre de 2017, de <http://www.centrobicare>
- Nácul, A. M. (2009). *Bioplastia, la plástica interactiva*. Sao Paulo: Amolca.
- Noori A., A. S.-G.-Z. (2017). A review of fibrin and fibrin composites for bone tissue engineering. *International Journal of Nanomedicine*. 12.

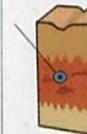
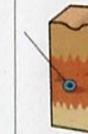
- Reyes M., M. S. (Diciembre de 2007). *Actualización de la Técnica de Obtención y Uso del Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.)*. (R. d. Odontopediatría, Editor) Obtenido de <https://www.yumpu.com/es/document/view/12886147/actualizacion-de-la-tecnica-de-obtencion-pdf-revista-dental-de-/4>
- Rossani I., y. H. (2012). *Medicina Regenerativa en Clínicas Estéticas y Cirugía Plástica*. Lima: Universidad Alas Peruanas.
- SENPLADES, S. N. (2009). *PLAN NACIONAL DE DESARROLLO PARA EL BUEN VIVIR 2009-2013. Construyendo un Estado Plurinacional e Intercultural*. Quito.
- Standeven KF, A. R. (2005). The molecular physiology and pathology of fibrin structure/function. *Blood reviews*. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15963835>
- Suarez, M. (2004). *Interaprendizaje Holístico de Matemática*. Ibarra: Edición Gráficas Planeta.
- Suarez, M. (2011). *Interaprendizaje de Estadística Básica*. Ibarra.
- Vicéns, O. J., Herrarte, S. A., & Medina, M. E. (2005). *Análisis de la varianza*. Printing. Recuperado el 22 de Octubre de 2017, de <file:///C:/Users/RED%20SALUD%20TOTAL/Desktop/FORMATO%20DE%20CERTIFICACION%20DE%20REDACCION%20Y%20ESTILO.pdf>
- Woo S. H., K. J.-S.-H.-S. (01 de Octubre de 2013). Autologous Platelet-Poor Plasma Gel for Injection Laryngoplasty. *Yonsei Medical Journal*.

## 6. ANEXOS

### ANEXO 1.

#### FOLLETO CON PRECIOS Y CARACTERÍSTICAS COMO EJEMPLO PRODUCTOS CON ÁCIDO HIALURÓNICO, que se comercializa en el Mercado Ecuatoriano

Se pueden apreciar los siete tipos de Ácido Hialurónico y sus diferentes precios y características como para rellenos faciales.

	TEOSYAL® Meso	TEOSYAL® First Lines	TEOSYAL® Global Action	TEOSYAL® Deep Lines	TEOSYAL® Kiss	TEOSYAL® Ultra Deep	TEOSYAL® Ultimate
Concentración	15 mg/g	20 mg/g	25 mg/g	25 mg/g	25 mg/g	25 mg/g	22 mg/g
Poder creador de volumen	○ ○ ○ ○ ○	● ○ ○ ○ ○	● ● ● ○ ○	● ● ● ○ ○	● ● ● ● ○	● ● ● ● ○	● ● ● ● ●
Aguja	30G 1/2	30G 1/2	30G 1/2	27G 1/2	27G 1/2	26G 5/8	21G 1 1/2
Indicación	Rehidratación de la dermis con protocolo de tratamiento.	Arrugas de expresión y arrugas superficiales de la pata de gallo y de la zona peribucal.	Todas las arrugas medianamente marcadas. Entrecejo, surcos nasogenianos poco marcados y arrugas peribucales.	Arrugas muy marcadas. Surcos nasogenianos y pliegues de amargura profundos. Valle de lágrimas poco marcado.	Contornos y volumen de los labios.	Creación y restauración de volúmenes, contorno del rostro y valle de lágrimas. Arrugas profundas en piel gruesa.	Mejillas, pómulos, mentón, contornos del rostro.
Zona de inyección							
Acondicionamiento en blíster	2 x 1 ml	2 x 0,7 ml	2 x 1 ml	2 x 1 ml	2 x 1 ml	2 x 1,2 ml	1 x 3 ml
Duración estimada antes de retoque*	de 2 a 3 meses	un promedio de 6 meses	un promedio de 6 a 9 meses	un promedio de 6 a 9 meses	un promedio de 6 a 9 meses	un promedio de 9 a 12 meses	un promedio de 12 a 18 meses
Cánula Magic Needle recomendada	30G x 27mm	30G x 27mm	30G x 27mm	27G x 37mm	27G x 37mm	25G x 40mm	22G x 57mm
Precio sin IVA en dólares	\$180,00	\$300,00	\$450,00	\$465,00	\$493,00	\$520,00	\$675,00

\*Esta duración media depende de varios factores: el tipo de piel del paciente, la severidad de la arruga que se va a corregir, el tipo de inyección (dermis superficial, media o profunda) y el volumen inyectado.  
Material para uso exclusivo del médico

Son 7 tipos de la misma marca. Nótese en el recuadro inferior la referencia de la CASA COMERCIAL así el Registro Sanitario.

ÁCIDO HIALURÓNICO  
**TEOSYAL**  
EFICACIA • SEGURIDAD • DURABILIDAD<sup>SM</sup>

LA INNOVACIÓN SUIZA AL SERVICIO DE LA BELLEZA



**Ultimate**  
Volumen en mejillas, pómulos,  
mentón y contornos del rostro

**Ultra Deep**  
Remodelado suave y relleno  
de arrugas profundas en piel gruesa

**Kiss**  
Contornos y volumen  
de los labios

**Deep Lines**  
Para surcos nasogenianos y pliegues  
de amargura profundos, valle de lágrimas

**Global Action**  
Relleno para arrugas medianamente  
marcadas, entrecejo, surcos nasogenianos  
poco marcados y arrugas peribucales

**First Lines**  
Corrección de arrugas de expresión  
y arrugas superficiales, patas  
de gallo y zona peribucal

**Meso**  
Rehidratación y  
revitalización  
de la dermis

LABORATORIOS  
**TEOXANE**  
GENEVA



REFERENCIAS: 1. Harryono Judodihardjo, MBBS, MSc, PhD y Peter Dykes, BSc, PhD. Centro de estudio: The Cellite Clinic Ltd - 52 Charles Street - Cardiff, CF10 2 GF, Reino Unido /www.cellite.co.uk Estudio prospectivo para evaluar la tolerancia de Teosyal Deep Lines en la corrección de los surcos nasogenianos así como su eficiencia clínica".  
Alexander Nast MD, Natalie Reytan MD, Vanessa Hartman MD, Delano pathirana MD, Frank Bachmann MD, Ricardo Erdmann y Berthold Rzany MD MSc. - División de medicina basada en la evidencia (dEBM), Klinik für Dermatologie, charité – Universitätsmedizin Berlin, Alemania. Dermatologic Surgery - 2011 - "Eficacia y durabilidad de dos productos para relleno a base de ácido Hialurónico en la corrección de los surcos nasogenianos: Resultados de un ensayo clínico prospectivo aleatorizado doble ciego y control activo".  
REGISTRO SANITARIO ECUADOR: DM-1999-04-11  
Oficina Quito: Av. 6 de Diciembre N63-138 y Los Cedros, Edif. Ecuaquímica • Tell.: (593-2) 248 2663  
Oficina Guayaquil: Av. José Santiago Castillo y Av. Juan Tanco Marengó, Edif. Ecuaquímica Tell.: (593-4) 268 2277

**Meso**  
Rehidratación y  
revitalización  
de la dermis

LABORATORIOS  
**TEOXANE**  
GENEVA



REFERENCIAS: 1. Harryono Judodihardjo; MBBS, MSc, PhD y Peter Dykes, BSc, PhD. Centro de estudio: The Cellite Clinic Ltd - 52 Charles Street - Cardiff, CF10 2 GF, Reino Unido /www.cellite.co.uk Estudio prospectivo para evaluar la tolerancia de Teosyal Deep Lines en la corrección de los surcos nasogenianos así como su eficiencia clínica".  
Alexander Nast MD, Natalie Reytan MD, Vanessa Hartman MD, Delano pathirana MD, Frank Bachmann MD, Ricardo Erdmann y Berthold Rzany MD MSc. - División de medicina basada en la evidencia (dEBM), Klinik für Dermatologie, charité – Universitätsmedizin Berlin, Alemania. Dermatologic Surgery - 2011 - "Eficacia y durabilidad de dos productos para relleno a base de ácido Hialurónico en la corrección de los surcos nasogenianos: Resultados de un ensayo clínico prospectivo aleatorizado doble ciego y control activo".  
REGISTRO SANITARIO ECUADOR: DM-1999-04-11  
Oficina Quito: Av. 6 de Diciembre N63-138 y Los Cedros, Edif. Ecuaquímica • Tell.: (593-2) 248 2663  
Oficina Guayaquil: Av. José Santiago Castillo y Av. Juan Tanco Marengó, Edif. Ecuaquímica Tell.: (593-4) 268 2277

## ANEXO 2.

### INSTALACIONES



ANEXO 3.

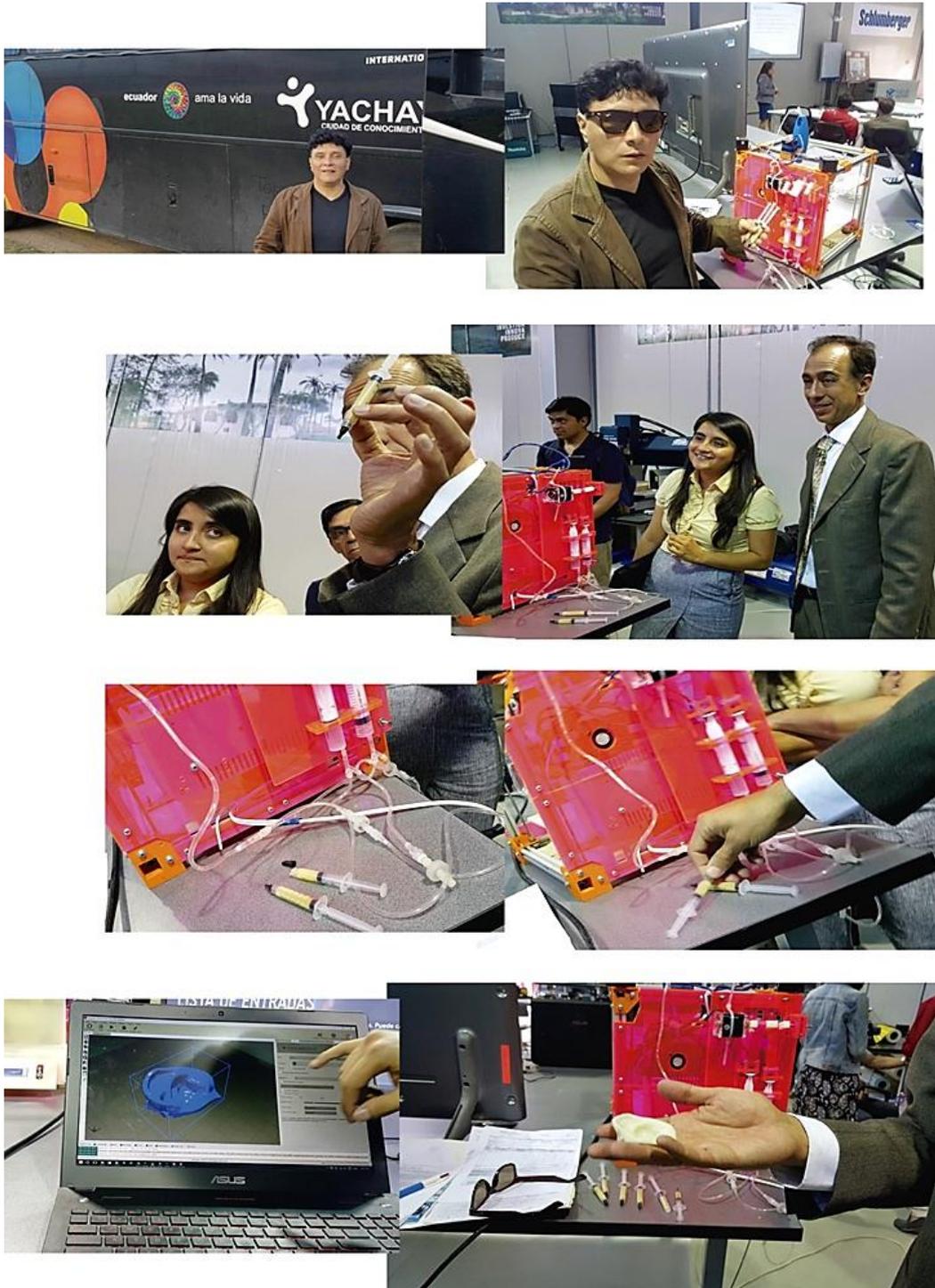
Historias clínicas de RED SALUD TOTAL y permisos

**HISTORIA CLINICA**  
 RED SALUD TOTAL  
 D 9187 ZAMBRANO CEDENO GRACIELA AMRILU 38 CHONE, PUEBLO LIMON  
 AMO DE CASA 97 años  
 MOTIVO DE CONSULTA: MANCHAS EN LA CARA HACE 1 MES, BAJO DE PESO  
 ANTECEDENTES PERSONALES: 14 años, 1 cesaria, NO FUM, NO FIC, NINGUNA NO. 2011  
 ENFERMEDAD ACTUAL: Manchas en la cara y bajada de peso desde hace 3 meses. Ictericos  
 DIAGNOSTICOS: - Ictericos  
 PLAN: 1) Biorquimico, 2) Estudios de función hepática, 3) Hemograma, 4) Haptoglobina, 5) Serología para hepatitis, 6) Serología para toxoplasmosis, 7) Serología para malaria, 8) Serología para sífilis, 9) Serología para VIH, 10) Serología para CMV, 11) Serología para Toxoplasma gondii, 12) Serología para Paratuberculosis, 13) Serología para Brucella, 14) Serología para Leishmania, 15) Serología para Dengue, 16) Serología para Chikungunya, 17) Serología para Zika, 18) Serología para Sarampión, 19) Serología para Rubéola, 20) Serología para Parvovirus B19, 21) Serología para Citomegalovirus, 22) Serología para Herpes Simplex Virus, 23) Serología para Virus de la Hepatitis, 24) Serología para Virus de la Hepatitis, 25) Serología para Virus de la Hepatitis, 26) Serología para Virus de la Hepatitis, 27) Serología para Virus de la Hepatitis, 28) Serología para Virus de la Hepatitis, 29) Serología para Virus de la Hepatitis, 30) Serología para Virus de la Hepatitis.

**Ministerio de Salud Pública**  
 P.F. No.: 1931  
**CERTIFICADO DE PERMISO DE FUNCIONAMIENTO**  
 ESTABLECIMIENTOS DE SALUD  
 CLASE DE RIESGO: A  
 23D03 - 052  
 conformidad a lo establecido en la Ley Orgánica de Salud, se confiere el presente Permiso de Funcionamiento a:  
**Red Salud Total**  
 nombre o razón social del establecimiento  
**Freire Semanate Cesar Henry**  
 propietario o representante legal del establecimiento  
 go: 1.2.1.2 Tipo: AMBULATORIO Centro de Especialidad(es).  
 Responsable técnico: FREIRE SEMANATE CESAR HENRY  
 Ubicación:  
 Provincia: SANTO DOMINGO Cantón: SANTO DOMINGO Parroquia: Bomboli  
 Sector: URB. GARCÉS BARRIGA Calle principal: calle Garces Barriga  
 Nro.: S/N Intersecciones: Av Santa Rosa  
 Actividad(es) del establecimiento: ATENCION MEDICA DE ESPECIALIDAD AMBULATORIA  
 Fecha de emisión: 04 de Enero del 2016 Fecha de vencimiento: 02 de Enero del 2017  
 Director (a) Provincial de Salud

## ANEXO 4

**Evento FAB LAT FEST, 27 y 28 de Mayo del 2016, En “YACHAY TECH”,**  
Fabricación digital aplicada a la Medicina, donde se concibió la idea de utilizar el plasma gel plaquetario como “materia prima” para generar órganos y tejidos en una impresora 3D con todas las implicaciones biomédicas.



**ANEXO 5.**

**CONSENTIMIENTO INFORMADO:**

**UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL  
MAESTRÍA DE BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**

**TEMA:** *CARACTERIZACIÓN BIOMECANICA Y MOLECULAR DEL PLASMA GEL PLAQUETARIO COMO RELLENO FACIAL AUTÓLOGO*

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EXTRACCIÓN DE SANGRE PARA ELABORACIÓN DE PLASMA GEL PLAQUETARIO.**

*El presente documento tiene por objeto informar sobre el siguiente procedimiento, sus acciones, riesgos, complicaciones, efectos secundarios, tal como establece la ley Orgánica de Salud del Ecuador y la Ley de Derechos y Amparos al paciente en sus Arts. 5 Derecho a la información y Art. 6 Derecho a decidir.*

*Es importante que lea esta información en forma cuidadosa y completa. Por favor ponga sus iniciales (sumille con su firma) en cada página indicando así que ha leído la página correspondiente y firme su consentimiento para el procedimiento indicado.*

**DONACIÓN DE SANGRE PARA LA OBTENCIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y SU ELABORACIÓN EN PLASMA GEL PLAQUETARIO.**

*En la ciudad de.....*

*El doctor CESAR HENRY FREIRE SEMANATE, informa al paciente.....*

*Fecha de nacimiento                      Domicilio en calle #                      ciudad*

*Teléfonos:                                      CI:    HC:*

*El paciente declara: Que por el presente documento requiero y autorizo al Doctor CESAR HENRY FREIRE en Medicina y cirugía con el número MSP 7268 y a su equipo, a que realice en mi persona, la EXTRACCIÓN DE SANGRE PARA LA OBTENCIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS, y su correspondiente elaboración en PLASMA GEL PLAQUETARIO.*

*CONFIRMO que el procedimiento mencionado me ha sido explicado a fondo por el Doctor Freire, en palabras comprensibles para mí, los riesgos típicos que tiene, los riesgos caracterizado a mi persona, así como las molestias o en ocasiones dolores que puedo sentir teniendo un post procedimiento normal. Se me ha explicado, igualmente, otras opciones existentes que están disponibles en el mercado, con pros y contra de cada una de ellas. Teniendo esto en cuenta he escogido la alternativa anteriormente descrita. ACEPTO la capacitación profesional del facultativo para la realización del procedimiento propuesto. **BREVE EXPLICACIÓN DEL PROCEDIMIENTO.-** Es una técnica ambulatoria basada en la aplicación intradérmica del plasma rico que se obtiene a partir de una pequeña muestra sangre del paciente – para activar de forma natural las funciones de fibroblasto, la célula encargada de determinar la estructura y la calidad de la piel. Sé que el tratamiento consiste en realizar inyecciones intradérmicas con el plasma, pero la sangre que dono se va a utilizar en otro fin (de investigación) para comprobar cuánto dura este material,etc,*

*He sido correctamente informado(a) y acepto los riesgos comúnmente conocidos. (Hematomas en el sitio de extracción)*

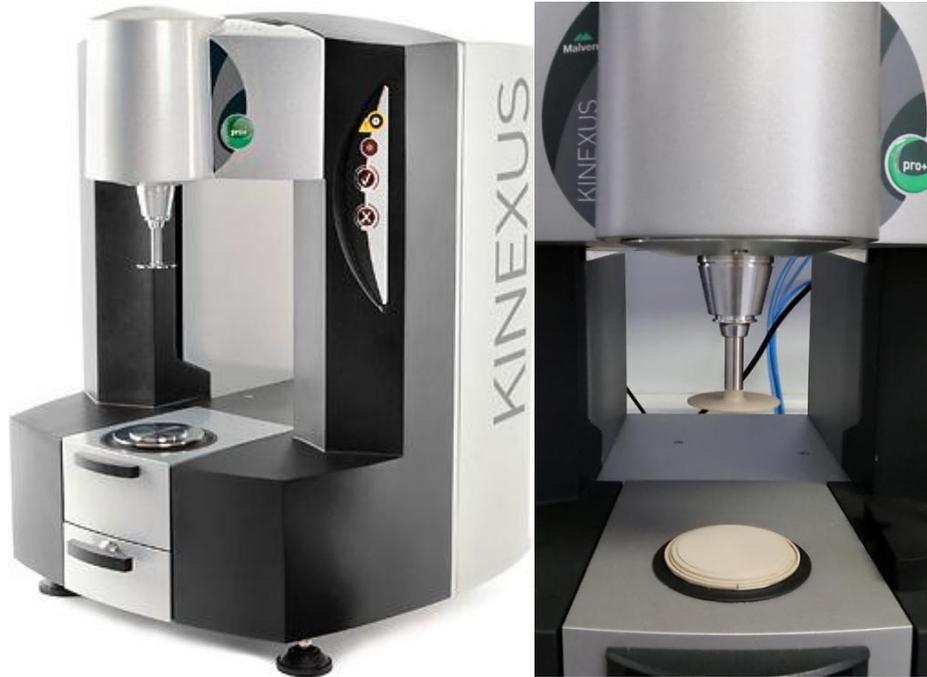
*CONOZCO, acepto y me comprometo a cumplir con las condiciones económicas del tratamiento: **ES GRATUITO, PUESTO QUE EL DOCTOR FREIRE ME HA EXPLICADO QUE LA FINALIDAD DE LA DONACIÓN***

**DE MI SANGRE ES PARA LA REALIZACION DE LA TESIS PARA LA OBTENCIÓN DE SU MAESTRIA.**

*Se me ha informado igualmente, de mi derecho a rechazar o revocar este consentimiento; he podido aclarar todas mis dudas acerca de todo lo anteriormente expuesto y he entendido totalmente este DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO reafirmandome en todos y cada uno de sus puntos (incluyendo la difusión de las fotos) y con la firma del documento EN TODAS LA PÀGINAS ratifico y consiento que el tratamiento se realice. Los que suscriben este documento reconocen este acuerdo como ley para las partes tal como lo dispone el Art. 1561 del Código Civil.*

## ANEXO 6.

### Equipo Reómetro rotacional MALVERN KINEXUS PRO y su metodología.



Dispone de un Rango de velocidad angular:  $10\text{rads}^{-1}$  a  $500\text{rads}^{-1}$ , Resolución de fuerza:  $0,5\text{ mN}$ . Tiempo de respuesta de la fuerza:  $<10\text{ ms}$ . Rango de temperatura:  $-40^{\circ}\text{C}$  a  $200^{\circ}\text{C}$  (placa Peltier).  $-30^{\circ}\text{C}$  a  $200^{\circ}\text{C}$  (cartucho del cilindro Peltier).

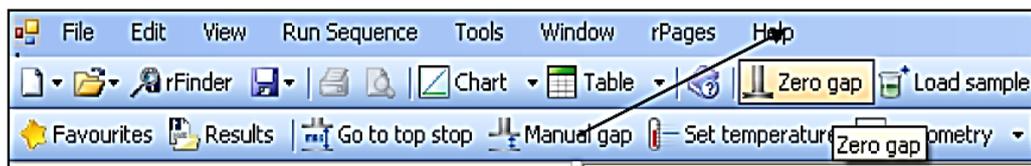
## ANEXO 7.

### Preparación de muestras con el reómetro Kinexus

#### A. Zero Gap

Para comenzar la experimentación debemos “encerar” el equipo para eso se realizó la operación de "Zero Gap", y se procede de la siguiente manera:

1. Una vez inicializado el software controlador del equipo, se debe hacer clic en "Zero Gap"

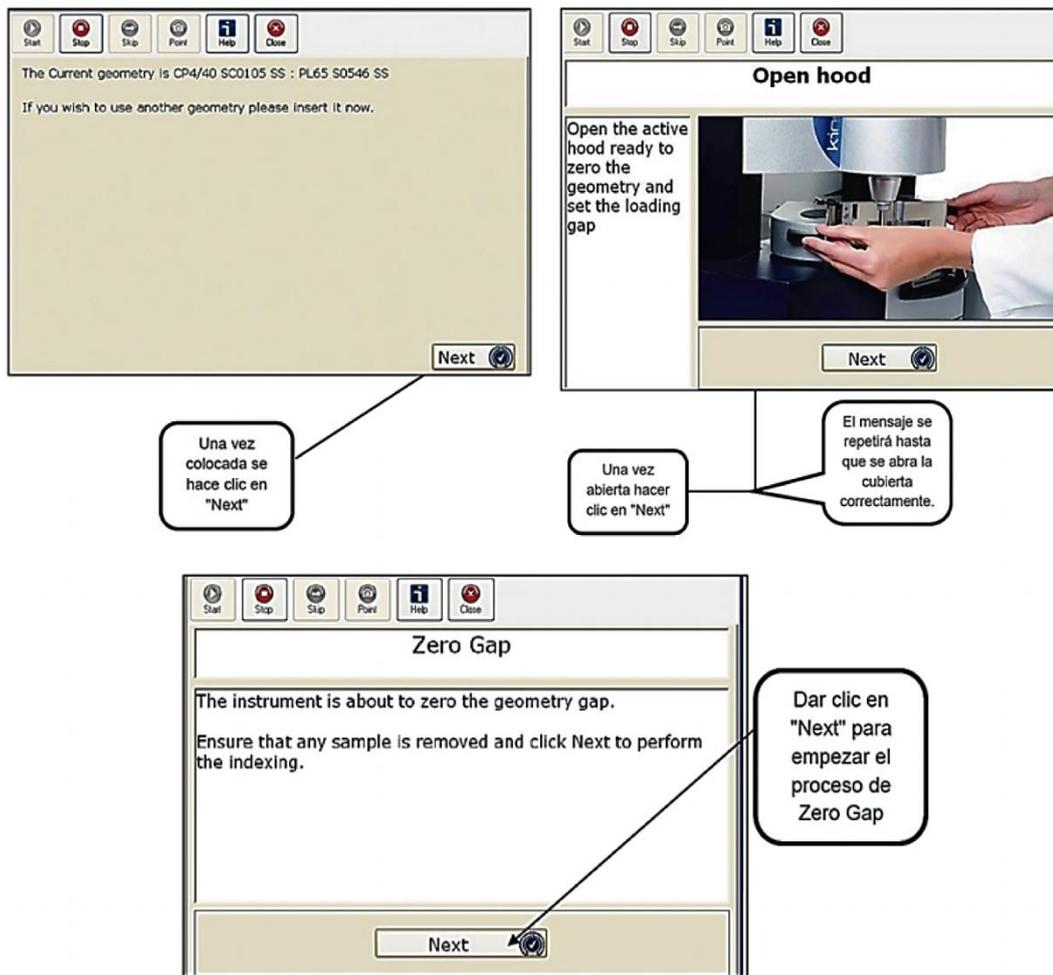


Hacer clic en  
el botón "Zero  
Gap"

#### Paso 1 de ZERO GAP

2. El software pide al usuario que inserte el plato y la geometría deseada.
3. Se debe abrir la cubierta que protege la muestra.
4. Asegurarse que cualquier muestra haya sido removida del equipo.

Entonces en este momento, la operación ha iniciado y podemos observar que el plato superior se estabiliza y se dirige hacia el plato inferior hasta encontrar el gap=0 mm.

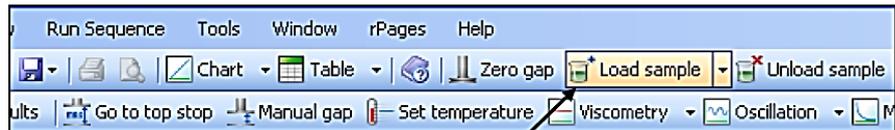


Una vez que se ha completado la operación Zero Gap, iniciamos con el Load Sample.

## B. Load Sample

Aquí se puede empezar cargando la muestra al equipo para lo cual vamos a utilizar el comando "Load Sample". Estos pasos se detallan a continuación:

1. Hacer clic en la opción "Load Sample".



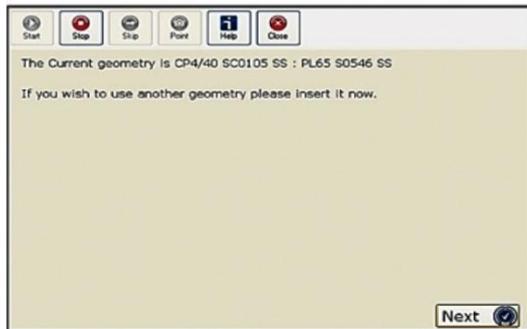
Hacer clic  
en la  
opción  
"Load  
Sample"

### Paso 1 de LOAD SAMPLE

2. El software va a reconocer la geometría insertada, de lo contrario le va a pedir que la inserte para que lo reconozca. Cuando realicemos la determinación de la Región Lineal, vamos a utilizar una geometría de cono y plato, (el primero con: 40mm de diámetro y un ángulo de 4°, mientras que el segundo con: 40mm de diámetro).
3. El software va a indicar: que se debe abrir la cubierta.
4. El usuario deberá seleccionar el tipo de muestra así como también el nombre de la misma.
5. El software nos indica que se debemos abrir la cubierta. Este paso se debe repetir hasta que la cubierta se abra correctamente.
6. Se procede a verter la muestra sobre el plato inferior con la ayuda de la cuchara auxiliar del kit del equipo. Se debe verter la muestra en el centro del disco inferior y procurando que sea una mínima cantidad.
7. El software nos va a pedir que al usuario especifique el **GAP** requerido para la experimentación. En el caso de la investigación del **Plasma Gel**, se utilizó 1mm.

8. Se debe limpiar el exceso de muestra, ya que de lo contrario existirán errores en la medición.

9. Por último, se debe cerrar el capó.



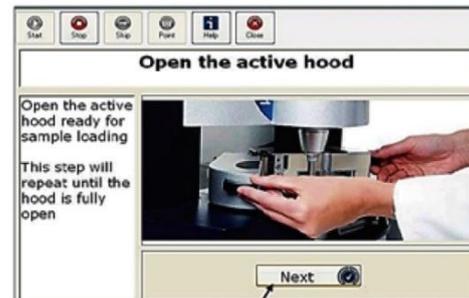
Una vez colocada se hace clic en "Next"



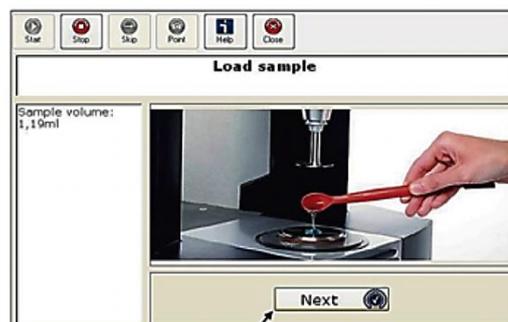
Una vez hecho esto hacer clic en "Next"



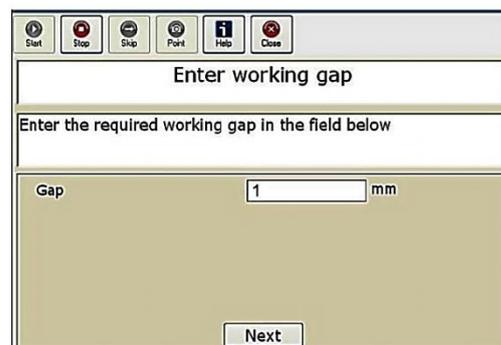
Dar clic en "Next"



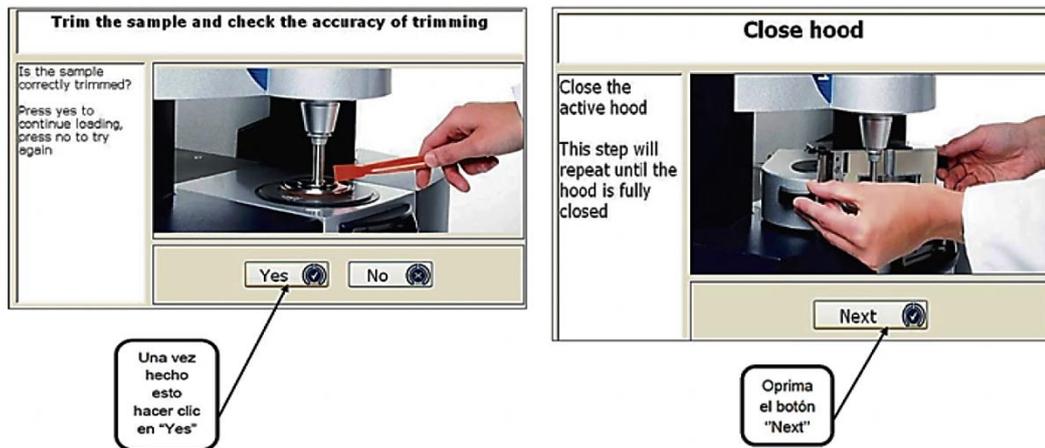
Una vez hecho esto hacer clic en "Next"



Una vez hecho esto hacer clic en "Next"



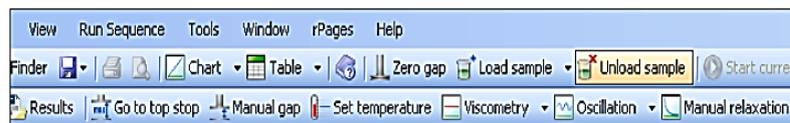
Hacer clic en "Next".



### C. “Unload - Sample”

Terminada la corrida anterior, debemos proceder a retirar la muestra del equipo (Unload - Sample), este un procedimiento que nos permite limpiar las geometrías para luego realizar un **ZERO GAP**, es decir que vamos a dejar al equipo listo para nuevas mediciones o simplemente para poder apagarlo.

1. Concluida la medición y una vez obtenidos sus resultados, vamos a dar clic en “Unload - Sample”

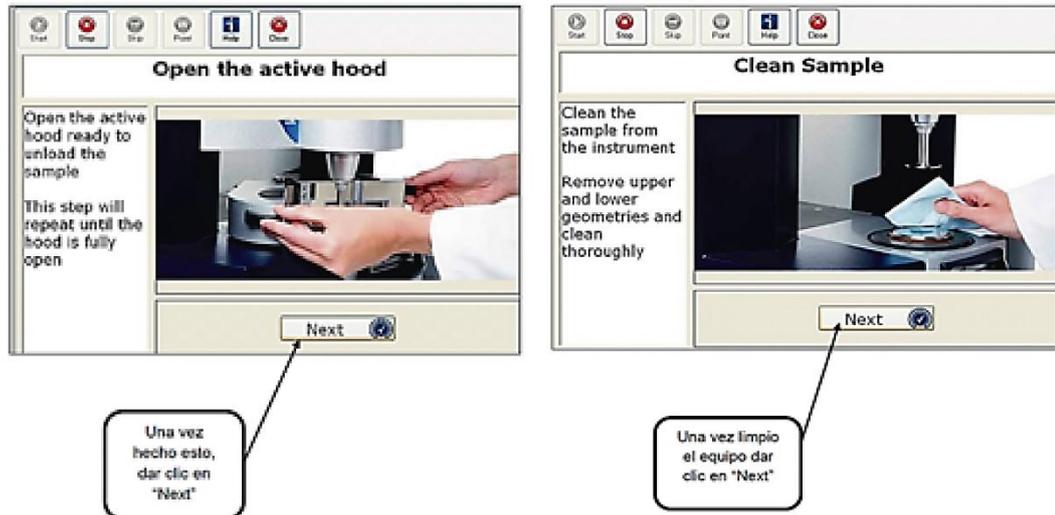


Dar clic en  
“Unload  
Sample”

#### Paso 1 de “UNLOAD – SAMPLE”

2. Abrir cuidadosamente la cubierta de la muestra, tal como lo indica el software controlador del equipo.

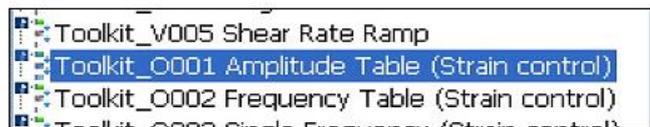
3. Limpiar la muestra del instrumento. Si es necesario remover las geometrías y limpiar se recomienda utilizar un paño húmedo.



### Parámetros de uso

A continuación vamos a detallar el procedimiento de una prueba para determinar la "REGIÓN LINEAL", en donde se utilizó la geometría del cono y plato, el primero de 40mm de diámetro y un ángulo de 4°, y el segundo con 40mm de diámetro.

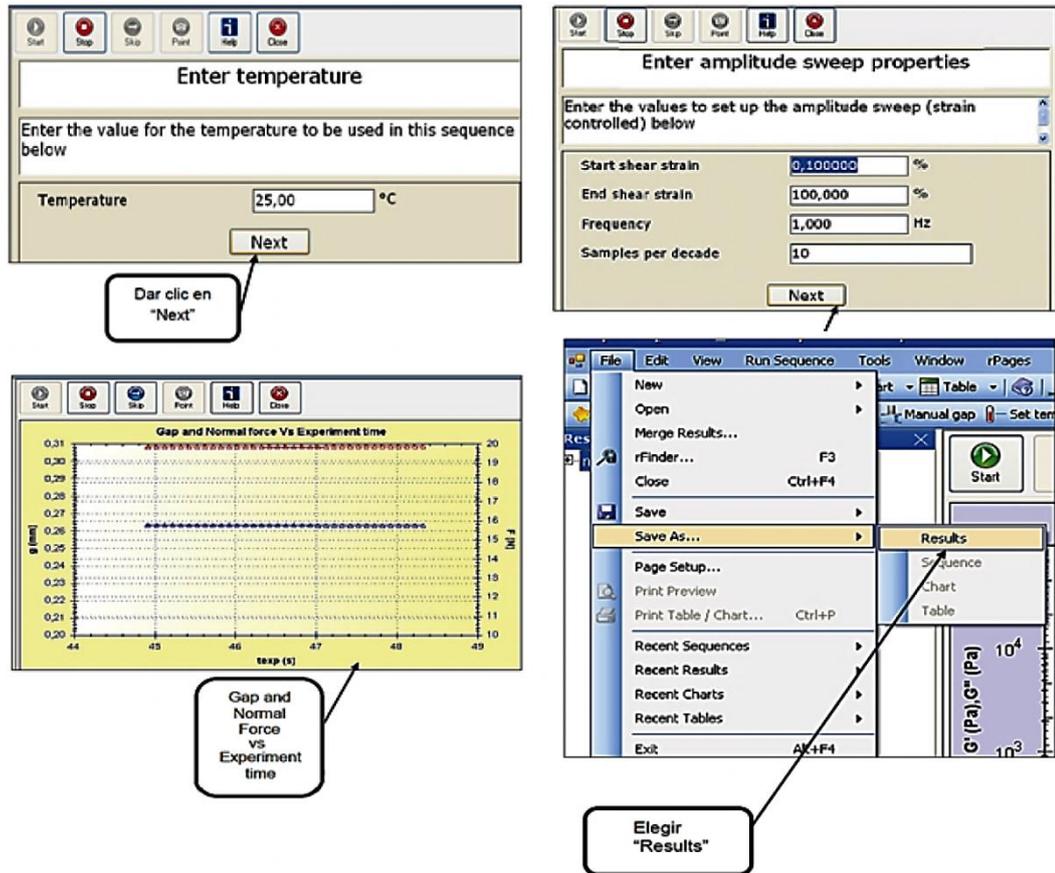
1. Vamos a elegir la secuencia que deseamos realizar, para determinar la región lineal, se eligió el siguiente comando: "Toolkit \_O001 AmplitudeTable" (Strain Control).



Hacer clic en Toolkit\_O001  
Amplitude Table (Strain control)

### Paso 1 de la “PRUEBA de la REGIÓN LINEAL”

2. Ingresamos la temperatura deseada por el usuario. En esta investigación para **Plasma Gel Plaquetario**, se utilizó a 25°C.
3. Ingresamos todos los parámetros de operación de la corrida. Para nuestra investigación de Plasma Gel, se utilizó el comando "shearstrain" de 0,1 a 100%, a una frecuencia constante de 1 Hz.
4. Una vez iniciada “PRUEBA de la REGIÓN LINEAL”, vamos a mostrar los siguientes gráficos (lo que indica que la secuencia ha empezado).
5. Concluida la secuencia vamos a grabar los resultados, para ello hacemos clic en "File", luego al vamos al submenú "Save As" y por último, hacemos clic en "Results".

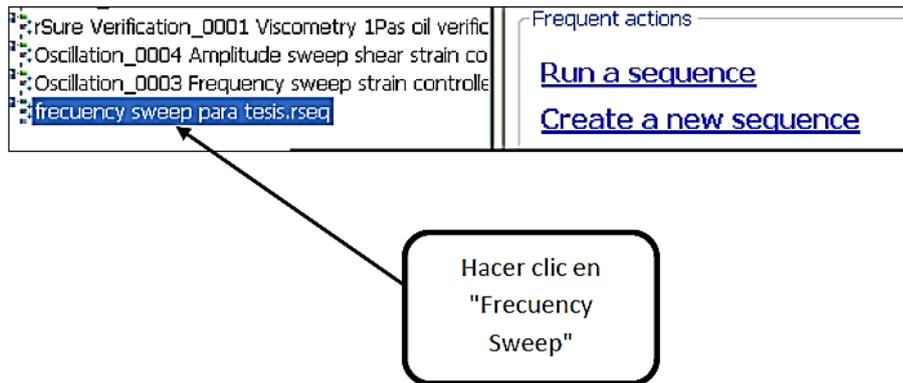


A continuación, vamos a realizar en detalle el procedimiento de una prueba con los siguientes parámetros:

Para la determinación del comportamiento de los **módulos de pérdida y almacenamiento ( $G'$  y  $G''$ )** bajo **frecuencia angular**. En este caso: la geometría utilizada fue de los **platos paralelos**, el plato de arriba con 20mm de diámetro y el plato de abajo con 40 mm de diámetro.

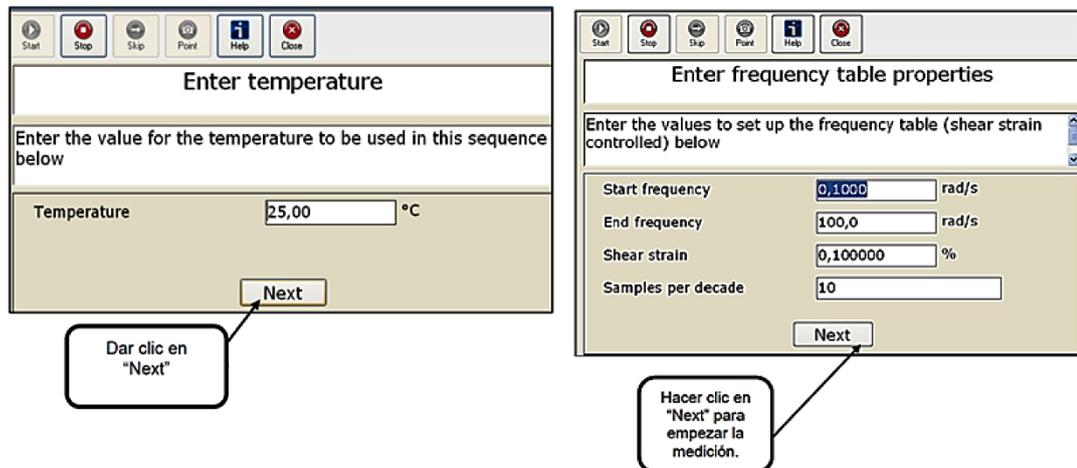
### Pasos:

1. Vamos a seleccionar la secuencia de interés, que deseamos realizar, en este caso se trata de "FrequencySweep".



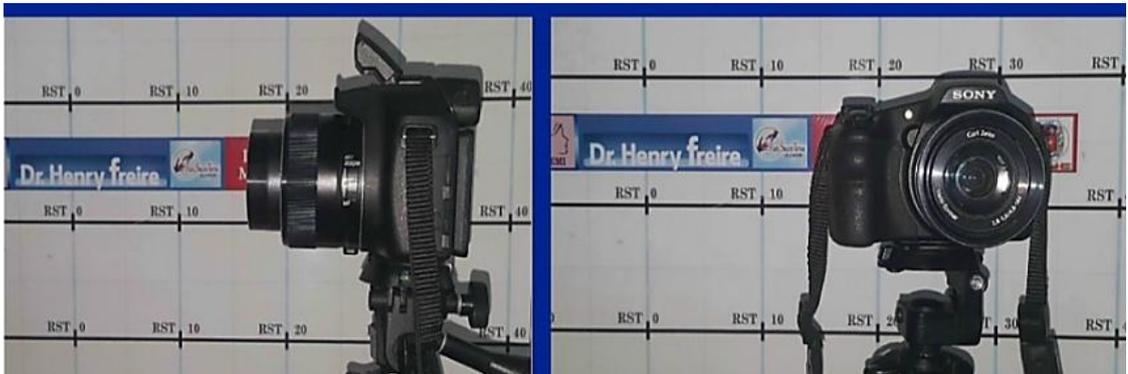
## Paso 1 de "PRUEBA DE CARACTERÍSTICAS REOLÓGICAS"

2. Vamos a ingresar la temperatura para esta la secuencia. en este caso, para la investigación del **Plasma Gel Plaquetario** se utilizó 25°C.



Al Ingresar todos los parámetros para esta operación. Se debe utilizar una "frecuencia angular" de 0,1 a 100 rad/s con una deformación constante de 0,1% (que fue establecida por la REGIÓN LINEAL)

## ANEXO 8.



### **CAMARA SONY, PROFESIONAL, DSC-HX200V**

Lente: zoom óptico, 30x, zoom de imagen nítida, 60x, zoom digital, distancia focal (f= mm) 4,8-144

Macro (Cm) Lente Carl Zeiss®

Píxeles Efectivos: 18,2 megapíxeles), procesador bionz™

Detección facial, iAuto: AF (G: aprox. de 1 cm [0,03 pies] a infinito, T: aprox. de 200 cm [6,56 pies] a infinito) / Program Auto: AF (G: aprox. de 1 cm [0,03 pies] a infinito, T: aprox. de 200 cm [6,56 pies] a infinito, diámetro de filtro (mm) modo de velocidad de obturador automático (seg.) iauto (4"-1/4000)

## **ANEXO 9.**

### **Entrevista al Dr. Carlos Torres**

Doctor en Medicina y Cirugía, Medicina Estética y Reparadora, **Código Colegio Médico: 7628, celular: 0967642148.**

#### **1. ¿Qué opina acerca de los productos de relleno?**

Hay productos de relleno que son autólogos y heterólogos los cuales pueden ser químicos pero son caros.

#### **2. ¿Qué opina acerca del costo de estos productos?**

Son caros porque en realidad están sobre un promedio de los \$500,00 el centímetro y costosos porque por ejemplo los rellenos con ácido hialurónico son producidos mediante ingeniería genética recombinante de los estreptococos beta hemolíticos tipo A y actualmente de la cresta del gallo.

#### **3. ¿En su experiencia ha tenido quejas con un paciente?**

Sí, en algunos casos, con el ácido hialurónico, y se explica: por su mismo origen, como son producidos de la cresta del gallo, hay pacientes que producen rechazo, desarrollan alergia, porque son de origen de otra especie, no humanas.

**4. ¿Desearía que existiera productos de rellenos económicos y que no produzcan efectos indeseables?**

Claro que sí, he escuchado de ciertos productos autólogos que son sacados del mismo cuerpo humano pero no me arriesgo a usar mientras no exista una publicación científica seria.

**5. ¿Qué pasaría si existiera publicaciones como: caracterización de este producto de relleno y protocolos o normas de su duración en los implantes? ¿Habría alguna implicación a futuro?**

Naturalmente, sería excelente, para que el resto de futuros médicos y científicos, lo mejoren y para que de apertura a seguir realizando investigaciones, claro que no le va gustar mucho a la industria cosmética.

**6. ¿Por qué cree usted que no se ha dado mucha promoción o publicidad a este tipo de relleno?**

Por conflictos de interés.

## ANEXO 10.

### Equipos y procedimientos utilizados



