



Propuesta de protocolo para el manejo coadyuvante  
de úlceras cutáneas en pacientes con leishmaniasis

**Claudia Marcela Cruz Carranza**  
**Hernando Riaño Pérez**  
**Martha Janeth Roza Ramos**

Trabajo de grado para optar al título profesional:  
**Curso de Información Militar (CIM)**

**Escuela Superior de Guerra “General Rafael Reyes Prieto”**  
Bogotá D.C., Colombia

2014

616.904  
C957

**COMANDO GENERAL FUERZAS MILITARES**  
**ESCUELA SUPERIOR DE GUERRA**



**PROPUESTA DE PROTOCOLO PARA EL MANEJO COADYUVANTE DE**  
**ULCERAS CUTÁNEAS EN PACIENTES CON LEISHMANIASIS**

**MY. CLAUDIA MARCELA CRUZ CARRANZA**  
**MY. HERNANDO RIAÑO PÉREZ**  
**MY. MARTHA JANETH ROZO RAMOS**

**BOGOTÁ D.C.**

**CIM 2014**

69313

# PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE ULCERAS POR LEISHMANIASIS

## Propuesta de protocolo para el manejo coadyuvante de úlceras cutáneas en pacientes con leishmaniasis

MY. Claudia Marcela Cruz Carranza

MY. Hernando Riaño Pérez

MY. Martha Janeth Roza Ramos

TC. Luis Antonio Castro Gómez

Dermatólogo Inmunodermatólogo Dr. Centro de Investigaciones Facultad de Medicina  
Universidad Militar Nueva Granada Coordinador Clínica Psoriasis Hospital Militar Central  
Bogotá

Este ensayo se realizó como requisito de término de curso de Información Militar

Escuela Superior de Guerra

Bogotá, D. C.

2014

Propuesta de protocolo para el manejo coadyuvante de úlceras cutáneas en pacientes con leishmaniasis

Introducción

"La leishmaniasis es un problema creciente de salud pública a nivel mundial. En Colombia la situación es preocupante debido al incremento de casos de leishmaniasis cutánea que se ha registrado en los últimos años" (Social, 2010); siendo de relevancia en el contexto de las Fuerzas Militares y en especial para el Ejército, donde se encuentra el mayor número de casos que año tras año generan disminución laboral del pie de fuerza por incapacidades prolongadas que aíslan al militar de sus actividades cotidianas en el área de operaciones.

En la actualidad para el manejo local de las úlceras por Leishmaniasis cutánea se puede utilizar la curación tradicional ó los productos con alta tecnología asociados al tratamiento farmacológico (Ejército, 2013); pero las Fuerzas Militares no cuentan con un tratamiento coadyuvante que acelere el proceso de cicatrización de las mismas permitiendo la disminución de las incapacidades y la reincorporación temprana a la actividad laboral.

El Plasma Rico en Plaquetas Autólogo tiene factores de crecimiento que aceleran el proceso de reepitelización de los tejidos. La determinación de la efectividad en la aplicación del concentrado de plaquetas, se ha comprobado en otro tipo de úlceras (Lacci, 2010, Kakudo, 2012 & Carter, 2011), sin embargo, en las úlceras producidas por leishmaniasis aún no existe un protocolo de aplicación, a pesar de que podría compartir los mismos mecanismos de acción acelerando el proceso de cicatrización y porque no, llegando a disminuir la dosis total de los medicamento estándar; limitando los eventos adversos, acortando los días de recuperación y permitiendo la reincorporación temprana a la vida laboral manteniendo el pie de fuerza de las fuerzas militares. De acuerdo a lo anterior y basados en la revisión de la literatura científica al

## PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE ÚLCERAS POR LEISHMANIASIS

respecto se pretende establecer ¿Cuál es el protocolo adecuado para realizar la aplicación del plasma rico en plaquetas en pacientes con úlceras producidas por Leishmaniasis?

La hipótesis que se plantea es demostrar cual es el protocolo más adecuado para el manejo de úlceras por leishmaniasis cutánea siendo aquel que garantice seguridad al paciente; con la mayor concentración de plaquetas viables, mínima manipulación por el operador y que sea reproducible en todos los casos. Para tal fin se realizó una revisión de la literatura comparando los sistemas existentes y se efectuó una visita y entrevista a la empresa Bio-Service Colombia S.A y finalmente se presenta una propuesta de protocolo de acuerdo a los hallazgos encontrados.

La leishmaniasis es una enfermedad infecciosa causada por protozoos del género *Leishmania*, familia Trypanosomatidae, la forma de promastigote es transmitida a algunos mamíferos, entre ellos los humanos, por la picadura de un insecto vector del género *Lutzomyia* en el Nuevo Mundo (América) y *Phlebotomus* en el Viejo Mundo (Europa, Asia y África).

Cuando el flebotomineo vector pica a la persona deja en el sitio donde ocurrió la picadura una mácula de aproximadamente medio centímetro de diámetro, usualmente rodeada de un halo más claro, que perdura uno o dos días. Esta mácula se presenta como efecto de la picadura independientemente de que el insecto este o no infectado con el parásito.

Cuando el vector está infectado y con una gran cantidad de promastigotes en la válvula esofágica que le dificultan su alimentación con sangre, pica varias veces, en diferentes lugares de la piel, en cada picadura “siembra” promastigotes, y posteriormente van a aparecer simultáneamente varias lesiones en el mismo paciente.

Los promastigotes inoculados por el vector invaden los macrófagos de la dermis y se reproducen silenciosamente en ellos, durante un periodo que varía entre dos semanas y dos meses; es el llamado periodo de incubación. El aumento del tamaño del granuloma dérmico va a mostrar los primeros signos de la Leishmaniasis Cutánea, que consiste en un pequeño nódulo, redondeado, indoloro, que aumenta progresivamente de tamaño. El nódulo es producido por una masa dérmica que contiene macrófagos vacuolados con abundantes parásitos y un infiltrado linfocitario. El nódulo puede aumentar de tamaño y adquirir la forma de placa o como consecuencia de la necrosis en el centro de la reacción granulomatosa, inducida por la respuesta inmune, convertirse en úlcera. Inicialmente la úlcera está cubierta por una costra que está bien adherida al fondo de la úlcera y al tratar de retirarla sangra con facilidad; al desprenderse la costra se observa la lesión conocida como “úlceras francas”, de fondo limpio, color rosado, redondeada, de bordes regulares y levantados, indolora y de base indurada. En su evolución natural y dependiendo del agente etiológico la úlcera puede curar espontáneamente, al cabo de algunos meses o volverse crónica. Cuando cura la úlcera deja una cicatriz característica que ha sido descrita como en “bulbo de cebolla” (Vélez, I. D., 2010).

En Colombia la presentación más frecuente es la úlcera indolora con compromiso linfagítico y adenopatía regional (Social, 2010). En el Centro de Recuperación de Leishmaniasis del Ejército Nacional durante el primer trimestre de 2014 se recibieron 737 pacientes con un total de 1204 lesiones, de las cuales 981 (81.5%) correspondieron a úlceras. (Cruz, 2014).

La úlcera típica es redondeada, de bordes elevados, eritematosos, acordonados, con centro granulomatoso limpio y base infiltrada. Regularmente son indoloras, de crecimiento lento. Cuando hay sobreinfección bacteriana se tornan dolorosas, de fondo sucio, secreción purulenta, recubiertas por costra de aspecto mielisérico, eritema periférico y signos inflamatorios locales.

Se pueden presentar como lesiones únicas o múltiples y ocasionalmente como lesiones erisipeloides. La enfermedad puede tornarse crónica luego de doce semanas sin cierre de la úlcera o con la transformación de la misma en una placa verrugosa de bordes elevados recubiertos con escamas y/o costras que coinciden con los borde de la cicatriz de la lesión inicial (Social, 2010).

Simultáneamente con el inicio del tratamiento sistémico ó cuando la respuesta inmune es efectiva, se inicia el proceso de cicatrización ó de reparación cuya secuencia se superpone en el tiempo. Se divide en tres fases: “Inflamatoria”, Proliferativa” y de “Remodelación tisular”.

La fase inflamatoria se caracteriza por la llegada de los neutrófilos al sitio de la herida. Así se inicia la función de *fagocitosis* de bacterias, parásitos y proteínas de la matriz por medio de la liberación de enzimas (hidrolasas, proteasas y lisozimas) y la producción de radicales libres de oxígeno. Dos o 3 días después de la lesión, se produce el acúmulo de monocitos que reemplazan a los neutrófilos. Los monocitos de los vasos, al llegar al tejido se transforman en macrófagos y se unen a proteínas de la matriz extracelular mediante receptores de integrina, promoviendo la fagocitosis.

Así se produce la decontaminación del foco y el desbridamiento autolítico facilitado por la liberación de enzimas como las colagenasas. Los procesos descritos permiten la inducción de la angiogénesis y la formación de tejido de granulación.

Los macrófagos cuando están unidos a la matriz extracelular sufren un cambio fenotípico y de células inflamatorias se transforman en células reparadoras que liberan citoquinas o factores de crecimiento (TGF  $\alpha$  y  $\beta$ , PDGF, FGF y IGF-1) con un importante papel en la neoformación tisular.

La fase proliferativa consta de los siguientes procesos: “Fibroplasia”, “Angiogénesis”, “Reepitelización”, y “Contracción de la herida”.

Los fibroblastos constituyen las células más importantes en la producción de matriz dérmica. Llegan al sitio de la herida desde músculo, tendón y fascia entre las 48 y 72 horas posteriores a la injuria. Una vez allí, migran con movimientos activos sobre una matriz laxa de fibronectina, para ello el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas) hace que exprese receptores de integrina  $\alpha 1$  y  $\alpha 5$ , posibilitando la migración e interacción con los demás factores de crecimiento. La matriz de fibronectina proporciona un molde para las fibrillas de colágeno e interviene en la contracción de la herida.

La hipoxia en el centro de la herida, favorece la liberación de TGF  $\beta 1$ , PDGF, FGF, EGF y VEGF (factores de crecimiento estimulantes de la proliferación de fibroblastos). Idéntica acción tienen las citoquinas liberadas inicialmente por las plaquetas y más tarde por los macrófagos.

Para movilizarse a través de la matriz de fibrina, se requiere un sistema proteolítico que facilite el desplazamiento celular, el que está compuesto por enzimas derivadas de los fibroblastos, proteasas séricas (plasmina y plasminógeno del suero, activador del plasminógeno) y colagenasas (MMP-1 o metaloproteinasa de la matriz; MMP-2 o gelatinasa y MMP-3 o estromalisina). El PDGF estimula la liberación de estas proteínas del fibroblasto mientras que el TGF  $\beta$  induce la secreción de inhibidores de las proteinasas, controlando así la degradación de la matriz.

A medida que migran, los fibroblastos van depositando una nueva matriz provisional de fibronectina y ácido hialurónico. Desde el tercero al quinto día son estimulados por citoquinas y factores de crecimiento (TGF  $\beta$ , PDGF, TNF, FGF, IL1 e IL4) para comenzar a sintetizar la matriz de colágeno (tipos I, III y VI) y una vez que se depositó una suficiente cantidad, cesa la

producción, debido a que el INF  $\gamma$  y la misma matriz inhiben la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno.

La angiogénesis o formación de tejido de granulación se inicia simultáneamente con la fibroplasia. Los vasos adyacentes a la herida emiten yemas capilares, en cuyo extremo se encuentran las células endoteliales, que al segundo día de iniciado el proceso de cicatrización sufrirán un cambio fenotípico que les permite proyectar pseudópodos a través de las membranas basales fragmentadas y migrar al espacio perivascular.

En la proliferación endotelial tienen un papel especial el VEGF (factor de crecimiento vascular-endotelial) y las angiopoyetinas (Ang). La Ang 2 interactúa con un receptor de las células endoteliales (Tie 2), volviéndolas más laxas y disminuyendo el contacto de éstas con la matriz para favorecer la acción del VEGF.

El TGF  $\beta$  estimula la síntesis de fibronectina y proteoglicanos para constituir la matriz provisional, facilita la migración celular e induce el fenotipo de célula endotelial adecuado para la formación de tubos capilares.

Los componentes de la matriz como el SPARC (proteína ácida y rica en cisteína de la matriz celular) liberado por fibroblastos y macrófagos, junto a la trombospondina y la tenascina son considerados proteínas antiadhesivas porque desestabilizan las interacciones célula-matriz, favoreciendo la angiogénesis. Al mismo tiempo la disminución de la tensión de  $O_2$ , estimula a los macrófagos para que produzcan y secreten factores angiogénicos.

A medida que las células endoteliales migran hacia el intersticio forman brotes capilares que se dividen en sus extremos y luego se unen formando asas que darán origen a los plexos capilares.

Al cabo de 1 o 2 días después del cese de los estímulos angiogénicos, los capilares sufren una regresión por tumefacción mitocondrial en las células endoteliales de los extremos distales de los capilares, adherencia plaquetaria a las células endoteliales y finalmente ingestión de los capilares necrosados por los macrófagos.

Por último se produce el reclutamiento de las células periendotheliales (pericitos y células de músculo liso) que van a estabilizar los vasos recién formados. Este proceso se realiza por la unión de la Ang1 al receptor Tie 2, aumentando el contacto de éstas con la matriz. Otros receptores celulares que intervienen son los de integrina, en especial el  $\alpha$ vB3, esencial para la formación y mantenimiento de los nuevos vasos.

*En la reepitelización*, los queratinocitos migran desde los bordes de la herida o desde los anexos remanentes con el fin de restablecer la barrera cutánea. La *migración* se produce gracias a un cambio en su fenotipo que consiste en: a) pérdida del aparato de adhesión (retracción de los tonofilamentos y disolución de los desmosomas) b) adquisición de aparato motor (desarrollo de filamentos de actina y la proyección de lamelopodios hacia la herida) y c) la expresión de queratina K6 y K16, marcadores del estado activo. Este proceso lleva a la pérdida de unión entre las células epidérmicas entre sí, a la membrana basal y a la dermis subyacente.

El ciclo de activación del queratinocito comienza con la IL-1, que lo transforma en célula hiperproliferativa y migratoria. Al llegar a la herida se producirá la migración sobre un sustrato de matriz provisoria rica en fibronectina, mediada por receptores de superficie integrínicos ( $\alpha$ 5- $\beta$ 1) y la liberación de TGF  $\beta$ . Luego la migración será sobre la matriz definitiva rica en colágeno, mediada por receptores de superficie colagénicos ( $\alpha$ 2- $\beta$ 1) y la liberación de TGF  $\alpha$  /EGF. En la membrana basal desaparecen la laminina y el colágeno de tipo IV. Cabe destacar que en la piel sana, los queratinocitos no están en contacto con los colágenos de la membrana basal (IV y VII) o

de la dermis (I, III y V) que son activadores de la migración y sí lo están con la laminina de la lámina lúcida, la cual inhibe la migración de éstos.

La *proliferación* ocurrirá en forma superpuesta a la migración, mientras las células epiteliales continúan su viaje a través de la herida, las células proximales a éstas proliferan activamente debido a la liberación de mediadores solubles (EGF / TGF  $\alpha$ , PDGF / FGF, etc) y al “efecto borde” (ausencia de células vecinas en aposición que dispararía el estímulo proliferativo en los márgenes de la herida).

Para que el queratinocito sepa cuando finalizar su proceso de migración y proliferación existen varias señales: el INF  $\gamma$  producido por las células inflamatorias lo estimula a expresar queratina K17, que lo convierte en contráctil y facilita la reorganización de la matriz de la membrana basal provisoria y el TGF  $\beta$  estimula la producción de queratinas K5 y K14 que lo convierten en una célula basal para iniciar nuevamente la diferenciación. La reparación de la membrana basal con el nuevo depósito de laminina, es una señal para el queratinocito que indica que la herida ya está reparada y no hay necesidad de migrar.

En la contracción de la herida, los fibroblastos sufren una serie de cambios fenotípicos. Primero adoptan un fenotipo *migratorio*, luego un fenotipo *profibrótico* (mientras producen colágeno I, III y VI) y posteriormente, alrededor del noveno día del proceso de cicatrización, adoptan el fenotipo de *miofibroblasto*: es rico en microfilamentos de actina en el lado citoplasmático de la membrana y establece uniones célula-célula (adherentes) y uniones con la matriz extracelular a través de receptores integrínicos.

El colágeno neoformado se une a través de enlaces covalentes cruzados con haces del borde de la herida y con haces de la dermis adyacente. Estas uniones crean una red a través de la herida y así la tracción que realizan los fibroblastos a la matriz pericelular se puede transmitir

dando como resultado una contracción coordinada. En una herida de espesor completo hay reducción del tamaño en un 40% respecto del tamaño original.

El TGF  $\beta$  estimula la contracción de los fibroblastos, también intervienen la angiotensina, las prostaglandinas, la bradiquinina y la endotelina. En el último día de la cicatrización los fibroblastos inician su proceso de apoptosis, estableciéndose una transición de una cicatriz rica en fibroblastos y tejido de granulación, a una cicatriz acelular.

La Remodelación Tisular es la última etapa, comienza al mismo tiempo que la fibroplasia y continúa por meses. La célula principal es el fibroblasto que produce fibronectina, ácido hialurónico, proteoglicanos y colágeno durante la fase de reparación y que sirven como base para la migración celular y soporte tisular. Con el tiempo la fibronectina y el ácido hialurónico van desapareciendo por acción de las enzimas proteasas y hialuronidasas respectivamente.

Al cabo de 1 año o más, el colágeno tipo III que se depositó durante la reparación es reemplazado por el de tipo I, con un fenotipo más estable y similar al que tenía la dermis originalmente. La degradación del primer colágeno se debe a la acción de las metaloproteinasas de la matriz (colagenasas, gelatinasas y estromalinasas), cuya actividad depende de los iones de zinc y que son estimuladas por los factores de crecimiento y por los componentes de la matriz extracelular. Al final del proceso la cicatriz adquiere una resistencia máxima del 70% comparada con el tejido sano, esto se debe a que los colágenos fibrilares forman haces fibrosos que aumentan mucho la fuerza tensil del nuevo tejido. La actividad celular disminuye y el tejido conjuntivo cicatrizal se torna rico en colágeno, pobre en células y vasos, sin folículos pilosos y sin glándulas sudoríparas ni sebáceas. La dermis recupera la composición previa a la lesión y la reparación de la herida se considera finalizada. (Dermatología, 2008).

## PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE ULCERAS POR LEISHMANIASIS

Es de gran importancia el diagnóstico temprano de la leishmaniasis ya que nos permite instaurar el tratamiento específico lo antes posible y con este, controlar la evolución de la enfermedad, aliviar los signos y síntomas y mejorar la calidad de vida de los pacientes quienes están expuestos a un gran estigma social por las cicatrices y las secuelas físicas que deja la leishmaniasis y que son difíciles de olvidar para quien ha sufrido o sufre la enfermedad (Vélez, I. D., 2010).

En la actualidad el tratamiento de las leishmaniasis en Colombia es sistémico, el uso de alternativas terapéuticas estará condicionado a criterio médico y a condiciones específicas (embarazo, lactancia) (Social, 2010).

Los objetivos del tratamiento son: prevenir mortalidad prevenir morbilidad, acelerar la curación clínica, *reducción de cicatrices*, curación parasitológica, prevenir recidivas, prevenir diseminación y evitar resistencia (Social, 2010).

En el primer nivel de atención está indicado el tratamiento a los pacientes con confirmación parasitológica suministrando los medicamentos de primera elección en pacientes que NO presenten alteraciones cardíacas, hepáticas o renales (Social, 2010).

Los tratamientos de primera elección para las diferentes formas clínicas de leishmaniasis son las sales de antimonio pentavalente (Sb5+) como el antimoniato de N-metil glucamina (Glucantime®) (Social, 2010).

Hasta el año 2013, en los Establecimientos de Sanidad del Ejército se realizaba control local de la úlcera con curaciones diarias de tipo convencional, que generaban discomfort en los pacientes; utilizando productos que no ejercían control antimicrobiano, ni del exudado de las lesiones, favoreciendo la maceración perilesional, y prolongando el proceso de cicatrización, con mayor uso de insumos, costos y tiempo de enfermería.

## PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE ULCERAS POR LEISHMANIASIS

A partir de esta fecha la Dirección de Sanidad del Ejército publicó el "*Protocolo de manejo local para lesiones causadas por leishmaniasis cutánea*", cuyo objetivo fue unificar criterios de atención en el manejo y tratamiento local de las lesiones causadas por Leishmaniosis cutánea con productos de alta tecnología que se utilizan de acuerdo a la presentación de la lesión en el momento de la evaluación del paciente (Ejército, 2013), logrando con esto avances importantes en el manejo de este tipo de úlceras.

Los costos de atención por paciente con Leishmaniasis cutánea fueron en promedio durante el 2005 al 2010 de dos millones cuatrocientos noventa y cuatro mil ciento ochenta y nueve pesos con veintiocho centavos (\$ 2.494.189.28) que incluyen 1 frotis, 3 paquetes de paraclínicos (CH, BUN, Creatinina, Amilasa, Transaminasas, Parcial de orina, EKG), 20 curaciones, y 3 valoraciones por medicina general por valor de novecientos sesenta y nueve mil ciento setenta y cinco pesos con setenta y siete centavos (\$969.175.77), medicamento por valor de doscientos setenta y nueve mil trescientos noventa y cuatro pesos con sesenta y cinco centavos (\$279.394,65) y la incapacidad correspondiente a 45 días por valor de un millón doscientos cuarenta y cinco mil seiscientos dieciocho pesos con ochenta y seis centavos (\$1.245.618.86) (Ejército, L. D., 2010).

La investigación en el campo de la regeneración de tejidos persigue la reparación de los mismos de forma más eficaz y más temprana. De este modo, los conocimientos sobre la fisiología de los procesos de reparación son utilizados para diseñar diferentes técnicas y materiales que puedan aportar las condiciones óptimas. En este contexto se incluye el plasma rico en plaquetas como aporte rico en factores de crecimiento para aplicación en el lugar preciso de la lesión (Trujillo, M., 2008).

Las plaquetas o trombocitos son células sanguíneas que participan en la coagulación de la sangre. Se forman a partir de sus precursores en el tejido hematopoyético. La formación de las plaquetas, como las de otras células sanguíneas, comienza con el Hemocitoblasto, que entre otras posibilidades, (y fundamentalmente cuando está bajo el estímulo de trombopoyetina) puede convertirse en megacarioblasto, el cual se transforma en promegacariocito y este en megacariocito. Durante la etapa de maduración del megacariocito, el DNA continúa replicándose y el núcleo experimenta muchas divisiones pero sin la correspondiente división celular. Mientras esto ocurre, se acumula una gran cantidad de citoplasma. Las plaquetas se forman por el desarrollo de membranas de demarcación en el citoplasma, con liberación posterior a los sinusoides venosos de la medula ósea. Un megacariocito puede liberar miles de plaquetas, quedando la célula con prácticamente solo el núcleo.

Las plaquetas son muy pequeñas, de 1 a 4 micras de diámetro y circulan entre 4 y 10 días, como discos achatados y sin núcleo. La membrana plaquetaria es muy rica en fosfolípidos y contiene diversas glicoproteínas que desempeñan un papel fundamental en la recepción y transducción de las señales intracelulares. El citoplasma de las plaquetas contiene un sistema de microfilamentos y una estructura contráctil del tipo actina/miosina, denominada thrombosthenin, que al ser activada modifica la estructura de la membrana. También se encuentran en el citoplasma microtúbulos, que junto a los microfilamentos, forman un citoesqueleto interno flexible responsable de la forma de las plaquetas, pero que a la vez permite los cambios de conformación durante la activación plaquetaria. También se observan en el citoplasma plaquetario retículo endoplásmico residual (formando el llamado sistema tubular denso), mitocondrias, glucógeno y tres distintos tipos de gránulos: gránulos alfa, gránulos densos, y gránulos lisosomales, que contiene sustancias biológicamente activas que son liberadas durante

el proceso de la coagulación. La energía para los procesos plaquetarios (agregación, secreción y otros) deriva de metabolismo aeróbico en la mitocondria y de glicolisis anaerobia utilizando los gránulos de glucógeno presentes en su citoplasma.

Los gránulos alfa contienen una amplia variedad de péptidos y proteínas, Investigaciones recientes indican la existencia de dos tipos de gránulos alfa: gránulos alfa proangiogénicos y gránulos alfa antiangiogénicos. Ambos parecen liberar sus componentes como respuesta a estímulos de diferentes receptores.

Los gránulos alfa angiogénicos contienen Factor de Crecimiento Plaquetario (Platelet-Derived Growth Factor o PDGF), que desempeñan un papel fundamental en la proliferación de las células musculares lisas dentro del vaso sanguíneo. Otras sustancias presentes en estos gránulos y estimulantes de la formación de vasos (angiogénesis) son el Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (Vascular Endothelial Growth Factor o VEGF), Factor de Crecimiento básico de los fibroblastos (basic Fibroblast Growth Factor o bFGF), Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF), entre otros.

Los gránulos alfa antiangiogénicos contienen endostatina, Factor Plaquetario 4, trombospondina-1, alfa-2 macroglobulina, inhibidor del activador del plasminógeno, y angiostatina. La liberación de sustancias de estos gránulos es activada por diferentes receptores: mientras la activación de PAR-1 en la membrana plaquetaria activa la liberación de sustancias de los gránulos proangiogénicos, la activación de Par-4 activa la liberación de las sustancias de los gránulos antiangiogénicos en un equilibrio necesario para mantener la homeostasis.

Los **gránulos densos** almacenan calcio en altas concentraciones, además de ATP, ADP, serotonina, Pirofosfatos y polifosfatos.

El calcio liberado por estos gránulos en el citoplasma desencadena una serie de eventos fundamentales para la agregación plaquetaria, que incluyen entre otros, la activación de la Fosfolipasa A2, (con liberación de ácido araquidónico de los fosfolípidos de las membranas, y su conversión en Tromboxano A2), y desencadena la contracción del complejo actina-miosina asociado al citoesqueleto interno flexible de las plaquetas, lo cual provoca cambios conformacionales con centralización de organelos y formación de los pseudópodos característicos de la plaqueta activada.

El PRP es un producto autólogo, atóxico y no inmunorreactivo que se obtiene de la sangre del propio paciente. Ha sido una innovación en la estimulación y aceleración de la cicatrización de hueso y tejidos blandos a través de mecanismos que en su conjunto se denominan *bioestimulación*, los cuales implican la activación biológica de las funciones anabólicas de células y tejidos. En la matriz extracelular el PRP estimula la síntesis de colágeno II, III y IV, de elastina y ácido hialurónico (Dermatología, 2008).

La razón de su amplia utilización en la actualidad radica, por un lado, en la riqueza de factores de crecimiento que aportan, y por otro lado en la sensación de seguridad que transmiten al ser un producto autólogo (proviene del mismo paciente) y en los resultados prometedores publicados en los diversos estudios.

Los factores de crecimiento que provienen de los gránulos alfa plaquetarios contribuyen en forma preponderante al proceso de cicatrización y de epitelización, tales como el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas) y el TGF  $\beta$  (factor de crecimiento transformador- $\beta$ ) con acción mitógena y quimiotáctica en los fibroblastos, el TGF  $\alpha$  (factor de crecimiento transformador- $\alpha$ ) y el EGF (factor de crecimiento epidérmico) que estimulan la reepitelización; entre otros.

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF): juega un papel crítico en la proliferación y desarrollo tisular. Fue aislado por primera vez a partir de la degranulación de los gránulos alfa de las plaquetas. Tiene diversas acciones como:

- Facilita la angiogénesis por vía indirecta a través de los macrófagos que actúan sobre las células endoteliales.
- Es el primero en actuar en las heridas y fomentar la revascularización. Su escasa cantidad en el coágulo es suficiente para favorecer la cicatrización mediante la inducción de la mitogénesis, angiogénesis y producción de proteínas de la matriz extracelular.
- Efecto quimiotáctico y activador sobre las células inflamatorias (macrófagos).
- Facilita la formación de colágeno tipo I y estimula la producción de fibronectina y de ácido hialurónico.

**Factor de crecimiento transformador (TGF).** Su efecto biológico varía dependiendo del tipo celular y del entorno en el que actúa:

- Estimula la proliferación y migración de células epiteliales o las inhibe dependiendo de la presencia de otros factores de crecimiento.
- Promueve la producción de matriz extracelular.
- Efecto angiogénico

**Factor de crecimiento epidérmico (EGF).**

- Efecto mitogénico y quimiotáctico de los fibroblastos y células epiteliales; este efecto es dosis dependiente.
- Estimula la formación de tejido de granulación.
- Estimula la formación de matriz extracelular de forma indirecta atrayendo fibroblastos y estimulando la producción de colágeno por éstos

**Factor de crecimiento fibroblástico (FGF)**

- Actúa indirectamente sobre la angiogénesis, estimulando la migración y mitosis de las células endoteliales.
- Estimula y coordina la mitogénesis de células de origen mesenquimal como los fibroblastos, osteoblastos, condrocitos y células musculares durante el crecimiento y la reparación tisular.

**Factor de crecimiento semejante a la insulina (FGI)**

- Efecto quimiotáctico sobre las células endoteliales, favoreciendo la neovascularización.

**Factor de crecimiento vascular endotelial (VGF)**

- Es un mitógeno potente y selectivo para las células endoteliales.

**Factor derivado del cemento (CGF)**

- Es mitógeno para los fibroblastos del ligamento periodontal y dérmicos.

**Factor plaquetario 4 (FP-4)**

- Ejerce un efecto quimiotáctico sobre los neutrófilos siendo responsable de la afluencia de estos en el proceso de cicatrización.

Para la obtención del plasma rico en plaquetas se recomienda utilizar tubos de plástico, debido a que el vidrio puede activar la cascada de coagulación; así como hacer especial énfasis en las condiciones de esterilidad para evitar la contaminación y el riesgo de infección. En cuanto al tipo de anticoagulante a utilizar, la mayoría de autores está de acuerdo en no utilizar el ácido etilendiaminotetracético, ya que puede dañar la membrana plaquetaria, por lo que se recomiendan anticoagulantes con citrato y dextrosa ó citrato de sodio.

Se extraen entre 20 y 60 cc de sangre venosa según la superficie a reparar, con citrato de sodio como anticoagulante.

La obtención del PRP se realiza a través de un proceso de separación celular por centrifugación diferencial en donde se separan las distintas fases y se utilizan las más concentradas. Es importante para el éxito de este procedimiento que las plaquetas presenten calidad y cantidad suficientes para que el PRP sea terapéuticamente útil.

Se realiza una primera centrifugación rápida en la que se consigue separar la sangre completa en una franja roja inferior de hematíes y otra amarillenta superior de plasma.

Este plasma contiene una concentración relativamente baja de plaquetas (es lo que se denomina plasma bajo o pobre en plaquetas, PPP). Entre una franja y la otra se encuentra la mayor concentración de plaquetas, y recibe el nombre de franja leucocitaria, y en la franja inferior roja se encuentran los componentes celulares sanguíneos. Se extrae el plasma amarillento (PPP) del tubo de sangre con una jeringuilla y posteriormente se introduce en un nuevo tubo, se coloca el tapón del tubo de ensayo y se realiza la segunda centrifugación.

El objetivo de la segunda centrifugación es separar y concentrar todavía más las plaquetas obteniendo como producto final el plasma rico en plaquetas. Con este último proceso los tubos presentan una franja superior de suero sobrenadante de color amarillo claro, que contiene fibrinógeno y una concentración muy baja de plaquetas, y una franja inferior generalmente de color rojizo formada por PRP muy concentrado. Posteriormente se pipetea el suero sobrenadante y se queda un remanente de PRP de 0,5 mm aproximadamente en cada tubo, dependiendo de la cantidad inicial recogida. La concentración normal de las plaquetas en el hematocrito es de 33-40% de plaquetas, pero tras el proceso de doble centrifugado se puede obtener una concentración de plaquetas de 33% aproximadamente (Hernández, 2007).

No hay acuerdo en el procedimiento de centrifugación más adecuado para su obtención; en los estudios publicados al respecto se han utilizado diversos protocolos en cuanto a velocidad

y tiempo de centrifugación, por lo que también es esperable que existan grandes diferencias en el número de plaquetas obtenidas. En este sentido Marx en 2004 propuso 1 millón de plaquetas/ $\mu$ l en una alícuota de 6 ml como punto de referencia mínimo para el PRP con fines terapéuticos.

Además se requiere calcular la velocidad de centrifugación (RPM), que va en relación directa con la fuerza de gravedad (G), y es aquí, en donde se observan una gran variabilidad en las revoluciones por minuto y tiempo aplicados a la muestra de sangre. Cada estudio revisado presenta aplicaciones de RPM diferentes que van desde 1000 a 5600 RPM, e igualmente con diferentes tiempos de exposición que van de 4 a 12 minutos. La utilización de centrífugas digitales que permiten controlar los parámetros de tiempo y velocidad: revoluciones por minuto, son de uso común.

Se pueden describir tres prácticas claras: 1. Centrifugaciones a bajas RPM entre 1000 a 3000 RPM con tiempos entre 8 a 12 minutos, 2. Centrifugaciones a altas RPM de 3000 RPM en adelante con tiempos entre 6 y 8 minutos y 3. Doble centrifugación a bajas RPM 1000 a 2500 RPM entre 6 y 8 minutos.

Con respecto a este hallazgo es importante resaltar el estudio de la Dra. Luz Arboleda en Cali; quien evalúa la concentración de plaquetas y la presencia de los otros tipos celulares en 18 muestras de sangre de diferentes pacientes; divididas en tres grupos, donde fueron sometidas 6 muestras a bajas RPM 2000 RPM x 8 min, 6 muestras a altas RPM 3000 RPM x 8 min y 6 muestras a doble centrifugación a 2000 RPM x 8 min, encontrando que a bajas revoluciones se concentran las plaquetas y se logra que el porcentaje de las demás poblaciones sea bajo. A altas revoluciones todas las células se precipitan, incluyendo las plaquetas y con la doble centrifugación a baja revolución, la concentración de plaquetas es similar al primer caso pero la cantidad de glóbulos blancos es menor y la de rojos es nula. (Arboleda, 2010).

El desarrollo del PRP a través de la centrifugación se ha simplificado enormemente para que pueda utilizarse en la consulta médica del mismo modo que en el quirófano. Sin embargo, el proceso de centrifugación debe ser estéril y preciso para conseguir la separación de las plaquetas de las células rojas de la sangre en una alta concentración sin que se fragmenten o sufran daño, con lo que podrían perder su capacidad de secreción activa de los factores de crecimiento. Es por ello por lo que no todos los instrumentos en el mercado para su obtención son iguales.

En los últimos años han ido apareciendo en el mercado dispositivos que facilitan la obtención concreta del PRP en el propio consultorio. Entre los sistemas disponibles para uso ambulatorio de PRP, cabe citar el Smart PreP® 2 APC (de Harvest Technologies) que está aprobado para su uso por la FDA. Utiliza la centrifugación diferencial y consigue concentraciones de plaquetas superiores a 1.000.000/ml. (Terumo cardiovascular group, 2014).

El sistema de Concentrado de Plaquetas Harvest SmartPreP 2, está diseñado para producir concentrados autólogos de plaquetas enriquecidos con factores de crecimiento (APC+) en menos de 15 minutos. El sistema se basa en una tecnología que se auto-calibra, de plataforma flotante, que optimiza automáticamente la recuperación de las plaquetas para cada paciente.

El proceso automatizado único, de doble centrifugado y decantación, junto con desechables auto-calibrados, hace que el sistema sea mucho más fácil de usar que los sistemas más complejos usando sensores de última generación y controles para maximizar la recuperación de plaquetas, y eliminar la interacción del operador. La tecnología de plataforma flotante también garantiza resultados óptimos sin importar el hematocrito del paciente, el volumen de sangre procesada, o el operador, así como la eliminación del pesaje de productos o las múltiples manipulaciones de bolsas de sangre y tubos de ensayos (Hospimédica.es, 2012).

Diversos estudios avalan el sistema de obtención de PRP de Harvest Technologies SmartPreP<sup>®</sup>, como válido, reproducible y seguro para obtener una concentración adecuada de plaquetas (Marx & Kevy, 2004) (Marx, Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts, 1998).

Kevy realizó una comparación entre los distintos instrumentos del mercado para obtener el PRP, concluyendo que el de Harvest Technologies era el de mejores prestaciones. Requiere sólo 4 pasos de procesado, al contrario que los 12 a 24 que se observan en los demás. Es el más reproducible, con un coeficiente de variación del 13%. Los niveles de factores de crecimiento TGF-beta y PDGF-AB son los mayores. Multiplicó por cuatro los niveles basales de plaquetas del plasma del paciente, muy por encima de los demás. Es el que aísla en mayor medida las plaquetas de un determinado volumen de plasma (72%, por 27-58% del resto). En cuanto a la esterilidad, en 5 ocasiones se produce una entrada en la barrera estéril, más o menos en la media de todos los preparados (3-7). El tiempo total del preparado es de 15 minutos (20-32 minutos en el resto) (Kevy, 2004).

Según Marx y el Center for Blood Research en Boston, Massachusetts (EE.UU.) en el mercado las mayores concentraciones en plaquetas y en factores de crecimiento se consiguen con dos de los preparados comercializados: el SmartPreP de Harvest Technologies y el PCCS de 3i. Se obtienen entre 3 y 4 veces mayor concentración de PDGF-alfa-beta, entre 2 y 3 veces más TGF-beta y entre 2 y 3 veces más concentración de plaquetas con estos dos preparados que con el resto de los comercializados (Marx, 2004).

El efecto buscado con la aplicación del PRP es la función de los factores de crecimiento plaquetarios. Si las plaquetas se rompen antes de aplicarse se produce su desgranulación fuera del momento y lugar deseado y la degradación de los factores por las proteasas se lleva a cabo antes

de que hayan ejercido su acción señalizadora sobre los receptores de membrana de sus células diana. Es crucial la técnica de preparación del PRP autólogo, ya que deberá conseguir un concentrado de plaquetas viables para que la liberación de factores de crecimiento sea efectiva (Gonshor, 2002).

El sistema SmartPReP permite obtener una elevada concentración de plaquetas a partir de un pequeño volumen (desde 20 ml) de sangre completa en aproximadamente 15 minutos. Esto lo hace clínicamente aplicable en cualquier intervención quirúrgica. Es importante comprender las diferencias de calidad de los concentrados de plaquetas obtenidos mediante un método concreto de centrifugado. Este sistema implica la separación diferencial de la sangre completa en los tres componentes primarios. Estudios científicos básicos han definido la calidad de las plaquetas obtenidas mediante el sistema SmartPReP. Estudiando una serie de parámetros como el pH, el porcentaje de agregación plaquetaria, el estrés hipotónico y los valores de p-Selectina, se ha demostrado que las plaquetas obtenidas mediante el sistema SmartPReP equivalen a plaquetas transfundibles (Terumo, 2013).

El SmartPReP produce sistemáticamente unas tasas de recuperación de plaquetas superiores al 85%. Esta centrifugación da lugar a un aumento uniforme de cuatro a seis veces la concentración de plaquetas, en comparación con la concentración inicial de plaquetas en la sangre completa del paciente. También se han medido y comparado los factores de crecimiento en su concentración plasmática inicial. El aumento medio en porcentaje de proteínas como PDGF, TGF-beta y EGF es aproximadamente del 450 al 700% (Navarro, 2008).

La tecnología del sistema proporciona un proceso reproducible para la preparación de PRP con el uso de un pequeño volumen de sangre entera (20ml).

## PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE ULCERAS POR LEISHMANIASIS

Aunque ningún sistema de obtención de PRP es totalmente cerrado, el sistema Harvest PRP von SmartPrep se diseñó para cumplir con los lineamientos de la Asociación Americana de Bancos de Sangre referentes a la separación celular.

En lugar de usar conectores que se pueden contaminar fácilmente y no se pueden desinfectar, los conectores desechables de este sistema incorporan puertos de inyección resellables que se pueden desinfectar asépticamente con alcohol antes de la entrada de la aguja. Este es el sistema más cercano a uno cerrado que existe en el mercado. Además cumple con avanzados requisitos de pruebas de esterilidad.

Este sistema genera de manera constante y reproducible, la concentración óptima de plaquetas que puede ayudar a maximizar las condiciones para su uso. En la actualidad es el estándar de oro en la tecnología del PRP.

El Kit desechable AP-60, que garantiza 7-10ml de PRP con 60ml de sangre total, que tiene un costo de \$619.000 (Seiscientos diecinueve mil pesos). Este paquete consta de kit de punción, mariposa 19G, jeringa para anticoagulante de 1-3ml, jeringa para extracción de sangre 1-60ml, anticoagulante ACD-A (30ml), Capacho 1-60ml, jeringa para plasma con cánula sin filo y separador (1-30ml), jeringa para concentrado de plaquetas con cánula sin filo (1-20ml), jeringa 10ml (1 repuesto), cánula plástica sin filo 1, recipientes plásticos estériles (3), set de etiquetas de pacientes (1).

El equipo consiste de un centrifugador controlado por un microprocesador con capacidad decantadora automática y complementado con un kit estéril desechable para el procesado de la muestra (sangre total).

La tecnología del sistema proporciona un proceso reproducible para la preparación de PRP con el uso de un pequeño volumen de sangre entera (60ml).

El sistema utiliza ACD-A (Anticoagulante Adenina Citrato Dextrosa) para proteger las plaquetas durante el proceso y para facilitar la resuspensión de las plaquetas después de procesadas.

La cantidad de ACD-A empleado en todo el proceso es de 8 ml para el desechable de 60 ml (APC-60).

Durante el proceso de centrifugado, la sangre entera se separa automáticamente en células rojas y plasma.

El plasma junto con la parte superior de la capa de granulocitos (plaquetas y células blancas) y células madre y algunas células rojas se decantan automáticamente a la segunda cámara de proceso desechable.

Se separan entonces las plaquetas del plasma, lo que producen plasma pobre en plaquetas (PPP) y un concentrado de plaquetas y células madre. Es posible elegir el volumen total de plasma para la resuspensión de las plaquetas ó retirar una fracción de plasma pobre en plaquetas, lo que permite que las plaquetas se resuspendan en un volumen menor de plasma lo que resulta en un producto con mayor concentración de plaquetas (Navarro, 2010).

Tampoco existe consenso en cuanto a si las plaquetas deben ser activadas previamente o no antes de su aplicación y con cuál agonista. Algunos autores activan las plaquetas con calcio ó trombina, mientras que otros aplican plaquetas sin ser activadas previamente, argumentando que obtienen mejores resultados. Se ha documentado que la liberación de factores de crecimiento in vitro es mucho mayor si estas son activadas previamente. El uso de trombina bovina para activar las plaquetas, ha sido cuestionado por los riesgos potenciales de generar anticuerpos con reacción cruzada para trombina y otros factores de coagulación, por lo que aunque algunos la siguen utilizando, otros prefieren emplear cloruro de calcio como activador ideal.

Una vez anticoagulada la sangre y obtenido el plasma rico en plaquetas, éste debe ser utilizado en un lapso no mayor de 8 horas, tiempo que se ha demostrado que las plaquetas permanecen viables, los factores de crecimiento son bioactivados al momento de la degranulación y las plaquetas dañadas ó rotas no tienen la capacidad de continuar secretando estos factores bioactivados (Marx.2004).

Después de aplicado; se realiza una cura oclusiva destapándose a los 4-5 días y se continúa posteriormente con cuidado avanzado de heridas. Este procedimiento puede repetirse en el curso del tratamiento; está contraindicado en presencia de infección y/o colonización bacteriana.

Se ha demostrado que algunos factores como el TGF $\beta$  pueden ser liberados incluso en plaquetas en reposo; aunque al congelar el PRP sufren daño y pierden su viabilidad. Las concentraciones de factores de crecimiento también varían con el método empleado para obtener el PRP por ejemplo: en los protocolos en los que se usan activadores plaquetarios, se obtienen mayores concentraciones de factores de crecimiento y por lo tanto, las diferentes proporciones generan efectos diferentes. Por otro lado, algunos autores recomiendan la remoción de leucocitos, esto debido a que su presencia se ha asociado a efectos proinflamatorios con liberación de metaloproteasas que pueden dañar los tejidos e inhibir la reparación tisular (Carrillo, 2013).

Al aplicar el PRP la malla de fibrina facilita la adhesión celular y su estructura tridimensional proporciona la base para iniciar la angiogénesis, evento de gran importancia para la posterior reparación. La fibrina se reabsorbe después de haber servido como molde para la regeneración. Estos hechos cambian el entorno bioquímico de la lesión, influyendo en la

evolución clínica, observándose una disminución significativa de la inflamación y una aceleración de la fase de proliferación y reparación.

En las úlceras cutáneas de carácter crónico de distinta etiología tales como– diabéticas, vasculares, neuropáticas, de decúbito, postradioterapia – el PRP promueve la formación de tejido de granulación y acelera la curación. Se han referido tasas de eficacia del 76% a los 90 días, siendo las úlceras vasculares las que mejor responden y las relacionadas con la radioterapia las que tienen peor respuesta; similar a lo reportado por Monton en España donde evaluó el PRP en 151 pacientes con heridas crónicas (úlceras vasculares 60, pie diabético 32, radiopatías 18, postraumáticas 24, post reconstrucción mamaria 17) con mejoría del 72% (Montón, 2007).

En un estudio de la Doctora María Elizabeth Enríquez-Vega del Servicio de Angiología y Cirugía Vascular, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional La Raza de México incluyeron 24 pacientes diabéticos con úlceras isquémicas en miembros inferiores (13 hombres y 11 mujeres; con edades entre 30 y 85 años) con un área promedio de 70.13mm<sup>2</sup>, que fueron manejados con una sola infiltración perilesional de 20 a 30 ml de PRP y evaluados a las 8 semanas, encontrando una disminución del tamaño de la úlcera del 79.2% (p=0.000) (Enríquez, 2012).

El Dr. Natsuko Kakudo en Japón utilizó el PRP en 5 pacientes (3 hombres y 2 mujeres con edades entre 28 y 76 años) con úlceras crónicas de diversa etiología (2 úlceras diabéticas, 1 úlcera venosa, 1 úlcera por presión, 1 úlcera por quemadura) con un área promedio de 40.3 mm<sup>2</sup>, en quienes utiliza una aplicación de PRP con cicatrización completa a las 3.6 semanas en tres pacientes y en dos pacientes en la semana 11 (Kakudo, 2012).

En úlceras de origen infeccioso se encontró un trabajo realizado en pacientes con Enfermedad de Hansen, en Agua de Dios (Cundinamarca) donde incluyeron 36 úlceras tratadas

con tres aplicaciones PRP, con veinticinco días de diferencia entre cada aplicación, mostrando reducción de la extensión de la úlcera en el 75%, y disminución de la profundidad en el 94% (Méndez, 2012).

La aplicación local del PRP definitivamente ejerce un impacto positivo sobre la reparación tisular. Es preciso recordar que los factores de crecimiento solo son parte del conjunto de agentes que intervienen en el proceso, en el que también juegan un importante papel otras proteínas y mediadores biológicos participando a través de vías y mecanismos de estimulación en la dinámica celular de proliferación, quimiotáxis, regeneración y remodelación.

El PRP además de factores de crecimiento, contiene otras proteínas como fibronectina y ciertas proteínas adhesivas como la fibrina y la vitronectina, que desempeñan un papel importante como moléculas de adhesión, como matriz para el tejido conectivo y además favorecen la migración epitelial.

Además, existen referencias en la literatura sobre la capacidad antimicrobiana que podría tener el PRP, en parte por el efecto antiséptico de las proteasas contenidas en los gránulos alfa de las plaquetas y fundamentalmente por los leucocitos que contienen estos preparados, que liberan citocinas con dicha propiedad, fundamentalmente los granulocitos neutrófilos ricos en mieloperoxidasa. Las propias plaquetas liberan además una variedad de proteínas con propiedades microbidas "proteínas microbidas plaquetarias".

### Conclusiones

Basados en lo anterior se concluye que el empleo del PRP se encuentra avalado por un soporte científico importante y por una base conceptual sólida, pero carente de estudios a gran escala donde los beneficios de este tratamiento queden constatados de forma contundente. Es necesario realizar ensayos clínicos más profundos en los que se evalúe comparativamente esta terapia en cuando a su eficiencia cronológica y a su seguridad y como no se encuentran reportes en la literatura de su uso en pacientes con úlceras por leishmaniasis; se vió la necesidad de diseñar un ensayo clínico controlado y aleatorizado con el objeto de valorar la eficacia y seguridad del PRP en pacientes con úlceras por leishmaniasis cutánea.

Efectivamente el protocolo más adecuado para el manejo de úlceras por leishmaniasis cutánea es aquel que garantice seguridad al paciente; con la mayor concentración de plaquetas viables, mínima manipulación por el operador y que sea reproducible en todos los casos.

Ante las inconsistencias observadas en todos los estudios para la obtención del PRP y con el ánimo que sea un estudio reproducible se considera se debe utilizar un sistema que ofrezca una preparación segura, rápida y óptima de plaquetas en donde el error humano sea mínimo y se garantice la seguridad del paciente en términos de esterilidad y calidad del producto que estamos aplicando; dado que en Colombia existe representación de la firma Harvest Terumo por medio de Bio-service Colombia S.A, que es una empresa dedicada a importar y comercializar a nivel nacional, productos y equipos para bancos de sangre, reactivos clínicos e insumos dirigidos al sector salud; se recomienda emplear el Sistema Harvest PRP con SmartPrep que es uno de los dos aprobados por la F.D.A para la obtención de plasma rico en plaquetas y dado que todo tipo de úlceras cutáneas tienen similar fisiopatología no es arriesgado la aplicación de esta terapia.

Referencias

- Arboleda, I. (2010). *Calidad del plasma rico en plaquetas y sus factores de crecimiento. Estética*. 1(2). p. 36-47.
- Carrillo, P. (2013). Plasma rico en plaquetas. Herramienta versátil de la medicina regenerativa? *- Cirugía y Cirujanos*. 81. p. 74-82.
- Carter, M. J. (2011). Use of platelet rich plasma gel on wound healing: *Journal of plastic surgery*. p. 382-410.
- Cruz, C. (2014). *Centro de recuperación de leishmaniasis*. Estadística Primer Semestre. Duitama. Boyacá.
- Dermatología, S. A. (2008). Consenso sobre cicatrización de heridas. Buenos Aires. *Sociedad Argentina de Dermatología*. p.1-41
- Ejército, D. d. (2013). *Protocolo de manejo local de lesiones por leishmaniasis cutánea*. Bogotá.
- Ejército, L. D. (2010). *Costos de tratamiento e incapacidad de pacientes con leishmaniasis cutánea en el ejército 2005 – 2010*. Dirección de Sanidad del Ejército. Bogotá.
- Enríquez, M. (2012). Plasma rico en plaquetas para el tratamiento. *Revista Mexicana de Angiología*. Vol. 40. Abril – Junio. p. 51-56.
- Gonshor, A. (2002). Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: background and process. *The international Journal of Periodontics and restorative dentistry*. 22(6). p. 547-557.
- Harvest® PRP with SmartPrep® 2 System <sup>[21]</sup> revisado de <http://www.terumo-cvs.com/products/ProductDetail.aspx?groupId=1&familyID=4788&country=1>.
- Fecha de consulta 24 de Junio de 2014.

- Hernández, B. (2007). Plasma rico en plaquetas una revisión bibliográfica. *Avances en Periodoncia*. p. 39-52.
- Hospimédica,ex. (2012). *Obtenido de Sistema de concentración de plaquetas optimiza condiciones para la curación*. Revisado de [http://www.hospimedita.es/cuidados\\_criticos/articulos/2947742786/sistema\\_de\\_concentrion\\_de\\_plaquetas\\_optimiza\\_condiciones\\_para\\_la\\_curacion.html](http://www.hospimedita.es/cuidados_criticos/articulos/2947742786/sistema_de_concentrion_de_plaquetas_optimiza_condiciones_para_la_curacion.html). Fecha publicación 03 oct 2012. Consulta 15 junio 2014
- Institute, N. C. (2009). *Common terminology criteria for adverse events (CTCAE)*.
- Kakudo, N. (2012). The use of autologous platelet-rich plasma in the treatment of intractable skin ulcer: *A case series*. *Open Journal of regenerative medicine*, I(3). p. 29-32.
- Kevy, S. (2004). Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *The journal of extra-corporeal technology*, 36(1). p. 28-35.
- Lacci, K. M. (2010). Platelet-rich plasma: support for Its Use in. *Yale Journal of biology and medicine*, 83. p. 1-9.
- Marx, R. (1998). *Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts*. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 85(6). p. 638-646.
- Marx, R. (2004). Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal oral maxillofac surg*, 62(4). p. 489-496.
- Méndez, C. (2012). *Manejo de úlceras en miembros inferiores a personas con Hansen, utilizando plasma rico en plaquetas*. Trabajo de grado. Barcelona. España.
- Montón, J. (2007). *Clinical experience related to the use of autologous platelet rich plasma*. *Cirugía plástica Ibero-Latinoamericana*, 33(3). p. 155-162.
- Nacional, C. S. (2013). *Acuerdo No. 054 de 2013*. Diario Oficial. p. 21-27.

National Cancer Institute. *Manual Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE)*

revisado [http://evs.nci.nih.gov/ftpl/CTCAE/CTCAE\\_4.03\\_2010-06](http://evs.nci.nih.gov/ftpl/CTCAE/CTCAE_4.03_2010-06)

14 QuickReference\_5x7.pdf pag 1-196 Mayo 28 de 2009 Fecha de consulta Julio de

2104.

Navarro, R. (2008). Influencia del plasma rico en plaquetas en la osteointegración de la prótesis

de cadera sin cementar modelo zweymuller. *Canarias Médica y Quirúrgica*. España

Navarro, R. (2010). Uso del plasma rico en plaquetas en prótesis no cementadas de cadera:

resultados clínicos. *Canarias Médica y Quirúrgica*. España. p. 46-54.

Social, M. d. (2010). Guía para la atención integral del paciente con leishmaniasis. Bogotá.

*Terumo cardiovascular group*. (2014). *Obtenido de Harvest® PRP with smarprep® 2 system*.

Terumo, H. (2013). *Harvest PRP Terapia celular*. Plymouth: Harvest Technologies Corp.

Trujillo, M. A. F. (2008). Gel plaquetario, actualización de su uso en técnicas de regeneración.

*Seminario Médico*, 60(1). p. 25-42.

Varón, C. R. (2014). Plasma rico en plaquetas. *Revista de Hematología*. Cúcuta Colombia.

Vélez, I. D., R. S. (2010). *Manual diagnóstico y control de la leishmaniasis en Centroamérica*.

Medellín Colombia.

## Anexo 1

## Propuesta de protocolo

**TITULO DEL PROYECTO:** Eficacia y seguridad del uso del plasma rico en plaquetas para las úlceras producidas por *Leishmania sp.*

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Claudia Marcela Cruz C

**COINVESTIGADORES:** Martha Janeth Rozo R

Hernando Riaño Pérez

**ASESOR TEMÁTICO:** Luis Antonio Castro

**AREA Ó UNIDAD DE SERVICIO:** Dermatología

**E-MAIL:** [claudiamarcruz@gmail.com](mailto:claudiamarcruz@gmail.com)

**TÉLEFONO INVESTIGADOR PRINCIPAL:** 3152577730

**LINEA DE INVESTIGACIÓN:** Enfermedades tropicales

**DURACION PREVISTA DEL PROYECTO:** 12 meses

**Descripción del problema:**

La leishmaniasis es un problema creciente de salud pública a nivel mundial. En Colombia la situación es preocupante debido al incremento de casos de leishmaniasis cutánea que se ha registrado en los últimos años"; siendo de relevancia en el contexto de las Fuerzas Militares y en especial para el Ejército, donde se encuentra el mayor número de casos que año tras año generan disminución laboral del pie de fuerza por incapacidades prolongadas que aíslan al militar de sus actividades cotidianas en el área de operaciones.

Las Fuerzas Militares no cuentan con un tratamiento coadyuvante que acelere el proceso de cicatrización permitiendo la disminución de las incapacidades y la reincorporación temprana a la actividad laboral.

**Pregunta de investigación:** Es eficaz y seguro el uso de plasma rico en plaquetas para el tratamiento coadyuvante de úlceras por Leishmaniasis?

**Objetivos secundarios**

- Determinar tiempo de cicatrización de las úlceras.
- Determinar días de incapacidad.
- Determinar costos de tratamiento.
- Comparar los tiempos de cicatrización de las úlceras en los cuatro grupos de tratamiento.

**Diseño probable propuesto:**

Ensayo clínico controlado y aleatorizado con el objeto de valorar la eficacia y seguridad del PRP en pacientes con úlceras por leishmaniasis cutánea.

Se incluirá un total de pacientes: 160 distribuidos en cuatro grupos: cada uno con 40 pacientes:

**1. Manejo local con curación tradicional**

Lavado diario de la úlcera con Solución Salina Normal y gasa estéril.

Cubrir con gasa impregnada en crema antibiótica (ácido fusídico 2%).

Fijar con adhesivo.

**2. Manejo con productos de alta tecnología.**

Lavar con solución salina a presión.

Frotar con dedo enguantado el lecho de la herida.

Secar con gasa la piel perilesional.

Aplicar capa de gel con ácido bórico e hidantoína sobre el lecho de la lesión.

Cubrir con apósito de hidrofibra con plata iónica al 1.2% y gasa estéril.

Fijar con adhesivo.

**3. Manejo con plasma rico en plaquetas con una aplicación el día 0, es decir el día que comienzan el tratamiento sistémico.**

Explicación al paciente del procedimiento.

La enfermera ó el médico que va a realizar el procedimiento debe realizar lavado quirúrgico de manos, colocación de ropa quirúrgica estéril, gorro, gafas, tapabocas y guantes estériles; guardando en todo momento las medidas de bioseguridad.

La auxiliar de enfermería realiza la apertura del kit frente al paciente, indicándole la esterilidad de los productos a utilizar y explicando en qué consiste cada elemento.

Una vez se destapa el kit, se procede a envasar el anticoagulante ACD colocando 2 cc en la cámara donde se va a depositar la sangre total y 6cc en la jeringa con la que se va a realizar la recolección de 54 cc de sangre venosa.

Previa limpieza con alcohol antiséptico se procede a obtener 54 cc de sangre en la jeringa correspondiente.

Una vez obtenida la sangre venosa se deposita en la cámara destinada para tal fin y se lleva a la centrífuga teniendo precaución de colocar el sistema de calibración.

Se cierra la centrífuga y se pone a funcionar. En este momento se realiza un primer proceso que dura tres minutos, donde se obtiene el Plasma Pobre en Plaquetas y un segundo ciclo que dura once minutos, donde se obtiene el Plasma Rico en Plaquetas.

Con una jeringa se extrae el PPP y con otra el PRP.

Se realiza la activación del PRP con cloruro de calcio al 10% 0.05ml por cada 0.95 ml de PRP, para obtener jeringas de 1cc completamente llenas. (Varón, 2014).

Mientras se está obteniendo el PRP, la auxiliar de enfermería realiza lavado de la úlcera con Solución Salina Normal 0.9% a presión; frote con dedo enguantado el lecho de la herida y secado con gasa de la piel perilesional.

Aplicar anestésico lidocaína al 1% sin epinefrina en el borde y en el lecho de la úlcera.

Verificar anestesia

Aplicar el PRP intralesional en el borde y en el lecho de la úlcera.

Cubrir con gasa vaselinada, gasa seca estéril y adhesivo.

Retirar curación al 5º día y continuar manejo convencional.

4. **Úlceras manejadas con plasma rico en plaquetas con dos aplicaciones:** el día 0 y el día 10 de tratamiento sistémico.

Se realiza el mismo procedimiento indicado anteriormente en los días descritos.

**Criterios de Inclusión:**

1. Pacientes mayores de 18 años.
2. Pacientes con primer episodio de leishmaniasis cutánea confirmada por frotis directo, biopsia, cultivo ó PCR.
3. Presentación clínica en forma de úlcera.
4. Pacientes que presenten entre 1 a 3 lesiones con un diámetro aproximado desde 0.5 a 3cm.
5. Pacientes con tiempo de evolución menor de 90 días.
6. Con cuadro hemático, transaminasas, amilasa, parcial de orina, creatinina y EKG normales.
7. Pacientes sin contraindicación para utilizar antimonio de meglumina.
8. Pacientes que deseen participar voluntariamente en el estudio y que estén en capacidad de firmar consentimiento informado.



**Criterios de Exclusión:**

1. Pacientes menores de 18 años.
2. Pacientes con úlceras de etiología diferente a Leishmaniasis.
3. Presentaciones clínicas diferentes a úlcera: pápula, nódulo, placa.
4. Pacientes con más de tres lesiones.
5. Tiempo de evolución mayor a 90 días.
6. Alteraciones en el cuadro hemático, transaminasas, amilasa, parcial de orina, creatinina ó EKG.

- Hb < 10g.

- Creatinina sérica por encima de los niveles normales.

- ALT / AST 3 veces por encima del rango normal.

- Amilasa por encima del valor normal.

\* Los valores normales los indica el laboratorio local.

7. Pacientes con contraindicación médica para utilizar antimonio de meglumina.
8. Pacientes que no deseen participar voluntariamente del estudio.

**Determinación de eficacia:**

La eficacia se evaluará de acuerdo al porcentaje de cicatrización con respecto al área inicial. Se determinará en cada caso para los días 5, 10, 15, 20, 25, 35 y 45 después de terminar el tratamiento sistémico. Para facilitar el cálculo es mejor asimilar la lesión a un rectángulo, (tomando las dos medidas mayores de la lesión), y se realiza una multiplicación (área del rectángulo = base por altura, es decir un diámetro por el otro) (Social, 2010).

**Eventos adversos:**

Se realizarán evaluación diaria de seguridad de los Eventos adversos locales y sistémicos, utilizando la CTCAE (Criterios de Terminología Común para Eventos Adversos del Instituto Nacional del Cáncer. Se debe utilizar la Versión 4.0 para evaluar y clasificar la severidad del Evento Adverso, incluyendo anormalidades de laboratorio que se consideren clínicamente significativas (Institute, 2009).

Los Eventos Adversos serán evaluados por una enfermera, un médico o personal médicamente capacitado. Si se reporta que un evento adverso requiere atención médica, ello debe ser reportado inmediatamente a un médico del estudio. El tipo de Evento Adverso, la severidad del Evento Adverso y la relación del Evento Adverso con los tratamientos locales serán registrados en la Historia Clínica y en el formato diseñado para tal fin.

Si el Evento no está incluido en los lineamientos, se deben utilizar las siguientes definiciones para calificar la severidad:

- Leve Grado 1: Asintomático o síntomas leves; solamente observaciones clínicas ó diagnósticas.
- Moderado Grado 2: Se indica intervención moderada, mínima local y no invasiva.
- Severo Grado 3: Médicamente significativo, pero sin amenaza inmediata contra la vida; se indica hospitalización o ampliación de la hospitalización.
- Grado 4: Amenazas contra la vida; se indica intervención urgente.
- Grado 5: Muerte relacionada con Evento Adverso.

**Reacciones Locales:** Incluyen eritema/enrojecimiento, hinchazón/edema y vesículas; se clasifican de acuerdo con los siguientes criterios:

*Grado 1:* Visiblemente presente pero no asociado a otros síntomas.

**Grado 2:** Visiblemente presente; área grande alrededor del sitio de lesión y asociado a otros síntomas como picazón o dolor. Puede ser requerida la intervención médica.

**Grado 3:** Síntomas severos que requieren intervención médica.

**Sitio del estudio:** El estudio se llevará a cabo en las unidades militares que manejan pacientes con Leishmaniasis cutánea como: Batallón de Sanidad, Hospital Militar de Medellín, Hospital Militar de Oriente, BASER17 y Centro de Recuperación de Leishmaniasis.

**Tratamiento para leishmaniasis:** Todos los pacientes van a recibir el tratamiento de primera elección propuesto por el ministerio de protección social y por las guías de manejo de la Dirección General de Sanidad Militar y Dirección de Sanidad Ejército siguiendo el protocolo establecido para tal fin.

**Consentimiento informado:** Explicación individual del protocolo de investigación y toma del consentimiento informado por un médico no militar, que incluya la firma de dos testigos.

Entregando copia del consentimiento al sujeto del estudio.(ANEXO 2)

**Visita de inclusión de pacientes al estudio:** Considerada como el día "0", durante esta visita se realizará valoración clínica que incluye historia clínica (motivo de consulta, enfermedad actual, antecedentes, examen físico que incluya signos vitales, peso, identificación de las lesiones, localización, medidas de induración y úlcera, registro fotográfico, revisión de pruebas de laboratorio, elaboración de fórmula médica), elaboración de la ficha epidemiológica, reporte al sivegila. Explicación del protocolo y toma del consentimiento informado. Si el sujeto acepta participar en el estudio cumple con los criterios de inclusión será aleatorizado el tipo de tratamiento local que recibirá.

Si durante esta valoración se encuentran signos de infección como eritema, rubor, dolor, ó secreción purulenta se procederá a tomar muestra para cultivo y antibiograma y se dará

tratamiento de acuerdo a resultados durante 7 días cuando se realizará nueva valoración médica para determinar si puede proseguir en el estudio.

**VISITA 1.** Corresponde al día en que inicia el tratamiento sistémico.

1. Medición de lesiones y determinación del área de la(s) úlcera(s).
2. Registro fotográfico.
3. Toma de signos vitales.
4. Apertura formato de eventos adversos.
5. Administración de medicamento de acuerdo al protocolo.
6. Manejo local de la úlcera de acuerdo a aleatorización.

**Solicitud de laboratorios y EKG:** Se realizaran los ordenados para protocolo con antimoniato de meglumina. Antes del ingreso al estudio, al día 10 y al día 25. Si a mitad de tratamiento se observan alteraciones, el médico del programa puede solicitar los laboratorios pertinentes de control para decidir cuándo se reinicia con el medicamento. Sin embargo el tratamiento local de la úlcera continúa sin cambios.

**Mitad de tratamiento.** Corresponde al día 10 del mismo. Se realizará evolución médica, revisión de paraclínicos, y del formato de eventos adversos para el antimoniato de meglumina como para el tratamiento local de la úlcera.

De acuerdo a criterio médico se definirá suspensión parcial del tratamiento sistémico por alteraciones en los paraclínicos y se solicitarán controles necesarios para dar continuidad con el mismo. El tratamiento local continuará sin cambios.

**Criterios de curación:**

1. Aplanamiento del borde activo de la úlcera.
2. Cicatrización.

3. Desaparición de la induración de la base.

4. Desaparición de la linfangitis en caso de que haya ocurrido.

Si el día 45 no se cumple con los criterios de curación, se procederá con toma de frotis para determinar presencia de amastigotes de leishmania y reiniciar tratamiento.

### **Equipo para obtención de PRP.**

La empresa Bio-service Colombia S.A apoya el estudio con el préstamo de las centrífugas Harvest PRP en apoyo tecnológico. Se utilizará el Kit desechable AP-60, que garantiza 7-10ml de PRP con 60ml de sangre total, que tiene un costo de \$619.000 (Seiscientos diecinueve mil pesos). Este paquete consta de kit de punción, mariposa 19G, jeringa para anticoagulante de 1-3ml, jeringa para extracción de sangre 1-60ml, anticoagulante ACD-A (30ml), Capacho 1-60ml, jeringa para plasma con cánula sin filo y separador (1-30ml), jeringa para concentrado de plaquetas con cánula sin filo (1-20ml), jeringa 10ml (1 repuesto), cánula plástica sin filo 1, recipientes plásticos estériles (3), set de etiquetas de pacientes (1).

El equipo consiste de un centrifugador controlado por un microprocesador con capacidad decantadora automática y complementado con un kit estéril desechable para el procesado de la muestra (sangre total).

La tecnología del sistema proporciona un proceso reproducible para la preparación de PRP con el uso de un pequeño volumen de sangre entera (60ml).

El sistema utiliza ACD-A (Anticoagulante Adenina Citrato Dextrosa) para proteger las plaquetas durante el proceso y para facilitar la resuspensión de las plaquetas después de procesadas.

La cantidad de ACD-A empleado en todo el proceso es de 8 ml para el desechable de 60 ml (APC-60).

Durante el proceso de centrifugado, la sangre entera se separa automáticamente en células rojas y plasma.

El plasma junto con la parte superior de la capa de granulocitos (plaquetas y células blancas) y células madre y algunas células rojas se decantan automáticamente a la segunda cámara de proceso desechable.

Se separan entonces las plaquetas del plasma, lo que producen plasma pobre en plaquetas (PPP) y un concentrado de plaquetas y células madre. Es posible elegir el volumen total de plasma para la resuspensión de las plaquetas ó retirar una fracción de plasma pobre en plaquetas, lo que permite que las plaquetas se resuspendan en un volumen menor de plasma lo que resulta en un producto con mayor concentración de plaquetas (Navarro, 2010).

**Análisis y publicación de resultados:** Una vez se culmine el proceso con los 160 pacientes se procederá a realizar el análisis y la publicación de los resultados.

**Presentación del protocolo:** Este protocolo se presentará ante la Dirección de Sanidad Ejército para que a través de la Subdirección Científica, se efectúe una revisión del mismo para concepto sustentado y remisión a la Dirección General de Sanidad Militar para que se evalúe la viabilidad, pertinencia y conveniencia, de acuerdo a lo estipulado en el Artículo 6 del Acuerdo 054 de 2013, "Por el cual se fijan políticas en materia de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico en el Sistema de Salud de las Fuerzas Militares y de la Policía Nacional"; en caso de ser aprobado, se remitirá al Comité Independiente de Ética en Investigación del Hospital Militar Central para su respectiva evaluación (Nacional, 2013).

Anexo 2.

Informe de consentimiento informado

**FUERZAS MILITARES DE COLOMBIA**

**DIRECCION GENERAL DE SANIDAD MILITAR**

**DIRECCIÓN DE SANIDAD EJÉRCITO**

Evaluación de la eficacia y seguridad del plasma rico en plaquetas como tratamiento coadyuvante de las úlceras por leishmaniasis cutánea.

**Investigadores Principales:**

My Claudia Marcela Cruz Carranza.

My Martha Janneth Rozo Ramos.

My Hernando Riaño Pérez-

**Dirección de Sanidad del Ejército:** Carrera 7. No. 52-48. Bogotá.

Teléfonos: 3152577730 - 3104601027 - 3112871448.

**Introducción**

"La leishmaniasis es un problema creciente de salud pública a nivel mundial. En Colombia la situación es preocupante debido al incremento de casos de leishmaniasis cutánea que se ha registrado en los últimos años"; siendo de relevancia en el contexto de las Fuerzas Militares y en especial para el Ejército, donde se encuentra el mayor número de casos que año tras año generan disminución laboral del pie de fuerza por incapacidades prolongadas que aíslan al militar de sus actividades cotidianas en el área de operaciones.

En la actualidad para el manejo local de las úlceras por Leishmaniasis cutánea se puede utilizar la curación tradicional ó los productos con alta tecnología asociados al tratamiento

farmacológico, (Ejército D. d., 2013); pero las Fuerzas Militares no cuentan con un tratamiento coadyuvante de menor costo y que acelere el proceso de cicatrización de las mismas permitiendo la disminución de las incapacidades y la reincorporación temprana a la actividad laboral.

El Plasma Rico en Plaquetas Autólogo tiene factores de crecimiento que aceleran el proceso de reepitelización de los tejidos. La determinación de la efectividad en la aplicación del concentrado de plaquetas, se ha comprobado en otro tipo de úlceras, sin embargo, en las úlceras producidas por leishmaniasis aún no existe un protocolo de aplicación, a pesar de que podría compartir los mismos mecanismos de acción acelerando el proceso de cicatrización y porque no llegando a disminuir la dosis total del medicamento estándar; limitando los eventos adversos, acortando los días de recuperación y permitiendo la reincorporación temprana a la vida laboral manteniendo el pie de fuerza de las fuerzas militares.

Los investigadores, en cabeza de la Dirección General de Sanidad Militar y la Dirección de Sanidad del Ejército, están trabajando en la evaluación de la eficacia y la seguridad del Plasma Rico en Plaquetas, como tratamiento asociado al antimonio de meglumina ó Glucantime; que es un producto autólogo es decir proveniente de la sangre de cada individuo, para aplicación en las úlceras de leishmaniasis con el fin de acelerar la cicatrización.

**¿Cuál es el propósito de este informe de consentimiento?**

Este informe de consentimiento se da a usted para ayudarle a entender las características, derechos y riesgos de participar en el estudio clínico sobre el plasma rico en plaquetas como tratamiento coadyuvante, para el tratamiento de la leishmaniasis cutánea, de tal modo que usted pueda decidir voluntariamente si desea participar o no. Si luego de leer este documento tiene alguna duda, pida al médico o al personal del estudio que le explique. Ellos le proporcionarán toda la información que necesite para que usted tenga un buen entendimiento del estudio.

### ¿Cuál es el objetivo de este estudio clínico?

Este es un estudio clínico para evaluar la seguridad, y la eficacia del plasma rico en plaquetas en el manejo de úlceras por leishmaniasis cutánea tratadas simultáneamente con antimonio de meglumina de acuerdo a los protocolos emitidos por el Ministerio de la Protección Social – Dirección General de Sanidad Militar y Dirección de Sanidad Ejército. Para tal efecto hemos decidido realizar una comparación con los diferentes productos que se utilizan para el manejo local de la úlcera: curación tradicional ( con solución salina, crema antibiótica, gasa y adhesivo), productos con alta tecnología (gel con ácido bórico e hidantoína sobre el lecho de la lesión, apósito de hidrofibra con plata iónica al 1.2% , cubrir con gasa estéril y adhesivo) y aplicación del plasma rico en plaquetas en el borde y en la base de la úlcera una vez ó dos veces durante el tratamiento. Dicha evaluación, se hará en adultos mayores de 18 años con diagnóstico comprobado de leishmaniasis cutánea.

El estudio clínico es una investigación y usted participará en él solamente si así lo desea, espontáneamente y con libre voluntad. Si usted no desea participar, no habrá ninguna consecuencia para usted y recibirá el tratamiento establecido para su enfermedad. En el caso que usted decida participar en el estudio, al azar se le asignará un esquema de tratamiento local de la úlcera ya sea tratamiento tradicional, con productos de alta tecnología, con plasma rico en plaquetas al inicio del tratamiento ó con plasma rico en plaquetas al inicio y a la mitad del tratamiento. Usted puede llevar a su casa una copia sin firmar de este documento para pensarlo y discutirlo con su familia antes de decidir participar.

Curación tradicional se hará diariamente:

1. Lavado de la úlcera con Solución salina Normal y gasa estéril

2. Cubrir con gasa impregnada en crema antibiótica (Ácido bórico 2%)

### ¿Qué implica el estudio clínico?

Durante su primera visita, el médico lo examinará para determinar si usted puede participar en el estudio. Él revisará su historia clínica y le realizará un examen físico donde se incluirá la medida de las úlceras y el registro fotográfico de las mismas.

Después de esta visita, si usted es un candidato apropiado (elegible) y está de acuerdo en participar en el estudio, será programado para recibir uno de los tratamientos locales explicados previamente.

El día de inicio del tratamiento, se considerará como la visita 1. Aquí se tomarán fotografías de las lesiones con el fin de tener un archivo de la evolución de las mismas; este mismo día usted recibirá un formato donde deberá registrar diariamente cualquier cambio que experimente con el tratamiento local instaurado. El personal del estudio le dará las instrucciones de cómo diligenciar el formato. Este mismo día usted inicia el tratamiento convencional con glucantime y comienza a recibir el tratamiento local de acuerdo con el grupo en que fue aleatorizado.

El personal de enfermería realizará diariamente la toma de signos vitales y le hará una serie de preguntas para establecer si está presentando algún tipo de reacción con el medicamento ó con el tratamiento local de la úlcera. Una enfermera le aplicará diariamente el tratamiento convencional (glucantime) de acuerdo a la dosis ordenada por el médico tratante hasta que complete con los días de tratamiento ordenados. De igual forma el personal de enfermería realizará el manejo local de la úlcera de acuerdo con el grupo en que se encuentre:

#### **Curación tradicional se hará diariamente:**

1. Lavado de la úlcera con Solución Salina Normal y gasa estéril.
2. Cubrir con gasa impregnada en crema antibiótica (ácido fusídico 2%).

3. Fijar con adhesivo.

**Curación con productos de alta tecnología (cada cinco días):**

1. Lavar con solución salina a presión.

2. Frotar con dedo enguantado el lecho de la herida.

3. Secar con gasa la piel perilesional.

4. Aplique capa de gel con ácido bórico e hidantoína sobre el lecho de la lesión.

5. Cubrir con apósito de hidrofibra con plata iónica al 1.2% y gasa estéril.

5. Fijar con adhesivo.

**Curación con plasma rico en plaquetas:**

1. Explicación al paciente del procedimiento.

2. Previa limpieza con alcohol antiséptico y colocación de torniquete se procede a obtener 54 cc de sangre en la jeringa correspondiente que posteriormente se deposita en una cámara desechable estéril que se lleva a la centrifuga, donde se va a obtener el plasma rico en plaquetas que posteriormente es activado con un medicamento denominado cloruro de calcio al 10%.

3. Mientras se está obteniendo el PRP, la auxiliar de enfermería le realizará lavado de la úlcera con Solución Salina Normal 0.9% a presión; frote con dedo enguantado el lecho de la herida y secado con gasa de la piel perilesional.

4. Posteriormente se le aplicará anestésico lidocaína al 1% sin epinefrina en el borde y en el lecho de la úlcera y una vez se halla anestesiado completamente se procederá a aplicarle el plasma rico en plaquetas en el borde y en el lecho ó base de la úlcera.

5. Se cubre con gasa vaselinada, gasa seca estéril y adhesivo.

6. Esta curación debe dejarla por espacio de cinco días y a partir de este día se hará curación tradicional hasta el fin del tratamiento.

**Curación con plasma rico en plaquetas día 0 y día 10:** Si usted quedó incluido en este grupo se hará el procedimiento anterior y al día 10 se repetirá la aplicación de plasma rico en plaquetas. Nuevamente se dejará por cinco días y posteriormente se hará curación tradicional diariamente hasta el fin del tratamiento.

Las siguientes visitas se harán el día 5,10, 15 20, 25, 30,35, 40 y 45 después de iniciado el tratamiento. Al igual que en la visita 1 se evaluará su condición, mediante un examen físico, un cuestionario médico y evaluación de la lesión con medidas y registro fotográfico. Para la visita del día 10 y del día 25 debe presentar los exámenes de laboratorio y EKG establecidos por protocolo.

Según el esquema propuesto serán 20 días de tratamiento local de la úlcera que coinciden con el último día de tratamiento sistémico; pero usted debe asistir a cinco controles adicionales después de haber terminado las curaciones, así: el día 25, el día 30, el día 35, el día 40 y el día 45. Durante estas visitas el médico evaluará su condición, hará seguimiento a la evolución de su(s) lesión(s), les tomará fotografías a las mismas y de ser necesario le ordenará análisis de laboratorio.

Si durante el transcurso del estudio usted presenta alguna reacción adversa, esta será tratada con la medicación apropiada.

El número total de participantes en este estudio clínico será 160, distribuidos de la siguiente manera:

Grupo 1: 40 pacientes con curación tradicional

Grupo 2: 40 pacientes con manejo local con productos con alta tecnología.

Grupo 3: 40 pacientes con PRP aplicado una sola vez.

Grupo 4: 40 pacientes con PRP aplicado en dos oportunidades (día 0 y el día 10).

**Monitoreo del estudio:** El estudio será monitoreado tanto por un Monitor clínico que será asignado por la Dirección General de Sanidad Militar quien revisa que el protocolo se esté ejecutando fielmente a lo aprobado por el Comité de Bioética y por un Comité de Revisión Clínica, conocido como el Comité de Monitoreo de Seguridad y Datos que será asignado por la Dirección de Sanidad del Ejército quienes revisarán periódicamente la información del estudio para verificar su seguridad; prestará atención a las reacciones adversas y podrá decidir si el estudio continúa o no.

**¿Cuáles son los posibles riesgos?**

Nadie puede garantizar que la terapia con plasma rico en plaquetas sea totalmente segura. Sin embargo, en evaluaciones clínicas que se han hecho en pacientes con otro tipo de úlceras no se ha presentado ningún problema local ó sistémico.

**Riesgos desconocidos:** Podría haber efectos secundarios que son desconocidos a la fecha.

**¿Cuáles son los posibles beneficios de participar en el estudio clínico?**

El aporte que usted hace al participar en este estudio radica en la adquisición de conocimiento para la aplicación de nuevos tratamientos en el manejo local de las úlceras por leishmaniasis. La Leishmaniasis es una enfermedad muy frecuente en el mundo y en nuestro país. Además indirectamente puede afectar el desarrollo socio-económico en nuestros países por la discapacidad que produce en las personas enfermas. Su participación en este estudio es una generosa contribución al desarrollo de la ciencia y a la mejoría de la salud de otros pacientes.

**Financiamiento para la investigación:** El presente proyecto es financiado por la Dirección de Sanidad del Ejército.

**¿Tendrá el participante algún gasto financiero?**

Todas las visitas médicas y exámenes de laboratorio le serán proporcionados gratuitamente.

**Compensación por daños:** En caso que usted sea lesionado o se enferme como resultado directo de su participación en este estudio, esto es, que en un momento dado usted presente daños o deterioros físicos tales como molestias, infecciones en las heridas tratadas deberá contactar inmediatamente al médico del estudio en el servicio de salud donde lo están atendiendo servicio, o llamar el número de teléfono que figura en este documento y le será proporcionado el tratamiento médico adecuado que sea requerido. Usted no está renunciando a ninguno de sus derechos legales al firmar este documento.

**Confidencialidad del participante:** Los registros de los participantes del estudio y la información médica serán mantenidos en forma confidencial. Usted será identificado por un número de código del estudio que será conocido solamente por usted y el personal del estudio. Toda la información relacionada con su participación en el estudio será identificada por este número y no por su nombre. Su nombre nunca será utilizado en ninguna publicación. Nadie fuera del equipo de estudio tendrá acceso a su información sin su autorización escrita.

Los resultados del estudio serán reportados por los médicos del estudio a los investigadores autorizados, a los miembros del Comité de Bioética del Hospital Militar Central, al personal de la Dirección de Sanidad del Ejército ó a la Dirección General de Sanidad Militar.

La confidencialidad absoluta no se puede garantizar debido a la necesidad de proporcionar la información a estas entidades.

Se realiza en Bogotá, Colombia.

**¿Puedo elegir no participar en el estudio clínico?**

Usted tiene el derecho de elegir si desea participar o no en el estudio clínico. El elegir no participar no tendrá ninguna consecuencia para usted. Usted puede dejar el estudio en cualquier momento. Si usted desea dejar el estudio, el médico a cargo debe ser informado inmediatamente. Su decisión no acarreará ninguna consecuencia o sanción. Su participación en este estudio puede ser suspendida en cualquier momento por el médico del estudio, sin solicitar su consentimiento en caso que:

- El médico del estudio piensa que es mejor para su salud o seguridad.
- Usted no ha seguido las instrucciones del estudio; o por Razones administrativas.

**¿Con quién usted puede hablar si tiene una pregunta o un problema?**

Usted tiene el derecho de hacer cualquier pregunta en cualquier momento acerca del tratamiento, reacciones adversas, y cualquier cosa que usted desee saber sobre el estudio clínico, Si tiene alguna inquietud comuníquese con: Doctora. Claudia Marcela Cruz Carranza al teléfono: 3152577730 , Doctora Martha Janneth Rozo Ramos al teléfono: 3104601027, Doctor Hernando Riaño Pérez al teléfono 3112871448 en horas diurnas. Adicionalmente, usted puede consultar en \_\_\_\_\_, dirección: \_\_\_\_\_, teléfono \_\_\_\_\_ en el municipio \_\_\_\_\_ del departamento del \_\_\_\_\_ durante las 24 horas.

**Preguntas acerca de sus derechos como sujeto de investigación:** Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como paciente o alguna inquietud antes, durante o después de la investigación, usted puede comunicarse con el Comité Independiente de Ética en Investigación del Hospital Militar Central, Transversal 3a No. 49-00 Teléfono (571) 348 6868 Extensión 5310 o 5363 en Bogotá, Colombia.

Nombre del Investigador Principal: Doctora Claudia Marcela Cruz Carranza

No firme este documento de consentimiento a menos que usted haya tenido la oportunidad de hacer preguntas y haber recibido respuestas satisfactorias a todas sus preguntas.

Si usted está de acuerdo en participar en este estudio, usted recibirá una copia firmada y fechada de este documento de consentimiento para sus archivos.

**Responsabilidad del sujeto de estudio:** Su responsabilidad es estar disponible durante todo el estudio clínico y seguir las instrucciones de los médicos a cargo.

**Nuevos hallazgos:** Usted será informado de cualquier novedad que aparezca durante el curso del estudio y que pueda hacerle cambiar su decisión de participar en el mismo.

**Consentimiento del sujeto del estudio:** He leído y escuchado satisfactoriamente las explicaciones sobre este estudio y he tenido la oportunidad de hacer preguntas. Estoy enterado de la incomodidad, riesgos y beneficios potenciales de participar en este estudio clínico y sé que puedo retirarme de él en cualquier momento.

Autorizo el uso de mis registros médicos para los propósitos de la investigación, por la Dirección de Sanidad del Ejército, Dirección General de Sanidad Militar y el Comité Independiente de Ética en Investigación del Hospital Militar Central.

Firmando este documento de consentimiento, no he renunciado a ninguno de los derechos legales que yo tendría de otra manera como sujeto en un estudio de investigación.

Yo estoy de acuerdo en participar en este estudio.

Número de Identificación de Participante para este Estudio: \_\_\_ \_\_\_ \_\_\_

Consentimiento para participación en el estudio.

Evaluación de la eficacia y seguridad del plasma rico en plaquetas como tratamiento coadyuvante de las úlceras por leishmaniasis cutánea.

Nombre del Investigador Principal: Doctora Claudia Marcela Cruz Carranza.

PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE ULCERAS POR LEISHMANIASIS

NOTA: Escriba sus iniciales en las casillas correspondientes, en caso de estar de acuerdo con lo estipulado.

	INICIALES
1. Confirmando que he leído y entiendo la hoja informativa para el estudio que se describió anteriormente; y se me dio la oportunidad de hacer las preguntas necesarias, las cuales me respondieron totalmente.	
2. Entiendo que mi participación es voluntaria y tengo libertad para retirarme en cualquier momento, sin dar ninguna explicación. Mi cuidado médico o derechos legales no serán afectados si decido retirarme.	
3. Entiendo que cualquiera de mis registros médicos pueden ser verificados por personas calificadas del PECET o por autoridades reguladoras. Autorizo a estas personas para que tengan acceso a mis registros, cuando sea necesario para la realización de este estudio.	
4. Discutieron conmigo los respectivos temas de compensaciones.	
5. Estoy de acuerdo en participar en el estudio.	

Para poder participar en el estudio, usted debe estar de acuerdo con los cinco numerales anteriores.

Documento de Identidad

Fecha

Municipio

**NOTA: ESTA SECCIÓN DEBE SER DILIGENCIADA SÓLO POR EL VOLUNTARIO**

_____ Nombre del Voluntario/a			_____ Firma del Voluntario/a		
_____ Documento de Identidad			_____ Fecha		_____ Hora
_____ Municipio					

**NOTA: ESTA SECCIÓN DEBE SER DILIGENCIADA SÓLO POR EL REPRESENTANTE LEGAL (si aplica)**

_____ Nombre del Representante legal			_____ Firma del Representante Legal		
en letra imprenta					
_____ Documento de Identidad			_____ Fecha		_____ Municipio

PROTOCOLO PARA EL MANEJO DE ULCERAS POR LEISHMANIASIS

**NOTA: ESTA SECCIÓN DEBE SER DILIGENCIADA SÓLO POR EL TESTIGO**

Con mi firma certifico que estuve presente durante la discusión del Formato de Consentimiento, todas las dudas fueron resueltas satisfactoriamente y la participación de esta persona es absolutamente voluntaria.

<hr/>	
Nombre del Testigo	Firma del Testigo
<hr/>	<hr/>
Fecha	Documento de Identidad
<hr/>	<hr/>
Dirección	Relación con el voluntario/a
<hr/>	<hr/>
Municipio	Teléfono
<hr/>	<hr/>

Nombre del Investigador que diligenció el Consentimiento

Firma del Investigador que diligenció el Consentimiento

Copia para voluntarios, 1 copia para conservar en las oficinas médicas

**NOTA: ESTA SECCIÓN DEBE SER DILIGENCIADA SÓLO POR EL TESTIGO**

Con mi firma certifico que estuve presente durante la discusión del Formato de Consentimiento, todas las dudas fueron resueltas satisfactoriamente y la participación de esta persona es absolutamente voluntaria.

Nombre del Testigo	Firma del Testigo
Fecha	Documento de Identidad
Dirección	Relación con el voluntario/a
Municipio	Teléfono

**Persona que conduce el consentimiento.** A lo mejor de mi conocimiento, el participante entiende los procedimientos, riesgos y beneficios implicados en participar en este estudio.

Nombre del Investigador en letra imprenta	Fecha
---	-------

Firma del Investigador que Administra el Consentimiento Municipio

1 copia para voluntarios, 1 copia para conservar en los registros médicos.

BIBLIOTECA CENTRAL DE LAS FF. MM.  
"TOMAS RUEDA VARGAS"



201000135