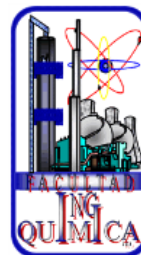




BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA



FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

COLEGIO DE INGENIERÍA EN MATERIALES

***Propuesta de un tratamiento para regeneración de piel
mediante el uso de Plasma Rico en Plaquetas y Quitosano***

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

Licenciado en Ingeniería en Materiales

PRESENTA:

Pamela Salvador Ramos

DIRECTOR DE TESIS:

Dra. Mirna López Fuentes

PUEBLA, PUE.

MARZO 2019



BUAP

Oficio No. FIQ/AC/130 /2019
Asunto: Registro de Tema de Tesis

**C. SALVADOR RAMOS PAMELA
PASANTE DE LA LICENCIATURA
EN INGENIERÍA EN MATERIALES
P R E S E N T E:**

Por medio del presente me permito informarle, de la aprobación del Registro de Tema de Tesis de la Licenciatura en Ingeniería en Materiales cuyo título es el siguiente:

“PROPUESTA DE UN TRATAMIENTO PARA REGENERACIÓN DE PIEL MEDIANTE EL USO DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y QUITOSANO”

Con el siguiente contenido:

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1	ANTECEDENTES
CAPÍTULO 2	METODOLOGÍA
CAPÍTULO 3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**CONCLUSIONES
BIBLIOGRAFÍA**

Directora de Tesis: Dra. Mirna López Fuentes

Lo cual me permito comunicarle para su conocimiento y fines consiguientes aclarando que la vigencia de este tema será **ÚNICAMENTE POR UN AÑO.**

A T E N T A M E N T E
“Pensar Bien, Para Vivir Mejor”
H. Puebla de Z., 11 de febrero del 2019


M.I.C. MA. GPE. TITA VAZQUEZ E. DE LOS MONTEROS
SECRETARIA ACADÉMICA



C.c.p Directora de Tesis: Dra. Mirna López Fuentes
C.c.p. Minutario Facultad de Ingeniería Química

Facultad
de Ingeniería
Química

Av. San Claudio s/n, Col. San
Manuel, Ciudad Universitaria,
Puebla, Pue. C.P. 72590
01 (222) 229 55 00
Exts. 7250 y 7251

Agradecimientos

Por la culminación de esta tesis, agradezco a mi asesora, Dra. Mirna López Fuentes, quien se tomó el arduo trabajo de transmitirme sus conocimientos, su comprensión y su ayuda en todo momento que lo requerí, especialmente en los temas y seguimiento de este trabajo.

Respetuosamente, agradezco a mis sinodales: Dra. Ma. del Consuelo Mendoza Herrera y Dr. José Antonio Rivera Márquez, por permitirme compartirles los hallazgos de esta investigación.

Ahora que ha finalizado este proyecto, tengo sólo palabras de gratitud hacia los pilares de mi vida, las personas que me han enseñado con su ejemplo, que el trabajo, el esfuerzo y la pasión, son el comienzo de cualquier sueño por cumplir, a mis padres: Adelaida y José Antonio. Para ustedes este trabajo como muestra del orgullo que siento por ser su hija; mi eterna admiración e incondicional apoyo.

A mis hermanas: Dayana y Michelle, les agradezco los días y las lecciones compartidas, las cualidades que me han permitido aprender y desarrollar a su lado, el apoyo y la sinceridad.

Agradezco profundamente la amistad de Silvia, quien tuvo fe en mí cuando me encontré en dificultades, quien me aconsejó para continuar mi camino y siempre tiene la opinión más sensata.

A Aarón, mi novio y amigo, parte de este trabajo es gracias a tu apoyo, los días difíciles se alivian con tus palabras y acciones, mil gracias. Para ti, este trabajo.

Agradezco especialmente a mi compañero Jesús, pionero de estos hallazgos y quién me facilitó información de los temas relacionados.

Índice general

Introducción	1
Objetivo general	4
Objetivos específicos	4
Hipótesis	4
Antecedentes	5
Plasma Rico en Plaquetas	6
Quitosano	7
Capítulo 1. Marco teórico	9
1.1 Regeneración y tejido de granulación	11
1.2 Factores que modifican la curación de las heridas	11
1.2.1 Factores locales	11
1.3 Complicaciones de la curación de las heridas	12
1.3.1 Defecto de la cicatrización	13
1.3.2 Ulceración	13
1.3.3 Infecciones	13
1.4 Plasma Rico en Plaquetas	14
1.4.1 Plasma Rico en Plaquetas y Factores de Crecimiento	17
1.4.2 Metodología para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas	18
1.4.3 Fase pre-analítica	18
1.4.4 Consideraciones para el proceso de obtención de muestra de sangre venosa	19
1.4.5 Separación de fases para recolección de PRP mediante centrifugación	20
1.5 Quitosano	20
1.6 Desechos marinos como fuente de obtención de Quitosano	23
1.7 Importancia de los antibióticos	26
1.8 Experimentaciones	26
1.9 Animales de experimentación	27
Capítulo 2. Metodología	29
2.1 Metodología para la obtención de Quitosano	30
2.1.1 Generalidades	30
2.2 Obtención de Quitosano	30
2.2.1 Preparación de la materia prima	30
2.2.2 Tamizado	31
2.2.3 Desproteínización de la muestra	32
2.2.4 Desmineralización de los exoesqueletos	33
2.2.5 Extracción de Quitosano	33
2.3 Obtención de Quitosano	35
2.4 Caracterización del Quitosano	36
2.4.1 Espectroscopía Infrarroja (IR)	36
2.4.2 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	36
2.5 Extracción de sangre venosa, preparación y aplicación de PRP y Quitosano como una aproximación de la aplicación del tratamiento.	37

2.5.1 Materiales y equipo	38
2.6 Obtención de Plasma Rico en Plaquetas.....	38
2.6.1 Obtención muestra de sangre venosa	38
2.7 Centrifugación de la muestra	40
2.8 Activador	40
2.8.1 Post-Centrifugado	41
2.9 Aplicación.....	42
Capítulo 3. Resultados y discusión	44
3.1 Caracterización del Quitosano	45
3.1.1 Determinación del grado de acetilación.....	45
3.2 Evaluación de la porosidad del Quitosano.....	49
3.3 Caracterización del Plasma Rico en Plaquetas	52
3.4 Respuesta al tratamiento	52
Conclusiones.	54
Referencias	57
Anexos	63
A. Tabla de tubos para extracción de sangre	63
B. Selección de zona para venopunción.....	64
C. Biometría Hemática	65
D. Experimentación Animal	67
E. Glosario	69
F. Constancias de contribución con esta investigación	71

Índice de tablas

Tabla 1. Valores de un hemograma.....	15
Tabla 2. Comparación de crustáceos.....	25
Tabla 3. Grupos funcionales característicos del Quitosano.....	46
Tabla 4. Cálculo del área bajo la curva.....	48

Índice de figuras

Figura 1. Plasma Rico en Plaquetas.....	6
Figura 2. Biomateriales como sustituyentes de una función biológica para el organismo...	10
Figura 3. Espectro IR de Quitosano puro.....	23
Figura 4. Lavado del caparazón de jaiba.....	31
Figura 5. Molienda del caparazón de jaiba.....	31
Figura 6. Separación de tamaño de partícula de caparazón molido.....	31
Figura 7. Inmersión en NaOH(3%).....	32
Figura 8. Lavado y filtrado de las muestras después de la inmersión en NaOH.....	32
Figura 9. Inmersión en HCl	33
Figura 10. Inmersión en NaOH.....	34
Figura 11. Lavado y filtrado de Quitosano.....	34
Figura 12. Muestra de Quitosano en su etapa final.....	35
Figura 13. Espectrofotómetro de Infrarrojo.....	36
Figura 14. Microscopio Electrónico de Barrido.....	37
Figura 15. Extracción de muestra de sangre.....	39
Figura 16. Centrifugadora de rotor basculante para la obtención de PRP.....	40
Figura 17. Plaquetas activadas.....	40
Figura 18. Separación de fracción de PRP.....	41
Figura 19. Limpieza, desinfección y esterilización del área a tratar.....	42
Figura 20. Infiltración subcutánea del Plasma Rico en Plaquetas.....	42
Figura 21. Aplicación tópica de Quitosano.....	43
Figura 22. Espectro IR de Quitosano obtenido.....	47
Figura 23. Cálculo del grado de desacetilación.....	48
Figura 24. Micrografía de SEM de las partículas de Quitosano a 50X.....	49
Figura 25. Morfología superficial de Quitosano a 100X y 110X.....	50
Figura 26. Micrografía de microscopía de Quitosano a 500X.....	50
Figura 27. Aproximación de tamaño de poro con ampliación de 1000X.....	51
Figura 28. Cicatrización después de aplicar el tratamiento de PRP y Quitosano.....	53

INTRODUCCIÓN

*Nuestra recompensa se encuentra
en el esfuerzo y no en el resultado,
un esfuerzo total es una victoria completa.*

-Mahatma Gandhi

La supervivencia de la humanidad a través de la historia ha sido una lucha constante del hombre contra su entorno y las consecuentes lesiones. El desarrollo y el progreso de la curación de heridas en el cuerpo humano han estado íntimamente ligados a la capacidad de producir y manipular materiales para prolongar y mejorar la calidad de vida en el ser humano (Callister, 2007).

El ser humano, como ser biológico, cuenta con una protección contra agresiones externas que es la piel. La piel como material biológico, se expone a deterioraciones (contusiones, quemaduras, intoxicación, luxaciones y agrietamientos), al pertenecer a un sistema vivo, es capaz de reparar el deterioro a través de procesos naturales; cuando se presenta dificultad para ello debido a diversos factores, la medicina acude a procesos artificiales con intención de reparar el daño (Vacanti, 2001).

Cualquier riesgo biológico en heridas cutáneas depende de una serie de factores. La diabetes mellitus (DM), la obesidad, la desnutrición, tener edad mayor a 60 años, la vasculopatía periférica severa, el cáncer, una infección, la inmovilidad, los estados de inmunodeficiencia, los procesos inflamatorios locales y el uso de inmunodepresores, se han posicionado como los factores más populares en la prolongación de la curación de las heridas en la piel, que convergen como un problema de supervivencia.

Una herida es definida como una pérdida de continuidad de la piel o mucosa con afectación variable de estructuras subyacentes causadas por un agente productor (Sierra, 2012). Cuando se produce una lesión, el sistema responde para combatir al agente agresor, la curación comienza cuando los tejidos son incapaces de regenerarse; si se desestructura el tejido conjuntivo subyacente, o después de exudados extensos (Pardo, 1998), el sistema intenta contener la lesión y preparar a las células supervivientes para la replicación.

El entendimiento adecuado de la fisiología del microambiente de una herida, desde el punto de vista molecular, infeccioso y genético, el manejo multidisciplinario, el conocimiento de la tecnología de heridas, la ubicación y el tamaño de la herida (Sierra, 2012), permiten tratar estas complicaciones con rigor científico y sentido crítico.

La curación de una herida es un proceso complejo e implica una combinación de regeneración y depósito de tejido conjuntivo denominado fibrosis o cicatriz (Pardo, 1998). El proceso de cicatrización cutánea es una respuesta fibroproliferativa que conduce a la

regeneración del epitelio y reemplazamiento de la dermis por tejido fibroso, formado por colágeno con características diferentes al tejido colágeno normal (Martínez, 2008); la cicatrización va a depender de factores internos y externos, es una compleja suma de la naturaleza del paciente, donde intervienen factores físicos, psicosociales, retraso de la cicatrización y tamaño de la herida, factores económicos, entre otros.

Cuando la herida en la piel es de largo tiempo de evolución, aparecen en ella una gran cantidad de células senescentes (incapaces de reproducirse), la acumulación del 15 % de este tipo de fibroblastos, constituye el umbral a partir del cual la herida pasa a ser considerada de “difícil cicatrización” (Villareal, 2013). En los últimos años el uso de biomateriales en curación de lesiones, ha cobrado suma importancia para la mejora en la calidad de vida de personas con heridas en la piel con dificultad para su regeneración. Dado lo anterior, un tratamiento que disminuya el tamaño de la lesión, así como el riesgo de infección, será el objetivo ideal para la curación de heridas de difícil cicatrización.

El quitosano y el PRP son biomateriales usados en cuidados terapéuticos para la proliferación celular en seres vivos (Velasco, 2011) (Alcaráz, 2015); en su caso, el Plasma Rico en Plaquetas (en adelante PRP) ha demostrado competir con rigor en el campo de la biomedicina (dependiendo de la vía de administración) con aportaciones importantes en la ortopedia, aplicaciones estéticas, el tratado de úlceras y tejidos tisulares (Herrera, 2013). El Quitosano por su parte, dentro de las diversas disciplinas biológicas que abarca y para interés de este trabajo, ha sido estudiado en la interacción directa con sangre anticoagulada, comprobando que sus propiedades germicidas no se ven afectadas (Riquelme, 2005).

En este trabajo se propone un tratamiento para curación de heridas en piel con biomateriales en sinergia para lograr una regeneración pronta, efectiva y segura.

Objetivo general

Utilizar los biomateriales: Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y Quitosano en conjunto, para su aplicación en regeneración de piel.

Objetivos específicos

- Obtener PRP utilizando la metodología clínica del protocolo para obtención de PRP.
- Evaluar el material biológico PRP.
- Preparar Plasma Rico en Plaquetas para aplicar a una herida de manera subcutánea.
- Sintetizar el biopolímero, Quitosano, por hidrólisis química.
- Caracterizar el biomaterial Quitosano utilizando la técnica de Espectroscopía infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), para determinar su grado de desacetilación.
- Caracterizar el biomaterial Quitosano utilizando la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
- Aplicar PRP y Quitosano en una herida sobreexpuesta de un ser vivo, como una aproximación del tratamiento bajo condiciones de la LEY DE BIENESTAR ANIMAL DEL ESTADO DE PUEBLA y normativas establecidas en la NOM-062-ZOO-1999 (NOM, 1999).

Hipótesis

Mediante el uso de dos biomateriales, Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y Quitosano, se puede mejorar el proceso de regeneración cutánea interna y externa, en la pérdida de ella principalmente por heridas de difícil cicatrización, basado en la activación de Factores de Crecimiento del PRP y las propiedades germicidas del Quitosano.

ANTECEDENTES

Siempre parece imposible hasta que se hace.

-Nelson Mandela

Plasma Rico en Plaquetas

El plasma rico en plaquetas se define como el volumen de plasma autólogo con una alta concentración de plaquetas o trombocitos. Es el sobrenadante que se obtiene una vez que la sangre anticoagulada (Figura 1) se somete a centrifugación (González, 2012). El PRP se trata de una opción de bajo coste e inocuidad, fácil manejo y con utilidad en procesos patológicos esquivos a tratamientos convencionales (Moreno, 2015).



Figura 1. Plasma Rico en Plaquetas.

En el campo de dermatología, las investigaciones se han ido afianzando y las aplicaciones estéticas son prioridad, debido a la reordenación del colágeno, gracias a los factores de crecimiento presentes en el PRP, y como relleno adiposo (Díaz, 2016). En el aspecto regenerativo ha aumentado su uso en lesiones articulares, sellamiento superficial en heridas de daños articulares y tratamiento de huesos y cartílago (Podoactiva, 2017).

En los últimos años esta herramienta ha surgido con fuerza debido a la notoriedad de su empleo por la capacidad de incrementar la regeneración ósea y tisular (Simental, 2015). Se ha demostrado ser eficaz para reiniciar el proceso de cicatrización en heridas crónicas complejas, en heridas recalcitrantes a otras terapias coadyuvantes (Moreno, 2015). También se ha demostrado que hay una activación masiva cuando hay estimulantes en el proceso, aumentando su potencial de curación (Avila, 2018).

En estas aplicaciones, deben tomarse todas las precauciones necesarias para evitar una infección; su uso en heridas de difícil cicatrización inyectado en los bordes y los laterales de úlcera cubierta con geles, acortan en un 50% el tiempo de curación previniendo posibles infecciones.

Como lo menciona (Mora, 2015) en su texto "*Terapia regenerativa con plasma rico en plaquetas en pacientes con quemaduras*", el plasma rico en plaquetas favorece a la epitelización y aumenta los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos en lesiones, con esto, la defensa contra la infección en áreas afectadas también aumenta.

Otra ventaja del uso del plasma rico en plaquetas para tratar heridas, es que, al obtenerse del propio paciente no genera reacciones alérgicas y las variaciones de concentración y efectividad sólo se ven afectadas en pacientes con condiciones de salud menores a las normales.

Quitosano

Actualmente, se le ha prestado especial atención al quitosano, por ser un polisacárido de gran potencial. Entre las principales utilidades del quitosano, se puede citar que absorbe y compacta las grasas, control del colesterol, promueve la recuperación de úlceras y lesiones, acción germicida, actúa como antiácido, inhibe la formación de placa en los dientes, ayuda al control de la presión sanguínea, previene la constipación, aumenta el contenido de calcio, reduce los niveles sanguíneos de ácido úrico, además de observarse una acción antitumores (Nakamatsu, 2012). En los últimos años, la mayoría de las investigaciones en el campo de las aplicaciones del quitosano se han enfocado en el estudio de sus propiedades para la liberación de principios activos en el campo de la agricultura, veterinaria y medicina en general; es precisamente en este último campo, en el que se concentra la mayoría de los esfuerzos científicos a nivel mundial, ya que tanto el quitosano como sus derivados han presentado excelentes propiedades físicas y químicas para desarrollar un amplio número de productos con características sumamente interesantes para el sector de la salud (Martinez, 2009). Desde hace varios años el quitosano ha sido utilizado en la producción de scaffolds para la ingeniería tisular, notando en ellos también un crecimiento de la población de células (Mercedes, 2008); también se han optimizado los scaffolds en conjunto con quitosano y otros biomateriales para dichos fines. Las

aplicaciones del quitosano en regeneración de tejidos y cicatrización, se deben a sus propiedades fisicoquímicas, atribuidas al grupo amino, se encuentra protonado y por ende, reactivo (Ramírez, 2016).

Se ha demostrado que las lesiones cutáneas aceleran el proceso de cicatrización cuando son tratados con apósitos modernos, desarrollados como películas, membranas, o recubrimientos; basados en materiales de origen natural e igualmente, han sido ampliamente investigados para aplicaciones biomédicas como: la administración de fármacos, la ingeniería de tejidos y la cicatrización de heridas, debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y propiedades similares a los tejidos humanos (Valencia, 2016).

Las principales características de los apósitos para el tratamiento de lesiones deben ser: la seguridad de la herida, la falta de inmunogenicidad, la biodegradabilidad y presentar una estabilidad suficiente en el destino deseado, sobre todo si es para uso interno. Además de la fácil colocación en la zona lesionada, actúan como una barrera física, que evita la deshidratación de los tejidos e infección por microorganismos oportunistas.

El Plasma Rico en Plaquetas y el Quitosano, se han utilizado por separado para la regeneración de heridas en la piel, aún así, ambos presentan propiedades para aplicaciones diversas. De igual manera, han sido utilizados, cada uno en conjunto con otros materiales para acelerar el proceso de cicatrización, sin embargo, la consideración para utilizar Quitosano y PRP para la misma finalidad aún no se ha propuesto, imaginando una regeneración acelerada y con resultados visiblemente estéticos.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

En medio de la dificultad yace la oportunidad.

-Albert Einstein

Este capítulo describe el marco teórico a utilizar para el desarrollo de la investigación, que incluye la comprensión y el adentramiento del proceso de curación de heridas, así como el conocimiento de la naturaleza bioquímica del PRP y el Quitosano.

Los biomateriales son sustancias naturales o sintéticas cuya misión es reemplazar una parte o alguna función de nuestro organismo, de forma segura y fisiológicamente aceptable, por lo que debe poseer unas propiedades características tanto mecánicas como biológicas (Figura 2). La característica esencial que deben cumplir todos los biomateriales es la biocompatibilidad; debido a las características del sistema inmunológico cuando se introduce un cuerpo extraño en el organismo éste tiende a rechazarlo o incluso a atacarlo.



Figura 2. Biomateriales como sustituyentes de una función biológica para el organismo.

La piel es un órgano primordial para el ser humano que proporciona protección a toda la complejidad sistémica del cuerpo. La pérdida de piel puede ocurrir por trastornos genéticos, traumas, heridas crónicas, por intervenciones quirúrgicas y por traumas térmicos; este último con importantes áreas de la piel involucradas y a menudo sin posibilidad de regeneración (Shevchenko, 2010). Las heridas, dependiendo de su profundidad, pueden ser: epidérmica, superficial de espesor parcial (Blanpain, 2004), profundas de espesor parcial y de espesor completo (Chester, 2004).

De acuerdo a la propuesta de esta investigación, el enfoque se centra en heridas externas; la cicatrización se lleva a cabo en tejidos que son incapaces de regenerarse, produciéndose

un depósito de tejido conjuntivo, es una respuesta fibroproliferativa que más que restaurar el tejido, lo "parcha".

1.1 Regeneración y tejido de granulación

La granulación de la herida es una etapa importante en la curación, donde la lesión se llena con una matriz fibrosa de tejido conectivo y vasos sanguíneos. Incluso las heridas grandes pueden sanar con el tiempo si granulan correctamente.

Las lesiones pasan por tres etapas de curación: En la fase inicial, **defensiva**, el cuerpo utiliza la creación de coágulos y otras medidas paliativas para abordar el problema de inmediato. La **proliferación**, la granulación de la herida comienza, las células crecen y se cierra la lesión. En la fase final de **maduración**, consiste en el aislamiento lento de la superficie de la herida y la finalización del proceso de curación.

El tejido de granulación es el colágeno rico en tejido que se forma en el sitio de una lesión. A medida que el cuerpo se cura, este tejido llena la lesión y con el tiempo puede cicatrizar más. Cuando una herida comienza a crear tejido de granulación significa que el cuerpo está comenzando a reconstruirse después de la lesión. Este tejido fibroso es normalmente de color rosa, debido a que el cuerpo produce numerosos vasos sanguíneos para proporcionar un suministro de oxígeno (O₂) y nutrientes para eliminar los residuos (Pardo, 1998).

1.2 Factores que modifican la curación de las heridas

En el proceso de reparación de las heridas hay influencias generales y locales, positivas y desfavorables (Fernández, 2016).

1.2.1 Factores locales

Aporte sanguíneo: Cuanto mejor sea la vascularización de la zona herida, mejor cicatrizará. Las heridas curan más rápido en la cara que en las extremidades inferiores. La hipertensión venosa facilita el edema y dificulta la cicatrización.

Tipo de herida: Las heridas limpias con poca necrosis, se reparan antes que las que tienen bordes desgarrados y/o con necrosis tisular.

Tamaño de la herida: Cuanto mayor sea el tamaño de la herida, más tiempo tardará en curarse.

Ubicación de la herida: Una herida en la piel no puede contraerse en los lugares donde la piel está separada de los huesos por escaso tejido. Las lesiones cutáneas en tales zonas, en especial las quemaduras, requieren a menudo injertos de piel debido a que sus bordes no pueden unirse.

Distracción: La presencia de colecciones hemáticas, serosas o cuerpos extraños, facilitan la infección, por lo que también retrasan la cicatrización.

Radiaciones: Las radiaciones ultravioleta aceleran la curación de las heridas; sin embargo, las radiaciones ionizantes retrasan la curación por prorrogar la formación de tejido de granulación e impedir las mitosis de células endoteliales y fibroblastos.

Inervación: Se ha demostrado que la piel denervada cicatriza igual que la piel inervada adecuadamente, sin embargo la alteración de las aferencias nerviosas con la pérdida de los mecanismos de defensa incitados por la sensación de dolor facilita la aparición de complicaciones que impiden la cicatrización.

Infección: Las heridas infectadas no cicatrizan. Si no se toman las medidas oportunas, la infección es la regla y la causa más importante de cicatrices retardadas y defectuosas.

Agentes corrosivos: El uso indiscriminado de ciertos antisépticos que pueden dañar los tejidos, retrasa lógicamente la cicatrización.

1.3 Complicaciones de la curación de las heridas

Cualquier herida puede retrasar la curación por diversas alteraciones que afectan a la reparación, contracción o regeneración de los tejidos. Las complicaciones más frecuentes de la curación de las heridas son: defecto de la cicatrización, ulceración, exceso de contracción e infecciones (Pardo, 1998).

1.3.1 Defecto de la cicatrización

Dehiscencia o separación de los bordes de la herida, provocada por factores mecánicos, como el aumento de la presión local o la torsión.

1.3.2 Ulceración

Hipertrofia de la cicatriz: formación de queloide, por no producirse en la remodelación de la herida el paso de colágeno tipo III a tipo I. Parece existir una predisposición hereditaria a la formación de queloides.

Exceso de contracción: se asocia a quemaduras graves que están cicatrizando y puede afectar al movimiento de las articulaciones.

1.3.3 Infecciones

Son la causa aislada más importante de retraso de la cicatrización porque prolonga la fase inflamatoria del proceso y puede contribuir a la lesión local del tejido.

La curación de los tejidos duros y blandos es mediada por una compleja serie de eventos intracelulares y extracelulares que están regulados por la señalización de proteínas. Para promover la regeneración de tejidos duros y blandos se ha desarrollado el uso del PRP para ser usado extensamente en diversos campos médicos (Rodríguez, 2012).

El plasma rico en plaquetas desempeña un rol para la activación plaquetaria en respuesta a daño de tejido y la exposición vascular, resulta en la formación de un tapón de plaquetas y la sangre coagulada para proporcionar hemostasis y la secreción de proteínas biológicamente activas.

El PRP, en vista de su naturaleza autóloga, está libre de enfermedades transmisibles y exento de reacciones de hipersensibilidad. Inicialmente se tuvo la concepción de que las plaquetas actuaban exclusivamente en el proceso de hemostasia (Villareal, 2013). No obstante, actualmente se ha aprendido que poseen además la capacidad de liberación de sustancias proteicas bioactivas, denominadas factores de crecimiento, responsables de la atracción de macrófagos, células mesenquimales pluripotenciales y osteoblastos; esto

sugiere que la aplicación autógena de PRP puede mejorar la cicatrización de heridas, como se ha demostrado en estudios con animales controlados tanto para los tejidos blandos y duros, sin embargo queda aún una exposición superficial cuyo microambiente puede dejar el riesgo de una infección. Existen materiales biológicamente compatibles, con buenos potenciales germicidas; de acuerdo a una consulta literaria, se ha seleccionado un biopolímero como el mejor candidato al quitosano, para complementar la aceleración y el aseguramiento de la curación óptima de heridas.

El quitosano es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de *D*-glucosamina y de *N*-acetil-*D*-glucosamina. Es un material bioadhesivo, biocompatible y biodegradable. Sus propiedades le permiten aplicaciones en encapsulación de células, transporte de principios activos a través de las superficies epiteliales, cultivo celular, reparación de cartílago y reconstrucción de huesos (Colorado, 2013). Es presentado como un material ideal para la ingeniería de tejidos, de fácil manejo, transferencia y aplicación. El quitosano y su uso en soluciones viscosas permiten a la dermis la unión dermo-epidérmica y la reconstrucción de la reepitelización del espesor de la piel (Boucard, 2007). Una propiedad indispensable para cualquier transferencia física (migración) de las células vivas a lo largo de su estructura, es la porosidad.

Los biomateriales utilizados para implantes e interacción directa con tejido biológico deben cumplir con propiedades biológicas, físicas, químicas y mecánicas aptas para procesos de locomoción y adhesión celular, con baja toxicidad, alta promoción celular, estabilidad a la degradación y un adecuado comportamiento térmico, entre otras (MacNeil, 2007). El enfoque actual de la investigación en aplicaciones dérmicas, epidérmicas y sustitutos de componentes de la piel, se dirige hacia el desarrollo de una ingeniería de tejidos equivalente que combine fuentes celulares activas con materiales naturales o sintéticos.

1.4 Plasma Rico en Plaquetas

Cuando se produce una herida, la membrana plaquetaria se une al factor plasmático/endotelial *Von Willebrand* a través de la glicoproteína *IB* que permiten la unión al colágeno expuesto de la pared vascular mediante adhesión uniéndose entre sí; este

proceso llamado agregación se encarga de evitar la pérdida de sangre durante la lesión del tejido (Reyes, 2002) además de atribuir un potente efecto antiinflamatorio (Benito, 2011).

Es importante destacar que las condiciones hematológicas normales (Tabla1), influyen considerablemente en el proceso de cicatrización.

Tabla 1. Valores de un Hemograma (Bethesda, 2017).

Tipo de células	No. de células por volumen
Eritrocitos	4, 5-5 millones/mm ³
Hemoglobina	13-18 g/dL
Hematrocito	38- 48%
HCM	26-32 pg
CHCM	32-37%
VCM	89-98 μ ³
Leucocitos	6000-10000/mm ³
Linfocitos	30-40%
Monocitos	3-8%
Neutrófilos	60-70%
Eosinófilos	1-5%
Basófilos	0-1%
Plaquetas	150000-400000/mm ³

Las plaquetas dentro del PRP constituyen la principal fuente de actividad mitógena en el plasma sanguíneo (Reyes, 2002), tras su activación, liberan proteínas llamadas citocinas, las cuales se comportan como señalizadores y dirigen procesos celulares como la diferenciación, la mitogénesis y la quimiotaxis, es decir, factores de crecimiento (Benito, 2011), las citocinas también pueden ser obtenidos mediante procedimientos de ingeniería genética y recombinante; tienen un costo elevado y se requieren dosis repetidas para conseguir el efecto terapéutico ideal, a diferencia del PRP que es fácil de obtener, económico y con una alta concentración de Factores de Crecimiento y aplicable a diversas patologías médicas (Moreno, 2015). Dado lo anterior, las plaquetas funcionan como vehículo portador de factores de crecimiento, fibronectina y proteínas adhesivas que desempeñan un papel importante en la cicatrización del tejido (Reyes, 2002). Las plaquetas

no tienen ADN genómico, pero contienen ARN mensajero (ARNm) derivado de los megacariocitos y la maquinaria translacional, necesarios para la síntesis de las proteínas.

Después de la lesión tisular, las plaquetas se exponen a los vasos sanguíneos dañados, lo que los coloca en contacto directo con el colágeno, las membranas basales de los capilares, y microfibrilla subendotelial. Esta interacción hace que las plaquetas que se agreguen en el sitio, cambien de una forma redondeada a una que incluye protuberancias grandes y pegajosas, o pseudopodia. Este proceso se denomina activación (Figura 4). Durante la activación, los granallas (gránulos alfa) se fusionan con la membrana plasmática de plaquetas y liberan su contenido de proteínas a los alrededores. Otros factores que median la activación incluyen difosfato de adenosina, que se libera por las plaquetas activadas, y trombina y adrenalina.

Para los pequeños defectos vasculares, este tapón de plaquetas puede ser suficiente para detener la pérdida de sangre; sin embargo, si el defecto es grande, puede ser necesario un coágulo de sangre. La coagulación sanguínea se inicia por una de dos vías, intrínseca y extrínseca. Ambas vías implican una secuencia de reacción en cascada mediante la cual los factores inactivos se activan para girar y catalizar la formación de otros productos a partir de precursores que van a catalizar reacciones subsiguientes, lo que lleva a la formación de un coágulo.

De acuerdo con (García, 2017), se requiere de iones de calcio para que la reacción de activación continúe hasta la terminación. La fase rica en plaquetas se puede activar con diferentes métodos, siendo los más empleados el cloruro cálcico y la trombina. Las plaquetas participan en múltiples niveles en la secuencia de reacción que genera hebras de fibrina, y son parte de la composición final del coágulo, que se compone de una malla de fibrina con un agregado de plaquetas activadas y las células de sangre, rojas y blancas. Dentro de 20 minutos a 1 hora después de la formación del coágulo, el coágulo se retrae por medio de la contracción de las plaquetas.

El PRP, considerado como uno de los materiales de trabajo, se obtiene retrasando la coagulación; la capacidad de coagulación de la sangre debe estar deshabilitada para que la sangre se mantenga en estado líquido, en vivo, para los propósitos del procesamiento, esto se logra con el tubo para recolección de sangre con anticoagulante (Anexo A). La

coagulación de la sangre depende principalmente de iones de calcio; debido al estado vivo que debe mantener la sangre, es necesario “obligar a los iones de calcio” a ser incapaces de participar en la secuencia de reacción, para esto sirve la propuesta del uso de un conservador sanguíneo (los conservadores típicos sanguíneos incluyen dextrosa citrato ácido y citrato fosfato dextrosa que, además de citrato, contiene otras sustancias para mantener viabilidad celular), como lo es un ion citrato capaz de unirse con el ion de calcio, el calcio forman citrato, una sustancia soluble, pero no-ionizable.

Los tratamientos que emplean el plasma autólogo rico en plaquetas (PRP) mimetizan los eventos que se suceden durante el proceso fisiológico de cicatrización debido a la liberación de diversos factores de crecimiento.

1.4.1 Plasma Rico En Plaquetas Y Factores De Crecimiento

El primer factor de crecimiento fue descubierto por la neurofisióloga Rita Levi en 1949, fue denominado Factor de Crecimiento Nervioso (Luigi, 2004). Desde 1990 se conoce que la regeneración de tejidos blandos, heridas y huesos depende de la acción de diferentes componentes sanguíneos (fibrina, fibronectina, FC entre otros) y que su presencia en elevadas concentraciones puede alterar o acelerar este proceso (El-Domyati, 2012).

Las plaquetas contienen grandes cantidades de factores de crecimiento que tienen un papel trascendental en el proceso de cicatrización, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas AB (PDGF-AB), el factor de crecimiento transformador beta (TGF- β) y el factor de crecimiento vascular (VEGF) entre otros que son capaces de estimular la proliferación celular, la quimiotaxis, la remodelación de la matriz extracelular y la angiogénesis (Schwartz, 2011).

Las plaquetas son principalmente conocidas por su papel en el proceso de hemostasia en el cual contribuyen a evitar la pérdida de sangre en las zonas vasculares heridas. Para llevarlo a cabo, las plaquetas se adhieren, se agregan y forman una superficie pro-coagulante, que provoca la generación de trombina y la formación de fibrina. La formación de un hematoma o un coagulo inicia la formación de la cicatrización (Kang, 2011).

El factor de crecimiento derivado de plaquetas (en inglés, PDGF, por platelet derived growth factor) es uno de los numerosos factores de crecimiento, o proteínas que regulan el crecimiento celular y la división celular. El Factor de crecimiento derivado de las plaquetas fue uno de los primeros en ser descubierto y aislado, tiene la capacidad de actuar sobre una amplia variedad de células: óseas, fibroblastos, gliales, musculares, etc., por lo cual está clasificado como un factor de amplia especificidad. Se encuentra almacenado en los gránulos alfa de las plaquetas. Este factor actúa sobre los fibroblastos aumentando mucho su proliferación (Pardo, 1998).

1.4.2 Metodología para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas

El PRP se obtiene mediante un procedimiento sencillo de extracción y centrifugado convencional donde se busca la liberación al espacio extracelular de los factores de crecimiento contenidos en los gránulos alfa de la sangre en condiciones asépticas (Chase, 1997). El tiempo de ayuno, la necesidad de abstenerse de fumar y beber, el registro del uso de algún medicamento, la realización de algún procedimiento diagnóstico o terapéutico previo, entre otros, son aspectos relevantes.

1.4.3 Fase pre-analítica

Para facilitar el conocimiento del estado clínico del paciente, es recomendable realizar una biometría hemática (Anexo C), que proporciona información detallada y cuantitativa sobre tres tipos de células presentes en la sangre: glóbulos rojos (transportan oxígeno y eliminan productos de desecho), glóbulos blancos (combaten infecciones) y plaquetas (detienen hemorragias mediante la formación de coágulos) (Multicolor, 2016).

Las principales recomendaciones para el proceso de extracción de sangre venosa (Andriolo, 2010) son dadas bajo el régimen de condiciones preanalíticas:

1. Fluctuación cronobiológica: Son las alteraciones clínicas en la concentración de un determinado parámetro en función del tiempo.
2. Sexo: Diferencias hormonales y características de cada sexo, otros parámetros sanguíneos y urinarios, las diferencias metabólicas y de la masa muscular.

3. Edad: Diversos factores, como la madurez funcional de los órganos y sistemas, contenido hídrico y masa corporal.
4. Actividad física: Movilización de agua y otras sustancias entre los diferentes compartimentos corporales, necesidades energéticas del metabolismo y modificación fisiológica que la propia actividad física.
5. Ayuno: Los estados postprandiales, en general, están acompañados de turbiedad del suero, que puede interferir en algunas metodologías.
6. Dieta: Puede interferir en la concentración de algunos componentes, dependiendo de las características orgánicas del propio paciente.
7. Uso de fármacos para usos terapéuticos y no terapéuticos, y drogas de abuso: Pueden ocasionar variaciones, ya sea por el propio efecto fisiológico, in vivo, o por la interferencia analítica, in vitro.

1.4.4 Consideraciones para el proceso de obtención de muestra de sangre venosa

- Verificación de la solicitud o petición del tratamiento a realizar.
- Comunicación amena con el paciente.
- Realizar la asepsia de manos adecuada.
- Verificar la preparación y el ayuno del paciente. Preguntar sobre posibles alergias.
- Elección de la zona para realizar la venopunción (Leslie, 2014) (Anexo B).
- Observar las venas de mayor calibre.
- Preparación del sitio de venopunción: La limpieza empieza en el centro de la vena y debe seguir hacia fuera en círculos concéntricos.
- Uso adecuado del torniquete: El tiempo de aplicación no debe exceder de un minuto. Cuando su aplicación excede un minuto, puede producir estasis localizada, hemoconcentración e infiltración de sangre en los tejidos, dando valores falsos para los analitos basados en medidas de proteínas, albumina, potasio, creatinina y ácido láctico, disminución de glucosa, cambios en la eritrosedimentación, pruebas de estallido respiratorio de leucocitos, alteración del volumen celular y otros elementos celulares.
- La posición del paciente durante la extracción.

- La extracción de sangre.

1.4.5 Separación de fases para recolección de plasma rico en plaquetas mediante centrifugación.

Para separar fases de la fuente de obtención del material, se utiliza el principio de centrifugación, que separa suspensiones mediante densidades diferentes. La centrifugación se utiliza en la sangre para la separación de dos fases; suero o plasma de las células (Antonia, 2015); las condiciones de centrifugación a considerarse son principalmente el tiempo, la fuerza centrífuga y el equilibrio entre las muestras.

El protocolo de obtención de plaquetas recomienda 250 gravedades durante 10 minutos. La calibración de la centrifugadora va a depender principalmente del radio de la centrifugadora. Para ajustar las 250 gravedades a RPM es de utilidad la siguiente fórmula (DJB Labcare, 2017):

$$FCR = (1.118 \times 10^{-5})R (rpm)^2 \quad (i)$$

- FCR = fuerza centrífuga relativa
- R = radio (cm)
- rpm= velocidad de rotación

1.5 Quitosano

Es el riesgo de infección lo que lleva a la investigación de agentes germicidas con aportaciones biológicas y compatibles, asociados a la curación de heridas; como ejemplo de un material con éstas características, destaca el quitosano (Sánchez, 2007).

El quitosano es un polisacárido de cadena lineal poco frecuente en la naturaleza y que se obtiene mediante la desacetilación extensiva de la quitina parcialmente desacetilada. La producción de este tipo de biopolímero, biocompatible, es relativamente económico, en mayor medida debido a la materia prima de obtención. Está presente en la pared celular de hongos, levaduras, y en el exoesqueleto de invertebrados como cangrejos e insectos, mismos que se encuentran libremente en la naturaleza; la obtención es un proceso complicado que requiere de mucho cuidado en el manejo del material entre procesos, con uso de químicos como medios de desacetilización y polimerización.

El quitosano se obtiene por modificación química de la quitina, la cual es tratada con una solución alcalina concentrada y caliente, el polímero que se obtiene posee ciertas características químicas y físicas de gran interés.

La quitina es un polímero natural que se clasifica dentro del tipo polisacárido, considerado a menudo como un derivado de la celulosa por sus características, pero con ciertas diferencias en su estructura molecular. La quitina es blanca, dura, inelástica y es la mayor fuente de contaminación superficial de las áreas cercanas al mar. El quitosano es un derivado de la quitina, éste es un polímero con propiedades tales como biocompatibilidad, biodegradabilidad, toxicidad nula, que lo hacen útil para tratamientos de reconstrucción de la piel por medio de sus características humectantes y germicidas (Esmieu De León, 2015).

La quitina es fácil de obtener del exoesqueleto de mariscos (Araneda, 2015), para ello se requiere un tratamiento químico con el fin de remover los pigmentos, las sales tales como el carbonato de calcio y las proteínas que se encuentran asociadas con ella. Con el fin de retirar la mayor cantidad de unidades acetilo de la estructura del polímero, el proceso de obtención de quitosano se realiza por medio de un tratamiento con álcali concentrado y caliente.

Posee una amplia actividad contra espectros patógenos como la inhibición de crecimientos patógenos y la resistencia sistémica a infecciones. Tiene la propiedad de inhibir el crecimiento de hongos, bacterias, y virus fitopatógenos, así como la de activar in vivo diversos mecanismos vinculados con la resistencia sistémica y la habilidad de enlazarse con sustancias cargadas negativamente tales como lípidos y proteínas; así como su comportamiento como floculante, adherente y adsorbente (Rodríguez, 2009).

Estas propiedades biológicas permiten que el quitosano sea útil para el tratamiento de reconstrucción de la piel, convirtiéndolo en una película que sirve como soporte para las células epiteliales y que por medio de sus características humectantes y germicidas, sea útil para personas con quemaduras graves o con problemas de la piel (Pardo, 1998).

Gracias a sus características, se ha popularizado el uso de quitosano para apósitos y tratamientos, como acetato y sales de quitosano para tratar lesiones de pie diabético, hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón para soportes en ingeniería de tejidos, parches médicos para regenerar y curar heridas (Valdespino, 2013). Actualmente

el desarrollo de la tecnología de apósitos, ha disminuido complicaciones y costos, y ha mejorado la tasa de curación de estas entidades (Jiménez, 2008).

Sus propiedades biológicas permiten que el quitosano sea útil para en la industria farmacéutica, gracias a su biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja toxicidad, bioadhesividad, capacidad de adsorción, la propiedad filmógena, efecto hemostático sobre la coagulación de la sangre, y la acción contra bacterias, hongos y virus. Por sus propiedades aplicables en el campo farmacéutico, el quitosano fue elegido como polímero para aplicación tópica (Dos Santos, 2009), principalmente porque se ha observado que las membranas de quitosano proveen estabilidad mecánica y flexibilidad, mayor captación de agua y tienen propiedades bacteriostáticas y fungistáticas (Castro, 2015). Las investigaciones citadas en (De Souza Paiva, 2014), demuestran el gran potencial de este polisacárido en la lucha contra los microorganismos patógenos, y la eficacia de quitosano germicida como un posible nuevo medicamento natural contra infecciones.

Una característica del quitosano es que sus unidades están mayormente desacetiladas (Figura 3), lo que lo hace uno de los pocos polímeros catiónicos naturales; e influye en sus propiedades químicas y biológicas como la actividad microbiana (Creces, 2017), debido a la carga positiva de los grupos amino, que se unen a los grupos aniónicos de los microorganismos de hongos, bacterias, y virus fitopatógenos (Rodríguez, 2009). Además, los productos de degradación del quitosano no son tóxicos ni alergénicos (Ravi-Kumar, 2000).

La actividad germicida del quitosano es de amplio espectro y por lo tanto es capaz de actuar contra un número considerable de bacterias (Gram positivas y Gram negativas), hongos filamentosos y levaduras (Dutta, 2009) La actividad germicida es una característica que depende de diversos factores entre los que se cuentan: los factores microbianos, factores intrínsecos del quitosano, estado físico y factores ambientales (Martínez, 2010). Las propiedades de la quitina y el quitosano, como el peso molecular y el grado de desacetilación, dependen principalmente de su método de producción y la fuente de obtención.

Existen también características propias del quitosano que influyen directamente en su actividad germicida; por ejemplo, dependiendo del proceso y las condiciones de obtención,

este biopolímero adquiere un mayor o menor Grado de Desacetilación (GD) y por consiguiente una Densidad de Carga Positiva (DCP) mayor o menor (Kong, 2010).

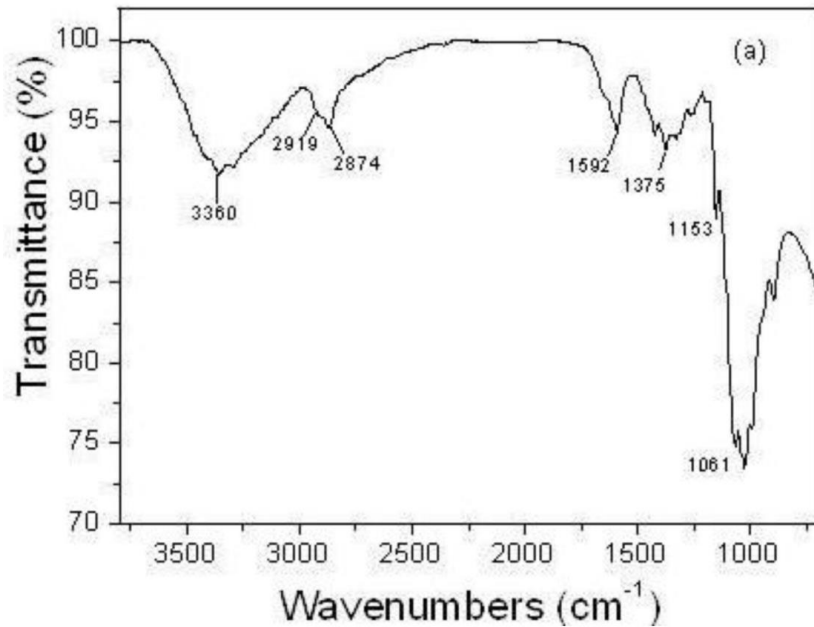


Figura 3. Espectro IR de Quitosano Puro (Santosh K., 2012).

En términos generales, el mecanismo mediante el cual un agente bactericida catiónico actúa se puede resumir en los siguientes pasos: 1) Adsorción en la superficie celular de las bacterias. 2) Difusión a través de la pared celular. 3) Adsorción en la membrana citoplasmática. 4) Ruptura de la membrana citoplasmática. 5) Salida de los compuestos constituyentes del citoplasma. 6) Muerte celular. De esta forma, se ha encontrado que la estructura policatiónica del quitosano produce cambios en las células que les resultan letales (Giraldo, 2015).

1.6 Desechos marinos como fuente de obtención de Quitosano

En las últimas décadas, ha aumentado considerablemente el uso de productos naturales como agentes terapéuticos; la utilización de productos fitoterapéuticos sigue una línea ascendente debido a la creciente evidencia de su seguridad y eficacia. Diversos productos naturales con propiedades farmacológicas importantes han sido identificados, entre los que

se encuentran un gran número de componentes celulares y metabolitos secundarios (Wasser, 1999).

Dentro del campo de la química orgánica, las investigaciones mundiales hacen que el área de los productos naturales sea la de mayor crecimiento. En la actualidad se reportan cerca de un millón de productos naturales aislados a partir de diferentes fuentes, una de ellas incluye los desechos marinos comunes (Jiménez, 2007).

En el procesamiento de los desechos marinos por consumo humano (crustáceos principalmente), para el aprovechamiento del músculo, se generan residuos sólidos de difícil disposición (exoesqueletos), que se van acumulando en basureros, constituyendo un contaminante ambiental. Estos residuos tienen una composición rica en componentes como la quitina, el carbonato de calcio y pigmentos (carotenoides). Los desechos de comida actualmente, en la industria del quitosano, son una fuente de materia prima ya que son toneladas de desperdicios alimenticios los que se tiran por año. Las técnicas de extracción de quitina reportadas son muy variadas, pues dependen en gran medida de las características de la fuente. La composición del material de partida varía notablemente de una especie de crustáceo a otra, o bien dentro de la misma especie, encontrándose caparazones gruesos y carbonatados, en contraposición a otros de láminas calcáreas delgadas.

El aprovechamiento de desperdicios de crustáceos como materia prima, significa un nuevo eslabón en la cadena productiva de crustáceos, integrando los sectores pesqueros, acuícolas y de procesamiento. La disposición de desperdicios es una problemática común a nivel nacional, el camarón es la principal especie en la producción pesquera en México (Matsumoto, 2015). Una pesca complementaria de la pesca de camarón es la de jaiba. En promedio, el rendimiento de carne es de 14% del peso total (Delicias Prehispánicas, 2016), incluso antes de los procesos alimenticios, lo que significa que la cantidad disponible (desechos) de la jaiba es más pura, ya que no sufre modificaciones, y además, el peso es mayor debido a la anatomía del crustáceo, pues la coraza es significativamente pesada. El tamaño mínimo comercial de la jaiba es de 12.5 cm (Velázquez de la Cruz, 2014).

Tan solo en el año 2011 se tiraron 20 262 toneladas, esto debido principalmente a que sólo se consume la carne y se desecha su caparazón. A continuación se muestra una tabla

comparativa de los principales crustáceos en la pesquería Mexicana, donde se observa que en relación al consumo, el desecho es mayor en la jaiba, además de ser más económico.

Tabla 2. Comparación de crustáceos ((DNR, 2017) - (PROFECO, 2012) - (FEN, 2011))

Especie	Tamaño [m]	Peso [kg]	Porción comestible [%]	Precio [MXN]
Langosta	0.23-0.50	0.07-7	38	620.71
Jaiba	0.12 -0.23	0.5 – 1	14	55.38
Camarón	0.05 – 0.08	0.02-0.045	46	210

Las tallas de jaiba son pequeñas debido a que su pesca es incidental (Pesca, 2012). Una jaiba en promedio, pesa alrededor de 57g de carne, el tamaño de la jaiba es mayor al del cangrejo, tiene menos cantidad de carne, que se encuentra en las tenazas y las patas traseras (Alvarado, 2016). Convenientemente, partir de los caparazones de los crustáceos como la jaiba se puede obtener quitina y quitosano (Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca, 2011). La quitina que posee el exoesqueleto de dicho crustáceo es un componente clave para la obtención de quitosano, debido a su amplio espectro de aplicaciones y propiedades, asimismo, puede ser valorizado si se diseña y aplica un método de extracción adecuado.

El consumo de jaiba es una alternativa viable en virtud de dos circunstancias; en primer lugar, porque las temporadas de pesca de la especie permiten alternar la actividad con otras ya consolidadas, como la captura del camarón, y porque se plantea como un tipo de pesca comercialmente atractiva, es decir, es una labor que requiere poca inversión y ofrece ganancias que, aunque sin ser altas, son constantes (Pesca, 2012).

La preparación de la jaiba como alimento, implica el desprendimiento del caparazón, para así poder limpiar la hueva y los órganos internos, encargados de los procesos de circulación, respiración y digestión. El uso de este material como precursor de quitosano resultaría económico y con propiedades efectivas para el proceso del tratamiento.

Para que el tratamiento se lleve a cabo con éxito, es necesario mantener cautela en el proceso. Es importante conocer el equipo y la instrumentación, así como la capacitación del personal para evitar complicaciones y tener mayor probabilidad de éxito.

1.7 Importancia de los antibióticos

Es de suma importancia dejar en claro los términos de actividad microbiana; al hablar acerca de un antibiótico o sustancia bactericida se hace referencia a uno que es capaz de destruir el agente patógeno de interés (destrucción de la pared celular de la bacteria). Dentro de este grupo se encuentran las penicilinas, las quinolonas, las cefalosporinas, la vancomicina, los aminoglucósidos y la polimixina (Pulsomed, 2017).

Los productos naturales cumplen un importante rol en el descubrimiento que conlleva al desarrollo de drogas para el tratamiento de enfermedades humanas. Estos ofrecen una amplia diversidad de componentes, los cuales pueden servir como fuentes de fármacos, así como revelar nuevos mecanismos de acción para el control de enfermedades infecciosas (García, 2004).

1.8 Experimentaciones

Durante la Primera Guerra Mundial, y sobre todo al final de la guerra, el desarrollo de metal de alto rendimiento, de cerámica y materiales poliméricos, abrieron las posibilidades para el uso de estos materiales duraderos e inertes; inmediatamente intrigó a los cirujanos con necesidades para reemplazar o curar partes del cuerpo dañadas. Estos materiales, fabricados originalmente para aviones, coches, relojes y radios, fueron utilizados por los cirujanos para su aplicación en problemas médicos. Justo después de la Segunda Guerra Mundial, hubo pocos precedentes para los cirujanos para colaborar con los científicos e ingenieros.

Los profesionales médicos y dentales de esta época se veían en la necesidad de inventar e improvisar porque la vida de su paciente estaba en juego.

Hacer biomateriales era llevado rápidamente a un nuevo orden caracterizado por la ciencia y la ingeniería, por controles de calidad del gobierno e intercambio de las decisiones antes

de tratar altos riesgos y procedimientos. Sin embargo, una parte contradictoria a los actos médicos heroicos, es la experimentación ilícita que necesariamente involucra la ética en la biomedicina.

Terminada la Segunda Guerra Mundial, los excesos exhibidos por los experimentos realizados por los médicos nazis motivaron la elaboración del Código de Núremberg (Núremberg, 1947), sobre “Normas éticas acerca de experimentación en seres humanos” que establece las normas que debiesen regir la investigación médica en seres humanos con fines diagnósticos/terapéuticos en contraposición a la investigación biomédica con fines no-terapéuticos. Este código ha sido actualizado en varias oportunidades.

1.9 Animales de experimentación

Si bien la investigación con seres humanos posee un marco referencial bioético bastante amplio, los aspectos bioéticos involucrados en la utilización de animales de experimentación en la investigación científica son más recientes y más circunscritos. Estos aspectos bioéticos cobran inusual connotación pública por parte de distintos movimientos sociales, entre los que destacan las agrupaciones ecologistas anti-viviseccionistas. Ellas sostienen la prohibición absoluta de usar animales de experimentación, lo que ha traído serios conflictos con la investigación biomédica que requiere de la realización previa de ensayos experimentales en animales, antes de ser realizados en seres humanos. En la actualidad, es posible prevenir enfermedades, que hasta hace muy poco destruían la vida de miles de personas.

Las propuestas de tratamientos para consumo humano, necesitan estrictamente una investigación previa, fidedigna y segura. Para ello, las pruebas experimentales y gran parte de los avances en la medicina, no serían posibles sin el uso de modelos animales (Mediavilla, 2014). Aunque existen métodos de investigación alternativos donde en vez de ejemplares vivos se evalúan cultivos celulares o de tejidos (in vitro), plantas, modelos virtuales computarizados (in silico), humanos voluntarios aquejados por alguna enfermedad e incluso referencias retrospectivas de estudios epidemiológicos o poblacionales (Cárdenas, 2017), la investigación biomédica sería casi imposible de llevar a cabo sin poner en peligro a gran cantidad de personas; sin menospreciar las especies, existe un código

ético pensado para limitar al máximo el sufrimiento de los animales y la cantidad empleada en los estudios.

Los animales y los humanos somos muy parecidos; estamos dotados de los mismos órganos que desempeñan las mismas funciones de una manera similar. Las técnicas modernas de cirugía, incluida la operación de reemplazo de cadera, los trasplantes de riñones, los trasplantes de corazón y las transfusiones de sangre se perfeccionaron en experimentos con animales.

La Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) reconoce la función esencial del uso de animales vivos en la investigación y la educación. Las pautas de orientación de la OIE para el bienestar animal estipulan que dicho uso aporta una importante contribución al bienestar humano y animal y subraya la importancia de cumplir el principio de las tres erres en experimentación animal; se trata de: *reemplazo*, *reducción* y *refinamiento*. El **reemplazo** consiste en sustituir, siempre que sea posible, a los animales por modelos informáticos o cultivos celulares para probar el efecto de fármacos o posibles tóxicos. La **reducción** trata de reducir el número de animales empleados. Y el **refinamiento** consiste en buscar métodos para minimizar el sufrimiento de los animales (OIE, 2016).

CAPÍTULO 2

METODOLOGÍA

*El hombre que mueve montañas
comienza cargando pequeñas piedras.*

-Confucio

En este capítulo se sustenta el proceso de obtención de los biomateriales Plasma Rico en Plaquetas y Quitosano, así como el diseño de las diferentes fases del tratamiento para la regeneración de piel.

2.1 Metodología para la obtención de Quitosano

2.1.1 Generalidades

El protocolo de obtención de quitosano llevado a cabo, estableció el siguiente orden:

A) **Obtención de materia prima.** La materia prima fue adquirida en el mercado 5 de Mayo, ubicado en la ciudad de Puebla de Zaragoza; Av. 18 Pte, Centro.

B) **Extracción de quitina a partir de caparazones de crustáceos y transformación a quitosano.** El proceso inicial fue la extracción de minerales y luego, la proteína. Este método consistió en hidrólisis de proteínas y remoción de material orgánico.

La extracción de quitina por el método químico, se realizó conforme a lo descrito a continuación:

2.2 Obtención de quitosano

2.2.1 Preparación de la materia prima

El caparazón de jaiba se lavó con agua corriente (Figura 4), procurando remover la mayor cantidad de materia orgánica posible. Los exoesqueletos, después de quedar sin residuos, se secaron de manera natural (secado solar) durante 24 horas, para su posterior triturado y molienda (Figura 5).



Figura 4. Lavado del caparazón de jaiba



Figura 5. Molienda del caparazón de jaiba

2.2.2 Tamizado

Se separó la mezcla de partículas de diferentes tamaños por un tamiz (Figura 6). Se realizó un análisis granulométrico con un tamiz 256, con un tamaño de grano de entre 0,8 mm y 1,5 mm.



Figura 6. Separación de tamaño de partícula de caparazón molido.

2.2.3 Desproteinización de la muestra

Se utilizó una solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) al 3% (Figura 7), en una relación de sólido:líquido 1:10 a una temperatura de 80°C durante 2 horas con agitación constante para asegurar una completa desproteinización.

En cada una de las etapas del proceso, el producto obtenido se lavó con agua destilada (Figura 8) hasta obtener un pH neutro.



Figura 7. Inmersión en NaOH(3%) 1:10 sol:liq 2h ,80°C



Figura 8. Lavado y filtrado de las muestras después de la inmersión en NaOH (3%) 1:10

2.2.4 Desmineralización de los exoesqueletos

Se pesó una cantidad del polvo de crustáceo, después se colocó en un matraz con una solución de ácido clorhídrico (HCl) 2N (Figura 9) en una relación 1:5 sólido:líquido con una temperatura de 27°C durante 90 minutos con agitación constante.



Figura 9. Inmersión en HCl (2N) 1:5, 90 min

La quitina obtenida, finalmente fue sometida al proceso de desacetilación enzimática, mediante el cual se convirtió en quitosano.

2.2.5 Extracción de quitosano

Como se menciona, al someter la quitina obtenida a un proceso de desacetilación enzimática o química se obtiene quitosano. La desacetilación enzimática de quitina para la obtención de quitosano es un método biológico:

La quitina fue vertida en una solución de NaOH al 50% en una relación 1:10 sólido:líquido, por 1 hora a 100°C (Figura 10), el producto obtenido fue el quitosano.



Figura 10. Inmersión en NaOH (50%) 1:10 sol:liq, 1 h , 100°C

Al concluir la etapa, la quitina se lavó nuevamente con abundante agua destilada (Figura 11) hasta tener un pH neutro, se filtró con papel de filtro y se obtuvo el sólido.



Figura 11. Lavado y filtrado de quitosano

2.3 Obtención de Quitosano

Posteriormente, al evaporarse el exceso de agua, se obtuvo la muestra de quitosano en polvo (Figura 12). Como último paso, se procedió a la caracterización del biomaterial obtenido.



Figura 12. Muestra de quitosano en su etapa final

2.4 Caracterización del Quitosano

2.4.1 Espectroscopía Infrarroja (IR)

La muestra de quitosano, fue caracterizada con un equipo de espectroscopía infrarroja (Figura 13), con un detector de KBr en un intervalo espectral de 500 y 4000 cm^{-1} . Se midieron las muestras con una resolución de 4 cm^{-1} con 50 acumulaciones.

El estado del material se mantuvo en estado físico de polvo colocado en un portador de muestra, a una temperatura de 22°C. Se obtuvo el espectro de infrarrojo del quitosano, empleando el método de transmisión como técnica de interacción.



Figura 13. Los grupos funcionales característicos de las muestras de quitosano fueron evaluados en un espectrofotómetro de Infrarrojo marca Vertex 70.

2.4.2 Microscopia Electrónica de Barrido (SEM)

Las muestras secas se recubrieron con oro mediante sputtering para conferirles propiedades conductivas (debido que el quitosano es un material no conductor), empleando aumentos entre 100 y 1000 μm . Posteriormente las muestras fueron colocadas en la montura de aluminio de un microscopio JEOL, modelo JSM- 5600LV (Figura 14).



Figura 14. Microscopio Electrónico de Barrido

2.5 Extracción de sangre venosa, preparación y aplicación de PRP y Quitosano como una aproximación de la aplicación del tratamiento.

El proceso que se describe en este capítulo fue usado con éxito por ser sencillo, comprobado, económico, seguro y reproducible (Dominijanni, 2012):

Los principios éticos sirven para supervisar y definir las medidas necesarias para los conflictos en la experimentación animal. Por respeto a la vida y a la dignidad del paciente. Al implementarlos, se debe tener en cuenta la seguridad del hombre, el animal y el medio ambiente, y proteger la diversidad genética de las especies animales y vegetales.

La aplicación, como primera intención de este trabajo, involucra aplicar el tratamiento. Una aproximación del tratamiento se realizó en una especie animal canina en condiciones desfavorables, para la mejora de su calidad de vida. La especie presenta sarna, una enfermedad provocada por ácaros o parásitos externos microscópicos, que afecta principalmente la piel que se observa en todo el cuerpo del perro, las lesiones aparecen con enrojecimiento, inflamación, caída de pelo y comezón. Las lesiones pueden llegar a ser

muy impresionantes, y debido al sobre crecimiento del ácaro en los folículos pilosos, aparecen secreción e inflamación severas (Asteinza, 2017).

En el seguimiento de la aplicación del tratamiento en la especie en cuestión, se tomó en cuenta la necesidad de un trato humano para el animal y su bienestar. Para ello, es necesario el apoyo de un veterinario, debido a que su formación y habilidades únicas en tratamientos con el cuidado animal (OIE, 2016) y poder así cumplir los objetivos.

Como se ha mencionado anteriormente, el comienzo del tratamiento sugiere una pre-fase, que en este caso es adaptada al canino (Anexo D), debido a las condiciones fisiológicas del animal, es omitido el requerimiento de un hemograma. Por tal motivo, se procede directamente a la extracción de sangre (Figura 15).

2.5.1 Materiales y equipo

La seguridad y la garantía de una venopunción efectiva con estándares de sanidad adecuados, dependen del área física para realizar el análisis, como: iluminación, ventilación, higiene, espacio, comodidad, al igual que el buen uso del equipamiento y los materiales (Bio-one, 2011).

2.6 Obtención de Plasma Rico en Plaquetas

Para la producción del Plasma Rico en Plaquetas, según las consultas (Alcaráz, 2015), los métodos de obtención y preparación, se consideraron los factores principales: temperatura, pipeteo y centrifugación,

2.6.1 Obtención muestra de sangre venosa

El proceso de venopunción en la aproximación a la ejecución del tratamiento, fue realizado por un profesional experimentado en seguimiento a las normativas de extracción de sangre para perros y gatos (Anexo B).

El animal fue colocado sobre una mesa en decúbito esternal. Sostenido por una persona que lo inmovilizó, utilizando una mano le extendió el cuello hacia arriba, agarrándolo del hocico y extendiendo la cabeza. Con la otra mano le sujetó las extremidades delanteras, tomándolo por los carpos.

Las fases para realizar la venopunción fueron las siguientes:

- Se preparó la zona de venopunción. Para preparar la piel para la extracción de sangre, se rasuró el pelo para lograr una mejor visualización de la vena.
- La zona de venipunción se limpió con alcohol para identificar mejor la vena y eliminar la contaminación macroscópica de la piel y el pelo.
- Se distendió la vena aplicando presión en el lateral de la zona traqueal con ayuda de un torniquete.
- Se insertó la aguja con el bisel hacia arriba en un ángulo como de 30 grados, a una profundidad de menos de 1 cm (Figura 15). Se realizó la extracción de sangre por sistema de vacío (BD Vacutainer) que permitió la facilidad en la manipulación, dado que el tubo EDTAK₂ para la extracción de la sangre* por vacío tiene en su interior vacío calibrado y en capacidad proporcional al volumen de sangre informado en su etiqueta externa (Anexo A).

*Todos los tubos disponen de tapón de seguridad. El uso de un sistema de vacío elimina la posibilidad de que durante la toma de la muestra se produzca el reflujo de la sangre hacia el interior de la vena. El tubo adecuado es aquel que contiene citrato de sodio al 3.2%, que es un anticoagulante que no daña la membrana plaquetaria, manteniendo intactos la cantidad y la función plaquetaria. Dicho tubo tiene una proporción de anticoagulante con respecto a la sangre (1:9), para mantener las propiedades plaquetarias intactas.



Figura 15. Extracción de muestra de sangre (4 ml) para posteriormente preparar PRP.

2.7 Centrifugación de la muestra

La centrifugación se realizó en una centrifugadora de la marca Eppendorf modelo 5810R de radio 4 (Figura 16), siguiendo el protocolo de obtención de PRP, la fuerza centrífuga relativa es de 2364.39 RPM con base en la fórmula (i) de la página 20 en el Capítulo 1.

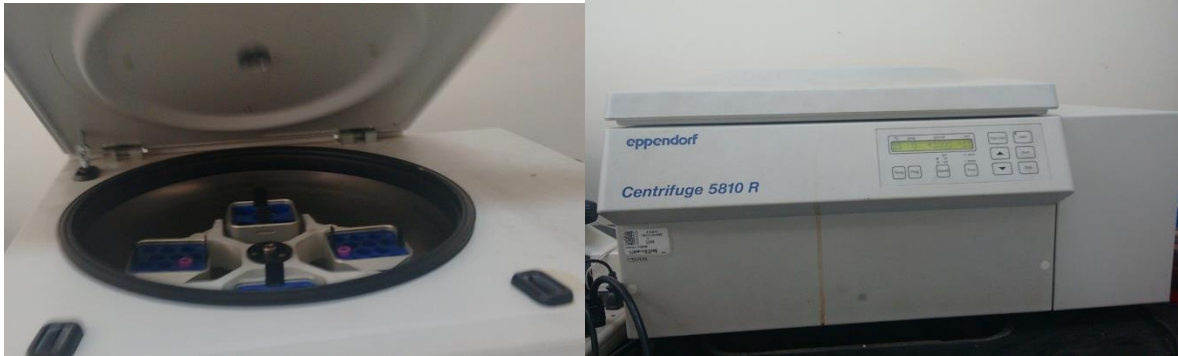


Figura 16. Centrifugadora de rotor basculante para la obtención adecuada de PRP de acuerdo al protocolo de obtención.

2.8 Activador

Para conseguir la degranulación plaquetaria y la consiguiente liberación de los factores de crecimiento y de otras moléculas bioactivas se procedió a la activación (Figura 17) de la fracción inferior de la fase plasmática.

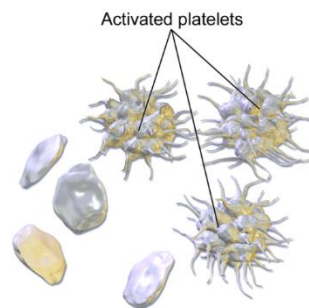


Figura 17. Plaquetas activadas.

2.8.1 Post-Centrifugado

El plasma como la fracción de interés, se divide en plasma pobre en plaquetas, plasma con concentración intermedia en plaquetas y el plasma rico en plaquetas (Figura 18). Mediante pipeteado se procede a la separación de nuestra fracción de Plasma Rico en Plaquetas, para ello, se procuró realizar un pipeteado preciso con la intención de obtener la mayor cantidad de plasma “puro”.

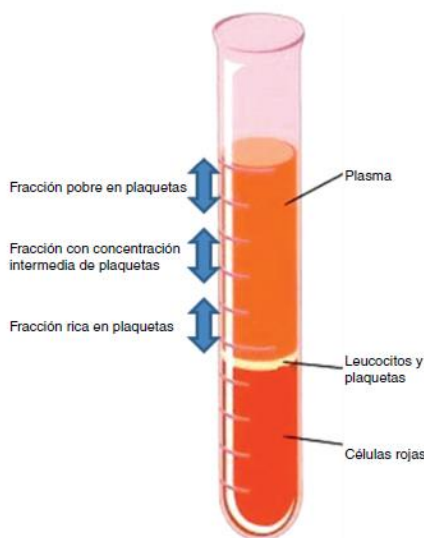


Figura 18. Separación de fracción de PRP.

La fase rica en plaquetas se activó con $\text{Ca}_3(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2$ al 3%, contenido en la jeringa que posteriormente se utilizó para la infiltración subcutánea del plasma activado en la herida. Para activar correctamente, se utilizó una agitación a la jeringa contenedora hasta obtener una mezcla homogénea. Posterior a esto, como es recomendable, se esperó un poco de tiempo para que comenzara la activación; está demostrado que una activación prematura de las plaquetas conlleva una pérdida de factores que se eliminan o se degradan antes de alcanzar el lugar donde deben actuar (Dugrillon, 2002).

2.9 Aplicación

Después de preparar el área a tratar, rasurando y desinfectando con una embrocación; se procedió a la anestesia local (Figura 19) para continuar con el método.



Figura 19. Limpieza, desinfección y esterilización del área a tratar

La mezcla activada se inyectó en un máximo de 10 minutos en la zona afectada mediante una infiltración local subcutánea (Figura 20).



Figura 20. Infiltración subcutánea de Plasma Rico en Plaquetas.

Como seguimiento del tratamiento, de manera tópica se aplicó Quitosano en la herida.



Figura 21. Aplicación tópica de Quitosano.

Según el método propuesto, el reposo y espera dependen del tamaño de la herida. Como ya se ha mencionado, la curación de una herida depende del reposo, el estado fisiológico y el microambiente de la herida.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuando pierdas, no pierdas la lección.

-Dalai Lama

En este capítulo se representa el análisis de los materiales, se realizó espectroscopía infrarroja para identificar los grupos funcionales característicos del quitosano, posteriormente se realizó una microscopía electrónica de barrido para confirmar la porosidad requerida para este trabajo.

Para constatar la autenticidad de un material, es indispensable realizar la caracterización de éste. Existen técnicas de caracterización que ayudan a estudiar las propiedades y características únicas en los materiales. Popularmente, y de acuerdo al tipo de material, se utilizan las técnicas espectroscópicas para conocer cualitativamente los componentes principales del material.

3.1 Caracterización de Quitosano

3.1.1 Determinación del grado de acetilación.

La espectroscopia infrarroja, por su simplicidad, puede ser utilizada tanto para identificar estructuralmente quitosano como para evaluar su grado de acetilación (DA). Este parámetro se define como el número de unidades acetiladas ($-\text{NHCOCH}_3$) presentes en la estructura de la molécula de quitosano.

Una vez obtenidos los espectros correspondientes de FTIR (Figura 22), el DA se calcula mediante la relación de bandas de absorción $A_{\text{base}}/A_{\text{referencia}}$ ubicadas acorde a su longitud de onda (cm^{-1}) como se muestra en la Tabla 3.

Tabla 3. Grupos funcionales característicos del Quitosano (Maza, 2007)

N°	Grupo Funcional	cm ⁻¹	Intensidad	% Transmitancia
1	Grupo -OH	3456	VS	3,87
2	Grupo N-H	3314	VS	6,53
3	Grupo C-H	2870 y 2912	S/S	21,75 Y 22,92
4	Grupo amida primaria	1654	M	30,36
5	Grupo -NH ₂	1582	M	30,57
6	Grupo -CH ₂	1420	M	30,67
7	-CH ₃ y C-CH ₃	1380	S	28,25
8	Amida terciaria	1320	VS	3,95
9	C-O-C	1154	S	10,49
10	Vibraciones del esqueleto	1036 y 1082	VS/VS	3,95/ 1,62
11	C-H de los grupos anoméricos	898	M	30,33

S: fuerte M: medio V: variable

El grado de acetilación se obtiene a través de la expresión (Brugnerotto, 2001):

$$\frac{A_{1320}}{A_{1420}} = 0.3822 + 0.0313 * DA \quad (ii)$$

A₁₃₂₀: Area bajo la curva de la banda del espectro infrarrojo en Absorbancia base

A₁₄₂₀: Área bajo la curva de la banda del espectro infrarrojo en Absorbancia referencia

DA: grado de acetilación

DD = 100 - DA

La figura 22 muestra el espectro de absorción correspondiente a la muestra desacetilada. En el espectro se observan las bandas de los grupos funcionales característicos de la molécula de quitosano, se hace evidente la aparición de la banda del grupo amino a 1643 cm⁻¹, y se observan las bandas de los grupos -OH a 3395 cm⁻¹ y N-H a 3381. Haciendo una comparación con la figura 3 del Capítulo 1, en la que se muestra el espectro de quitosano

puro, se puede confirmar que la muestra obtenida es quitosano, debido a que ambos espectros muestran las bandas de absorción características del biomaterial.

Después de analizar esta comparativa de bandas de grupos característicos, se procedió al cálculo de pureza de la muestra de quitosano obtenido, determinando el grado de acetilación aplicando la fórmula (ii).

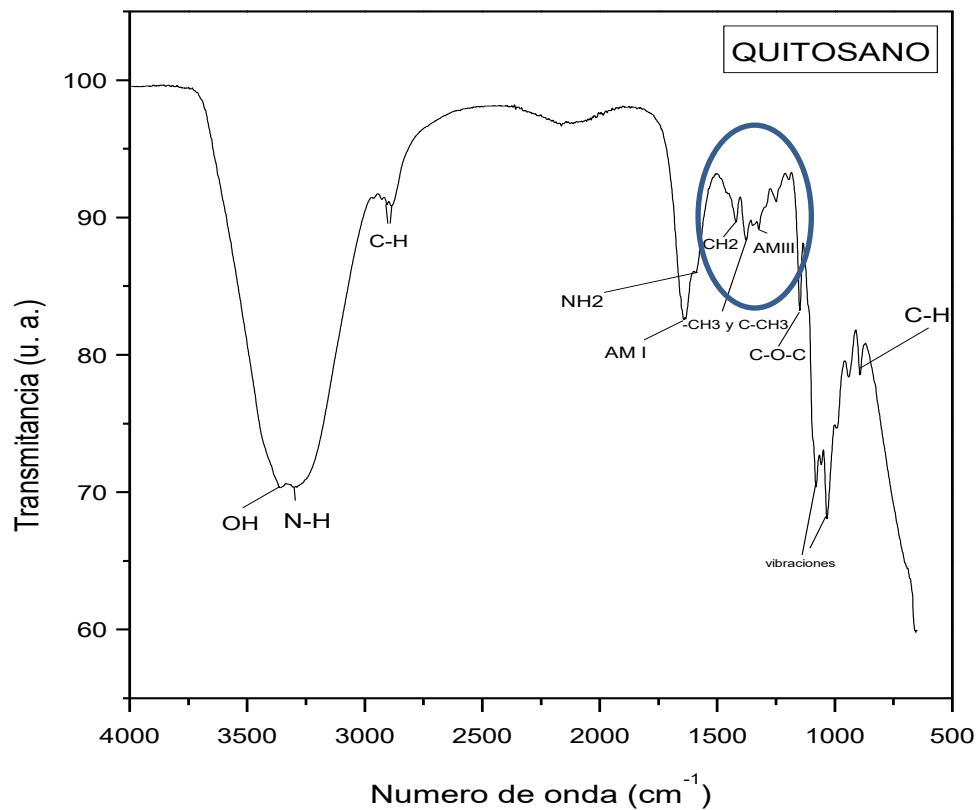


Figura 22. Espectro IR de Quitosano obtenido. Las líneas de base resaltadas.

Ramírez (2016), en su texto titulado “*Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR y Raman*”, desarrolla un método para determinación de FTIR a través de Espectroscopia Infrarroja, siguiendo este método, se ha seleccionado (Ver Figura 23) como banda de evaluación (AB) a aquella localizada a 1320 cm^{-1} , correspondiente al estiramiento C-N del grupo amida (amida III) con línea de base =

1301-1338 cm⁻¹ y como referencia (AR) a la banda a 1420 cm⁻¹ asignada a la deformación -CH₂ y con línea de base= 1400-1452 cm⁻¹.

Figura 23. Región de evaluación del FTIR de quitosano para el cálculo del grado de desacetilación.

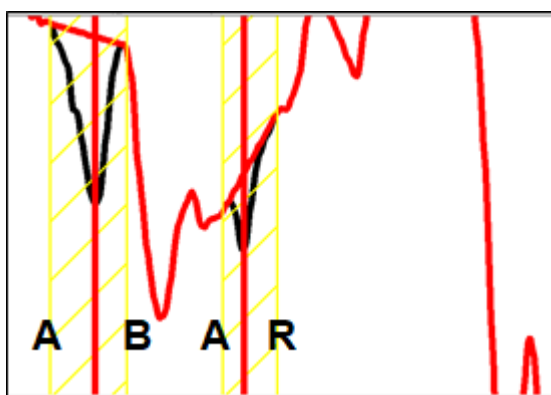


Tabla 4. Cálculo del área bajo la curva, con apoyo del software Origin 8.

Area	Beginning X	Ending X	Widgth	Center	Height
-41.35342	1400	1452	19.8852	1421	-1.91429
-9.36671	1301	1338	9.6467	1323	-0.86619

Evaluando los valores obtenidos en la ecuación (ii), se obtiene el siguiente resultado:

$$\left| \frac{9.36671}{41.35342} \right| = 0.3822 + 0.0313 * DA$$

$$DD = 100 - \left(\frac{\left(\frac{9.36671}{41.35342} \right) - 0.3822}{0.0313} \right) \quad (iii)$$

Con base en el cálculo, el quitosano posee un grado de acetilación de 4.97, la proporción de grupos amino es menor en el quitosano obtenido que en la literatura de 20 a 10 (Gacén, 1996), lo que es indicativo de que el método de síntesis utilizado permite la obtención de un producto altamente desacetilado (fórmula iii) con un *DD* de **95.03** (ecuación iii).

3.2 Evaluación de la porosidad del quitosano

Las imágenes SEM de las películas obtenidas se muestran en la siguientes figuras. El quitosano derivado de la quitina de jaiba presenta forma irregular y tamaño heterogéneo (Figura 24), observándose partículas aglomeradas asimétricas y con poros fácilmente identificables en la mayoría de las partículas (Figura 25).

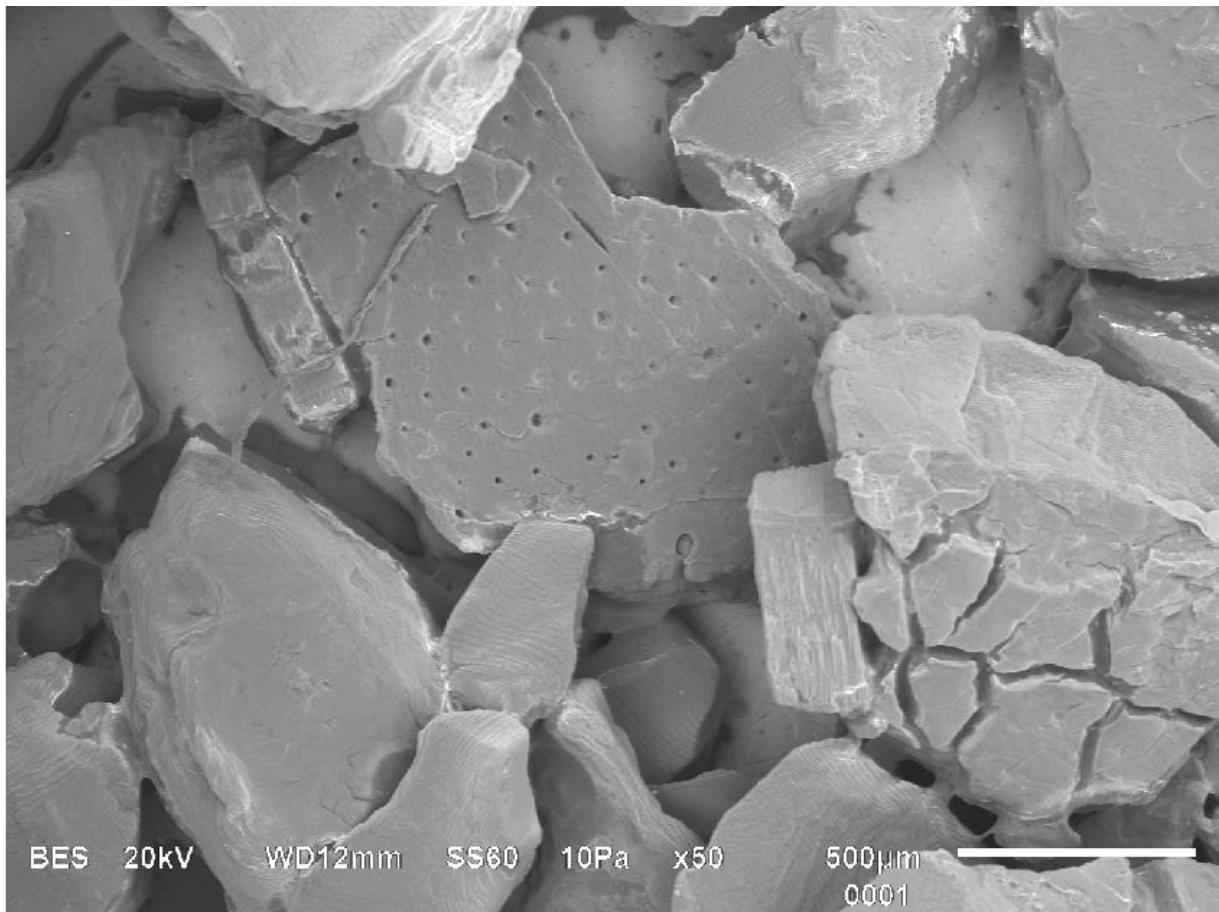


Figura 24. Micrografía de microscopía electrónica de barrido de las partículas de quitosano a 50X.

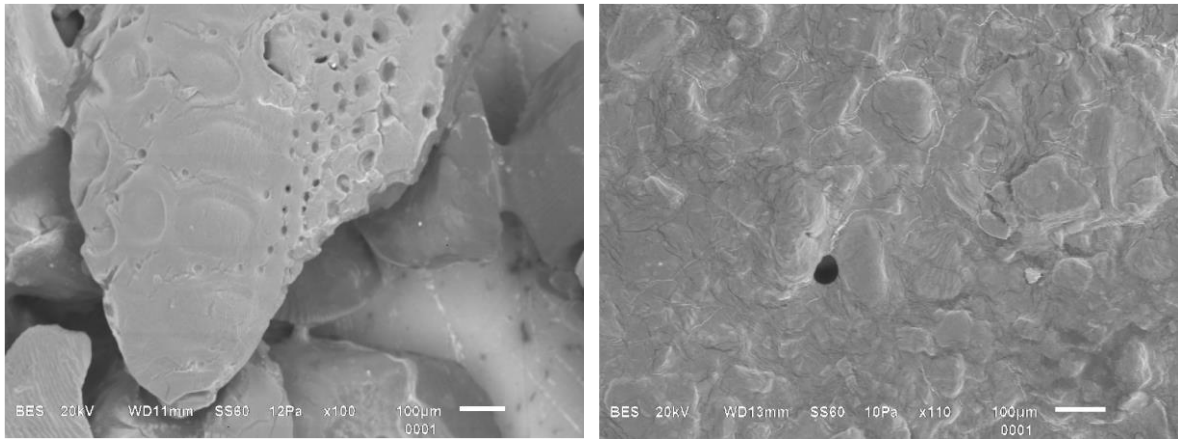


Figura 25. Morfología superficial de quitosano a 100X (izquierda) y 110X (derecha).

Se observa una superficie porosa producida por el control de pH de 7.8, una superficie porosa indica una densidad baja (Figura 26), lo que significa que la interacción catiónica del quitosano es alta esto es un indicativo más de que las propiedades germicidas que se pretendían obtener en un principio son las esperadas.

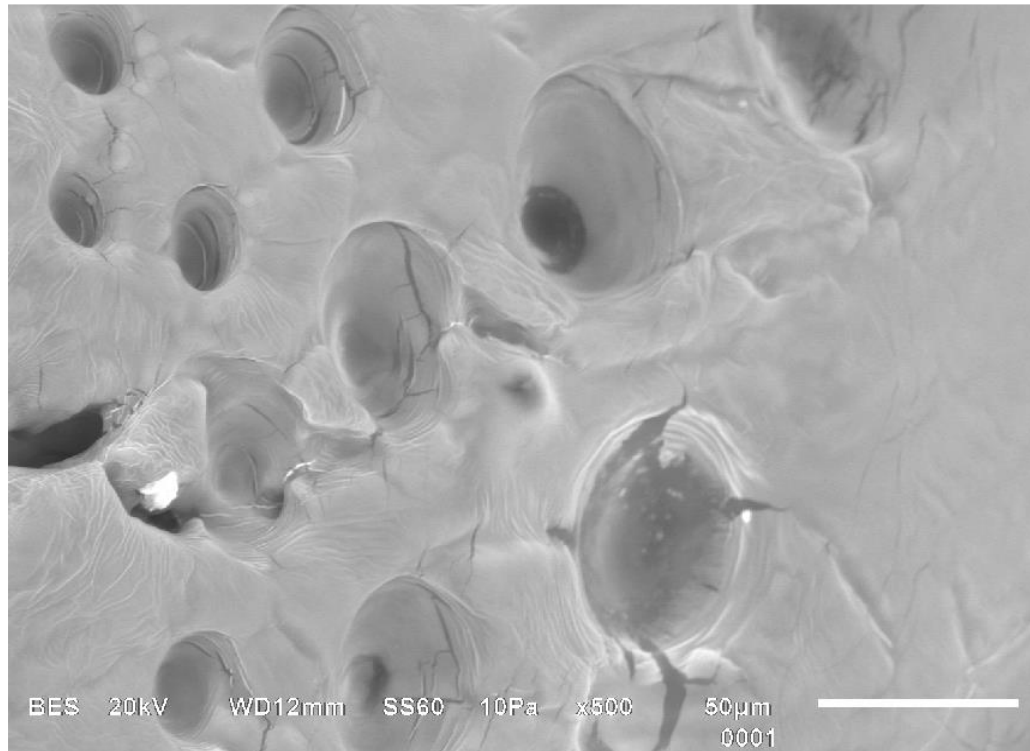


Figura 26. Micrografía de microscopía de quitosano a 500X

El tamaño de las micropartículas obtenidas fue visualizado en un microscopio electrónico de barrido se observaron tamaños de partículas cercanas a 10 μm de diversas profundidades.

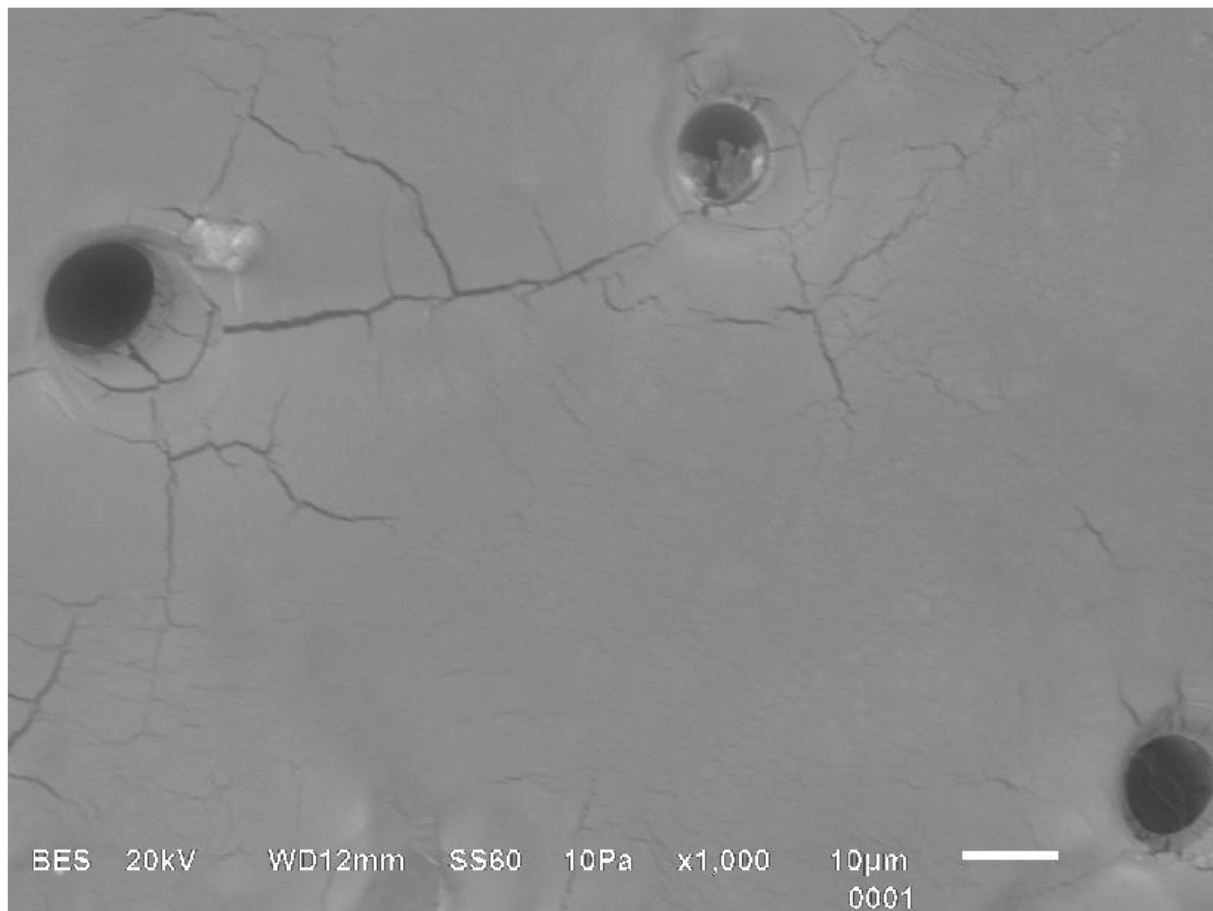


Figura 27. Aproximación de tamaño de poro con ampliación de 1000X

En los resultados de las micrográficas, se aprecia que el quitosano obtenido tiene un tamaño aproximado de poro de 8.8 μm (Figura 27), es decir, aumenta el área superficial lo que facilita la interacción entre iones (Flores, 2017) y por ende la actividad germicida eficaz.

3.3 Caracterización de Plasma Rico en Plaquetas

Es probable que el efecto del PRP sobre la cicatrización de una herida sea función de muchas variables, entre ellas la concentración de plaquetas, el volumen añadido de PRP, la extensión y el tipo de la lesión y la condición médica global del paciente. El gran número de variables y su potencial interacción es la razón por la que no existe una afirmación del nivel de aumento de plaquetas que debe producir el PRP sobre la línea base para ofrecer sus efectos de la manera más óptima.

Antes de la centrifugación, en el tubo de muestra, se estima que por cada gota de sangre se encuentra aproximadamente una cuarta parte del total de plaquetas que podemos encontrar en una gota de plasma después de la centrifugación. Esto quiere decir que, al aumentar la concentración de las plaquetas, aumentamos el número de factores de crecimiento derivado de las plaquetas. Tomando en cuenta las deficiencias fisiológicas del paciente y la cantidad de PRP en la muestra, resultan ser óptimos y proporcionales con las expectativas de obtención de PRP.

3.4 Respuesta al tratamiento

Los resultados del presente estudio demostraron un buen proceso de cicatrización. El primer día transcurrido después del tratamiento se observó un ligero enrojecimiento alrededor de la herida tratada, lo que indica que el efecto del PRP cumplió con su función inmunológica para la formación de los vasos sanguíneos en un menor tiempo (normal de 2 a 9 días) (Xin-peng, 2015). El segundo día se notó costra mostrando procesos acelerados de cicatrización. El tercer día presenta cicatrización como si tuviera aproximadamente 6 días (Figura 28). La sanación presentada por el sujeto en cuestión es muy favorable ya que éste se encuentra enjaulado, causando estrés, con actividad física casi nula y presenta un grado de anemia, es muy probable que sin dichos aspectos negativos la sanación será aún más rápida (Longo, 2012).

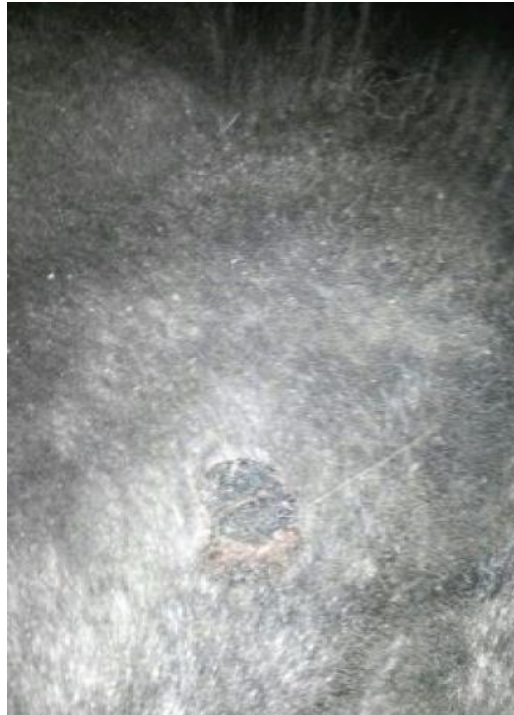


Figura 28. Cicatrización temprana después de aplicar el tratamiento de PRP y Quitosano

Basandose en la experiencia del veterinario que auxilió en este trabajo, es una propuesta que es viable, de bajo costo y que puede ayudar en los procesos de cicatrización en menor tiempo. Otros factores que debemos tener en cuenta, cuando se trata de la curación de heridas, tales como el estado de salud actual, tales como la desnutrición que puede ralentizar el proceso de curación, medicamentos y cuidados.

CONCLUSIONES

Merece tu sueño

-Octavio paz

La aplicación en sinergia de los biomateriales propuestos, cumplió con las expectativas para la aproximación del tratamiento, logrando un ambiente agradable para el paciente y una pronta curación.

Se observó una considerable mejoría en el tiempo de regeneración de la piel en la aproximación del tratamiento implementado en un perro con discontinuidad en la piel.

Se obtuvieron los biomateriales Quitosano y PRP con los protocolos de obtención propuestos.

El protocolo de obtención del Plasma Rico en Plaquetas sugerido, es confiable y efectivo para poder proseguir a la aplicación con los precursores y activadores propuestos.

La evaluación y caracterización del material biológico Plasma Rico en Plaquetas va a depender siempre de las condiciones fisiológicas del paciente.

La preparación del PRP demostró ser la adecuada para un tratamiento de activación y proliferación de las plaquetas.

El quitosano obtenido a partir de jaiba como fuente principal, en seguimiento con el protocolo de obtención propuesto, presenta ventaja en costos y en el grado de desacetilación (95%) requerido para aplicaciones clínicas, comparado con quitosano de otras fuentes. Ideal para su aplicación en organismos vivos.

El tamaño de poro, la densidad, el grado de desacetilación, son factores estrechamente ligados con la actividad germicida del quitosano.

Es posible implementar un tratamiento sencillo con bajo costo aprovechando desechos orgánicos y materiales autólogos.

La efectividad del desempeño del PRP, está estrictamente ligada a los parámetros normales en una biometría hemática. Un sistema inmunológico normal actúa adecuadamente en condiciones normales, sin embargo, el tratamiento aplicado en personas con los requisitos estipulados haría del paciente un superhumano debido al acelerado proceso de recuperación.

Al ser autólogo el PRP, la seguridad del procedimiento es alta y la cantidad requerida se obtiene de la sangre del propio paciente. Es posible afirmar, que, en principio, no existe ninguna contraindicación absoluta.

En consideración a futuras aplicaciones del tratamiento, para el seguimiento adecuado en el proceso de obtención, se anticipan las omisiones que puede presentar el tratamiento: preparación, calidad, volumetría, calibración, higiene, procedimiento y aplicación, etcétera.

Debido a que cada cuerpo presenta variaciones, lo más recomendable es continuar con el desarrollo de muchas tecnologías asociadas con la accesibilidad de materiales adecuados. Un avance en la comprensión de un tipo de material es a menudo el precursor a la progresión de una tecnología.

Referencias

- Alcaráz, J. (2015). Plasma rico en factores de crecimiento plaquetario. Una nueva puerta a la Medicina regenerativa. *Revista de Hematología* , 128-142.
- Alvarado, A. (2016). *El Comercio*. Recuperado el 2017, de La Jaiba es un alimento por explorar en las gastronomías locales: <http://www.elcomercio.com>
- Antonia, H. M. (2015). *Laboratorio de urgencias: Clínica, Laboratorio de Bioquímica*. Málaga, España: Servicio de análisis clínicos y bioquímica clínica.
- Araneda, M. (1 de Agosto de 2015). *Educación en alimentación y nutrición*. Recuperado el 3 de Marzo de 2017, de Eidualimentaria: <http://www.edualimentaria.com/pescados-y-mariscos-composicion-y-propiedades>
- Asteinza, I. (2017). *Sarna en perros*. México: Hospital Veterinario Animal Home.
- Avila, A. (2018). Plasma rico en plaquetas. Consideraciones para su uso en dermatología. *Ibero-*
- Benito, M. (2011). Plasma rico en plaquetas y su aplicabilidad en periodoncia, una revisión. *Ciencia odontológica*.
- Bio-one, G. (2011). Sistemas de extracción de sangre, recomendaciones de manipulación. *PEFC*, 11.
- Boucard, N. (2007). The use of physical hydrogels of chitosan for skin. *Biomaterials*, 3478–3488.
- Brugnerotto, J. (2001). An infrared investigation in relation with chitin and chitosan characterization . *Polymer*, 3569-3580.
- Callister, D. (2007). *Materials Science and Engineering*. USA: John Wiley & Sons, Inc.
- Cárdenas. (2017). *Experimentos con animales, ¿mal necesario?* Obtenido de ¿Cómo ves? Revista de divulgación de la ciencia de la UNAM: <http://www.comoves.unam.mx>
- Castro, P. S. (2015). Membranas de colágeno y quitosano de fuentesb alternativas: evaluación para su uso potencial en ingeniería de tejidos. *Tecnología en marcha, Edición especial Ingeniería de Tejidos*, 58-68.
- Chase, S. (1997). Forever healing: the lived experience of venous ulcer disease. *J Vasc Nurs*.
- Chester, D. (2004). A review of keratinocyte delivery to the wound bed. *The Journal of burn care & rehabilitation*, 266–275.

- Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. (2011). *Anuario estadístico de acuacultura y pesca 2011*. México: SAGARPA.
- Creces. (2 de Febrero de 2017). *Creces, Ciencia y Tecnología*. Recuperado el 8 de Febrero de 2017, de Crustáceos: no bote la caparazón: <http://www.creces.cl/>
- De Souza Paiva, W. (2014). Avaliação da atividade antibacteriana da quitosana fúngica. *Persp. Online:biol. & saúde, campos dos goytacazes*, 37-43.
- Delicias Prehispánicas. (30 de Septiembre de 2016). *Delicias Prehispánicas*. Recuperado el 2017, de ¿Por qué se le llama Jaiba desnuda a este platillo?: <https://deliciasprehispanicas.com>
- Díaz. (2016). Aplicaciones del Plasma Rico en Plaquetas como terapia en dermatología. *En el campo de dermatología, las investigaciones se han ido afianzando y las aplicaciones estéticas son prioridad, debido a la reordenación del colágeno, gracias a los factores de crecimiento presentes en el PRP, y como relleno adiposo (Díaz, 2016).*, 4-10.
- DJB Labcare. (2017). *DJB Labcare Ltd- The UK's leading independent centrifuge specialist*. Obtenido de <https://www.djblabcare.co.uk>
- DNR. (2017). *SALTWATER FISHING GENERAL INFORMATION*. South Carolina: SOUTH CAROLINA HUNTING & FISHING Guide.
- Dominijanni, A. (2012). *Platelet gel in oral and maxilofacial surgery: a single-centre experience*. Italia: Blood Transfus.
- Dos Santos, K. (2009). *desenvolvimento de filmes à base de quitosana para liberação tópica prolongada de nitrofuraz: síntese e caracterização química*. Foz do Iguaçu: Anais do 10 Congresso Brasileiro de Polímeros.
- Dugrillon, A. (2002). Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int. J. Oral Maxillofac. Surgery*, 615-619.
- Dutta, P. K. (2009). Perspectives for chitosan based antimicrobial films in food applications. *Food Chemistry*, 1173-1182.
- El-Domyati, M. (2012). Efficacy of mesotherapy in facial rejuvenation: a histological and immunohistochemical evaluation. *International Journal of Dermatology*, 913-919.
- Esmieu De León, E. (2015). *Evaluación del contenido extractable de quitina obtenida a partir de dos secciones del exoesqueleto del camarón (Litopenaeus vannamei) cefalotorax y abdomen, procedente de mar y cultivado en viveros y comparación con el contenido de carbonato de calcio y*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.

- FEN. (2011). *Mercado Saludable de los alimentos*. Obtenido de Fundación Española de la Nutrición: http://www.fen.org.es/mercadoFen/mercadofen_ajus_General.html
- Fernández, F. (2016). *Cuidados de heridas y drenajes quirúrgicos*. Almería, España: Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos y Neonatales. Hospital Torrecárdenas.
- Flores, J. (2017). "EFICIENCIA DE UNA MEMBRANA DE POLIPROPILENO MODIFICADA CON QUITOSANO EN LA REMOCIÓN DE IONES METÁLICOS Ca⁺², Cu⁺², Cd⁺² Y Pb⁺²". México: UAEM.
- Gacén, J. (1996). Quitina y Quitosano. Nuevos materiales textiles. *Boletín Intexter del Instituto de Investigación Textil y de Cooperación Industrial*, 67-71.
- García, L. (2017). Estudio comparativo de cuatro protocolos para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas (PRP). *Fundación Juan José Carraro*.
- García, M. (2004). Antibacterial activity from *Penicillium corylophilum* Dierckx. *Elsevier*, 317-322.
- Giraldo, J. (2015). *ResearchGate*. Obtenido de PROPIEDADES, OBTENCIÓN, CARACTERIZACIÓN y aplicaciones del quitosano: <https://www.researchgate.net/publication/277302110>
- González, M. (2012). Aplicación del plasma rico en plaquetas (PRP) y sus derivados en implantología dental y cirugía plástica. *Invest Clin*, 408-418.
- Herrera, M. (2013). ¿Magia y arte en la Medicina? A propósito del plasma rico en plaquetas. *Revista de hematología*, 109-110.
- Jiménez. (Febrero de 2007). *Edición española de scientific american*. Obtenido de Investigación y ciencia: <https://www.investigacionyciencia.es>
- Jiménez. (2008). Curación avanzada de heridas. *Revista Colomb Cir*.
- Kang, Y. (2011). Platelet-rich fibrin is a Bioscaffold and reservoir of growth factors for tissue regeneration. *Tissue Eng Part A*, 349-359.
- Kong, M. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action. *International journal of food microbiology*, 51-63.
- Leslie, S. (2014). Variables preanalíticas en el laboratorio. *Notas preanalíticas*, 8.
- Longo, D. (2012). *Harrison: Principios de medicina interna*. México: Mc Graw-Hill.
- Luigi, A. (2004). Rita Levi-Montalcini: the discovery of nerve growth factor and modern neurobiology. *TRENDS in Cell Biology*, 395-399.
- MacNeil, S. (2007). Progress and opportunities for tissue-engineered skin. *Nature*, 874-880.

- Martínez. (2010). Chitosan composite films: Thermal, structural, mechanical and antifungal properties. *Carbohydrate Polymers*, 305-315.
- Martinez, A. (2009). Propiedades estructurales y físicas de biopelículas de quitosano obtenido de ensilados de desecho de camarón. Sonora: Universidad de Sonora, División de ciencias biológicas y de la salud.
- Matsumoto, K. (2015). BIOPROCESO PARA OBTENER QUITINA Y QUITOSANO. *Universidad Autónoma Metropolitana*. Casa Abierta al tiempo.
- Maza, I. (2007). Caracterización Físicoquímica de Quitosano para su Aplicación como Biosorbente de Metales. *Revista de la Facultad de Ciencias de la UNI, REVCUNI*, 1-5.
- Mediavilla, D. (09 de 06 de 2014). *Materia*. Recuperado el 22 de 03 de 2017, de <http://esmateria.com>
- Mercedes, G. C. (2008). Materiales macroporosos biodegradables basados en quitosano para la ingeniería tisular. Valencia, España: Tesis doctoral.
- Mora, M. (2015). Terapia regenerativa con plasma rico en plaquetas en pacientes con quemaduras. *MEDISAN*.
- Multicolor, G. (23 de Noviembre de 2016). *Salud y medicinas*. Recuperado el 28 de Enero de 2017, de Biometría hemática completa (hemograma): <http://www.saludymedicinas.com.mx>
- Nakamatsu, J. (2012). La quitosana. *Revista de Química PUCP*, 10-12.
- NOM. (1999). Especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio. *NOM-062-ZOO-1999*. Norma Oficial Mexicana.
- Núremberg, T. I. (1947). CÓDIGO DE NÚREMBERG. *Experimentos médicos permitidos*. Alemania.
- OIE, O. m. (2016). *Código Sanitario para los Animales Terrestres*. OIE.
- Pardo, F. (1998). Compendio de anatomía patológica. *Elsevier*.
- Pesca, I. N. (2012). *Estudio socioeconómico de la pesquería de jaiba del pacífico mexicano*. México: Dirección general adjunta de investigación pesquera en el pacífico.
- Podoactiva. (13 de 09 de 2017). *TERAPIA DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS PARA ACELERAR LA RECUPERACIÓN DE LESIONES Y PATOLOGÍAS DEL PIE*. Obtenido de Podoactiva, Podología y Biomecánica: <https://www.podoactiva.com/es/blog/terapia-de-plasma-rico-en-plaquetas-para-acelerar-la-recuperacion-de-lesiones-y-patologias>

- PROFECO. (2012). *Especial de precios de pescados y mariscos*. Obtenido de Brújula de compra: https://www.profeco.gob.mx/encuesta/brujula/bruj_2012/bol213_pescados.asp
- Pulsomed, S. (2017). *Medicamentos antibióticos*. Obtenido de Tu otro médico: https://www.tuotromedico.com/temas/medicamentos_antibioticos.htm
- Ramírez, C. (2016). Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR y Raman. *Journal CIM. Vol. 4. Num. 1, 769-776*.
- Reyes, M. (2002). Actualización de la Técnica de Obtención y Uso del Plasma Rico en Factores de Crecimiento (P.R.G.F.). *Revista Dental de Chile, 25-28*.
- Riquelme, B. (2005). Evaluación de la acción de nuevos polímeros sintéticos sobre las propiedades viscoelásticas de la membrana eritrocitaria. *ANALES AFA Vol.17, 325-327*.
- Rodríguez. (2009). Propiedades químico-estructurales y actividad biológica de la quitosana en microorganismos fitopatógenos. *Revista Chapingo Serie Horticultura, 307-317*.
- Rodríguez. (2012). Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial, 17-21*.
- Sánchez, A. (2007). Síntesis y caracterización de hidrogeles de quitosano obtenido a partir del camarón langostino (pleuroncodes planipes) con potenciales aplicaciones biomédicas. *Revista Iberoamericana de polímeros*.
- Santosh K. (2012). Physiochemical, Optical and Biological Activity of Chitosan-Chromone Derivative for Biomedical Applications. *Int. J. Mol. Sci., 6102-6116*.
- Schwartz, A. (2011). Factores de crecimiento derivados de plaquetas y sus aplicaciones en medicina regenerativa. Potencialidades del uso del ozono como activador. *Revista Española de Ozonoterapia, 54-73*.
- Shevchenko, R. (2010). A review of tissue-engineered skin bioconstructs available for skin reconstruction. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society, 229-258*.
- Sierra, C. (2012). Heridas crónicas, un abordaje integral. *Colegio Oficial de Enfermería de Huesca*.
- Simental, M. (2015). El plasma rico en plaquetas en osteoartritis de rodilla: una alternativa de tratamiento. *Elsevier, 352-358*.
- Vacanti, J. (2001). Principles of tissue engineering. *Elsevier*.
- Valdespino, V. (2013). Estrategias para la regeneración de tejidos: células, inductores bioquímicos, bionanomateriales y bioconstrucciones. Alcances clínicoquirúrgicos. *Universidad Autónoma Metropolitana*.

- Valencia, L. (2016). *Apósitos de polímeros naturales para regeneración de piel*. México: Revista mexicana de ingeniería biomedical.
- Velasco, G. (2011). Apósitos de quitosano para el tratamiento de pie diabético. *Avances en Biomedicina*, 38-41.
- Velázquez de la Cruz, G. (2014). *APROVECHAMIENTO DE LA JAIBA AZUL (CALLINECTES SAPIDUS) EN LA LAGUNA MADRE DE TAMAULIPAS*. México: FOMIX.
- Villareal, E. (2013). Uso del plasma rico en plaquetas: un paradigma en procedimientos quirúrgicos y no quirúrgicos de la región maxilofacial. *Pueblo Cont. Vol. 24*.
- Wasser, S. P. (1999). Medicinal properties of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: current perspectives. *International Journal of Medicinal Mushrooms*, 31-62.
- Xin-peng, D. (2015). Visualizing Peripheral Nerve Regeneration by Whole Mount Staining. *Plos-One*, 1-13.

Anexos

A. Tabla de tubos para extracción de sangre

Tapón	Contenido de tubo	Área de uso	Inversiones
	Hemocultivo	Microbiología	5 veces
	Citrato de sodio	Coagulación (Tiempos de coagulación fibrinógeno, y agregación plaquetaria)	3 a 4 veces
	Gel separador	Química clínica	5 veces
	Sin anticoagulante, con activador de coagulación, con silicón	Química clínica, banco de sangre serología	8 a 10 veces
	Gel separador y trombina	Obtención de suero rápido	5 a 6 veces
	Gel separador y heparina de litio	Química clínica en plasma	5 veces
	Heparina de sodio/litio	Química clínica (urgencias) hematología (fragilidad osmótica)	8 a 10 veces
	EDTAK ₂	Hematología, banco de sangre	8 a 10 veces
	Gel separador y EDTAK ₂	Determinaciones de carga viral	8 a 10 veces
	Oxalato de Potasio/NaF	Química clínica, pruebas de lactato y glucosa	8 veces

Información en base a extractos de los insertos técnicos e Información de los productos BD Vacutainer®

B. Selección de zona para venopunción

Hay dos tipos comunes: el patrón H compuesto por las venas cefálica, cubital mediana y basílica, representan el 70% de los casos. El patrón M, con una distribución de las venas cefálica, cefálica mediana, basílica y basílica mediana.

Las venas cubital mediana y cefálica son las más utilizadas para la extracción, cuando éstas no se encuentran disponibles o son inaccesibles, las venas del dorso de la mano pueden ser utilizadas.

No se deben utilizar zonas alternativas sin la autorización médica, debido al potencial significativo de complicaciones médicas como trombosis o necrosis tisular. Evitar miembros en los que se hayan colocado vías intravenosas, áreas de cicatrices de quemaduras, zonas con hematomas, venas trombosadas, fístulas arteriovenosas, injertos vasculares o cánulas vasculares.

Para el caso de extracción de muestra de sangre en perros, la selección de vena son principalmente yugular, cefálica y safena. Normalmente, se realiza la extracción en la vena cefálica, la que discurre cranealmente por encima de la extremidad delantera. Para sacar sangre hay que canalizar cualquier vena.

C. Biometría Hemática

Antes de la obtención del Plasma Rico en Plaquetas, es necesario solicitar una biometría o hemograma, esta prueba común ofrece información detallada sobre tres tipos de células presentes en sangre: glóbulos rojos (transportan oxígeno y eliminan productos de desecho), glóbulos blancos (combaten infecciones) y plaquetas (detienen hemorragias mediante la formación de coágulos).

Los conteos o mediciones básicas que contempla un hemograma son:

Número de glóbulos rojos (eritrocitos). Se miden en células por microlitro (células/mcl) de sangre, y la cifra normal oscila entre 4.2 a 5.4 millones de células/mcl en mujeres, y 4.7 a 6.1 millones de células/mcL en hombres.

Número de glóbulos blancos (leucocitos). Su unidad también son las células/mcl, siendo habitual el índice entre 4,500 y 10,000 células/mcl.

Conteo de plaquetas. Se registra en unidades por microlitro de sangre (μ /mcl), resultando ideales 150,000 a 400,000 μ /mcl.

Valor de hemoglobina (Hb). Se valora en gramos por decilitro (g/dl), considerándose normales las cifras 12.1 a 15.1 gm/dl para mujeres, y 13.8 a 17.2 gm/dl para hombres.

Valor de hematocrito (Ht). Su conteo es en porcentajes (%), tomándose como ideales 36.1 a 44.3% en mujeres, y 40.7 a 50.3% en hombres.

La obtención de cifras de glóbulos blancos menores a las esperadas (leucopenia) puede ser indicador de: Insuficiencia de la médula ósea, presencia de sustancias tóxicas; enfermedades autoinmunes, como lupus eritematoso, en el que las células de defensa atacan a los tejidos del organismo, Enfermedad del hígado o el bazo, Exposición a radiación.

En tanto, el conteo reducido de plaquetas o trombocitopenia puede deberse a Anemia aplásica, ocasionada por el desarrollo incompleto o defectuoso de las células producidas

en la médula ósea; cáncer o infección en la médula ósea, Cirrosis, Deficiencia de algunos nutrientes como ácido fólico y vitamina B12, Mielodisplasia (afección que altera el funcionamiento de la médula ósea).

Un número de plaquetas más alto de lo normal (trombocitosis), puede ser consecuencia de: Anemia, Leucemia mieloide crónica (cáncer que afecta a la médula ósea), Policitemia vera, Extirpación reciente del bazo.

El conteo elevado de hematocrito puede ser indicio de: Deshidratación, Quemaduras, Diarrea, Policitemia vera, Baja concentración de oxígeno en la sangre.

En contraparte, bajo porcentaje de hematocrito puede ser indicio de: Anemia de varios tipos, Hemorragia o pérdida sanguínea, Insuficiencia de la médula ósea, Hemólisis o destrucción de glóbulos rojos, Cánceres como mieloma múltiple y leucemia, Desnutrición, Artritis reumatoide.

Las cifras más altas de lo normal de hemoglobina pueden tener su origen en: Anemia hemolítica (debida a destrucción prematura de glóbulos rojos), Infecciones, Reacción hemolítica a una transfusión (que ocurre cuando el sistema inmunitario destruye los glóbulos rojos que reciben por donación, al ser de diferente tipo de sangre), Enfermedades que ocasionan alta producción de glóbulos rojos, Padecimientos congénitos del corazón, Cor pulmonale, Formación de cicatrices en el tejido de los pulmones.

Finalmente, los valores bajos de hemoglobina suelen ser indicio de: Anemia de distintos tipos, Pérdida sanguínea o hemorragia. (National Institutes of Health Clinical Center, 2017)

D. Experimentación Animal

LEY DE BIENESTAR ANIMAL DEL ESTADO DE PUEBLA TÍTULO PRIMERO DE LOS PRINCIPIOS GENERALES DE BIENESTAR ANIMAL

CAPÍTULO X DE LA EXPERIMENTACIÓN ANIMAL Y VIVISECCIÓN

ARTÍCULO 46. El uso de animales en actividades de investigación, docencia, pruebas de control de calidad y desarrollo de medicamentos deberá realizarse con apego a las normas aplicables y procurando infringir el menor dolor o estrés posible.

Los experimentos que ocasionen dolor, sufrimiento, daño o ansiedad a un animal, serán limitados al mínimo indispensable, y se deberá verificar previamente, que no existan métodos o procedimientos alternativos disponibles para la obtención de los resultados requeridos; así como los avances científicos existentes al momento de la ejecución del experimento, a efecto de evitar la repetición de experimentos con los mismos resultados.

No podrán realizarse experimentos en los cuales el dolor, sufrimiento, daños o ansiedad provocados al animal, sean desproporcionados en relación con los beneficios que serán obtenidos por los mismos.

ARTÍCULO 47. Las instituciones de educación superior que se apoyen en animales vivos para actividades de investigación o docencia deberán contar con un comité de bioética que establezca los protocolos para dichas actividades.

En las prácticas de experimentación en animal y vivisección, el animal será usado sólo una vez, debiendo estar previamente insensibilizado.

Sólo se podrá utilizar más de una vez, en aquellos casos que por el beneficio a obtener para los seres humanos o para los animales esté plenamente justificado, para lo cual se le proporcionará la atención médica necesaria y será alimentado antes y después de su intervención.

Si las heridas del animal empleado son de consideración, implican mutilación grave, o su desarrollo o supervivencia quedarán comprometidos, serán sacrificados de forma humanitaria sin dilación, al término del proceso experimental.

DEL PROCEDIMIENTO DE INSPECCIÓN Y VIGILANCIA, MEDIDAS DE SEGURIDAD Y SANCIONES.

CAPÍTULO I DISPOSICIONES GENERALES

ARTÍCULO 48. Las disposiciones del presente título se aplicarán en la realización de actos de inspección y vigilancia, ejecución de medidas de seguridad, determinación de sanciones administrativas, procedimientos y recurso administrativo, así como la presentación de la denuncia popular.

Tratándose de asuntos de competencia municipal los Ayuntamientos aplicarán lo dispuesto en el presente Título, así como en la normatividad que expidan en materia de bienestar animal.

E. Glosario

A

aminoglucósidos: Son un grupo de antibióticos bactericidas que detienen el crecimiento bacteriano actuando sobre sus ribosomas y provocando la producción de proteínas anómalas. · 23
angiogénesis: Formación de vasos sanguíneos · 22

B

bacteriostáticas: Agente que inhibe el desarrollo de las bacterias y se basa en los mecanismos de defensa del huésped para la erradicación final de la infección · 25

C

cefalosporinas: Son un gran grupo de antibióticos derivados del hongo Acremonium (anteriormente llamado Cephalosporium) que funcionan de manera similar a las penicilinas · 23
células endoteliales: Es un tipo de célula aplanada que recubre el interior de los vasos sanguíneos y sobre todo de los capilares, formando parte de su pared · 17
células mesenquimales: Son células multipotenciales primitivas, con morfología fibroblastoide, originadas a partir de la capa germinal mesodermal, con la capacidad de diferenciarse en diversos tipos de células, · 19

D

D-glucosamina: Es un amino-azúcar que actúa especialmente como precursor en la glicosilación de las proteínas y de los lípidos. · 19

E

endotelial: Es un tejido que recubre la zona interna de todos los vasos sanguíneos, incluido el corazón, donde se llama endocardio. · 20

Esta técnica es considerada la ideal para conocer un aproximado del tamaño de poro y las características superficiales. La porosidad confiere a los materiales importantes propiedades como una baja densidad, esto supone · 33

F

factor de crecimiento derivado de plaquetas AB: Es una proteína que regula el crecimiento celular y la división celular. PDGF juega un rol significativo, en especial para la angiogénesis, que implica el crecimiento de vasos sanguíneos a partir de tejido vascular existente. · 22

factor de crecimiento transformador beta: Es una proteína que pertenece a la superfamilia de los factores de crecimiento y que presenta multitud de funciones. Entre ellas, destaca su papel en la regulación de la proliferación y diferenciación de varios tipos celulares, pero también de la respuesta inmunitaria. · 22

factor de crecimiento vascular: es una proteína señalizadora implicada en la vasculogénesis (formación de novo del sistema circulatorio embrionario) y en la angiogénesis (crecimiento de vasos sanguíneos provenientes de vasos preexistentes). · 22

fibrina: Proteína fibrosa que resulta de la descomposición del fibrinógeno cuando la sangre se extravasa, y contribuye a la formación del coágulo sanguíneo. · 22

fibroblastos: Es un tipo de célula residente del tejido conectivo propiamente dicho, ya que nace y muere ahí. Sintetiza fibras y mantiene la matriz extracelular del tejido de muchos animales. · 17

fibronectina: Es una glucoproteína de unos 440 kDa que puede presentarse en forma monomérica o dimérica y está presente en la matriz extracelular (MEC) de la mayoría de los tejidos celulares animales · 21

fungistáticas: Agente capaz de suspender el crecimiento y el desarrollo de los hongos, o la germinación de sus esporas · 25

I

Inervación: Acción que produce el sistema nervioso en las funciones de los demás órganos del cuerpo. · 17

M

macrófagos: Son células del sistema inmunitario que se localizan en los tejidos. · 19

matriz extracelular: Es un entramado de moléculas, sobre todo proteínas y carbohidratos, que se disponen en el espacio intercelular y que son sintetizadas y secretadas por las propias células. · 22

megacariocitos: Son células de origen sanguíneo grande en la médula ósea. Dentro de la megacariocitos, la sustancia principal de la célula, conocido como citoplasma, se rompe en pequeños fragmentos para formar lo que son llamadas plaquetas, o trombocitos · 21

mitogénesis: Proceso de inducción de la mitosis o división celular cuando ésta resulta de la duplicación del material genético del núcleo · 20

N

necrosis: Muerte de las células y los tejidos de una zona determinada de un organismo vivo. · 17

P

paliativas: Que sirve para atenuar o suavizar los efectos de una cosa negativa, como un dolor, un sufrimiento o un castigo. · 16

penicilinas: Antibióticos del grupo de los betalactámicos empleados profusamente en el tratamiento de infecciones provocadas por bacterias sensibles · 23

polimixina: Es un antibiótico producido de manera natural por la bacteria *Paenibacillus polymyxa*. · 23

pseudopodia: Es una proyección temporal llena de citoplasma de una membrana celular eucariótica o un protista unicelular · 21

Q

quimiotaxis: Reacción de orientación de los organismos celulares libres como respuesta a un estímulo químico. · 20

quinolonas: Grupo de agentes quimioterapéuticos (agentes con actividad antimicrobiana con toxicidad selectiva) sintéticos, es decir, que no son producidos por microorganismos, a diferencia de los antibióticos. · 23

T

trombina: Enzima de la sangre que cataliza la transformación del fibrinógeno en fibrina durante el proceso de coagulación · 22

V

vancomicina: Es un glucopéptido de estructura compleja que se sintetiza de modo natural por *Nocardia orientalis*. Ejerce su efecto bactericida inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, ya que posee gran afinidad por los precursores de esta estructura. · 23

F. Constancias de contribución con esta investigación



VII Congreso Nacional de Ciencia e Ingeniería en Materiales

H. Puebla de Zaragoza a 4 marzo de 2016

A quien corresponda
P R E S E N T E

El Comité Organizador del VII Congreso Nacional de Ciencia e Ingeniería en Materiales otorga la presente

CONSTANCIA

a:

Mirna López Fuentes

quien presentó la contribución **Obtención de PRP y su aplicación con quitosano para regeneración de piel**, de los autores Mirna López Fuentes, Jesús Reyes Fernández, Pamela Salvador Ramos, M. Alejandra Herrera Pérez, Maura Cárdenas García, J. Antonio Rivera Márquez, M. del Consuelo Mendoza Herrera y G. H. Coccoletzi, en el VII Congreso Nacional de Ciencia e Ingeniería en Materiales celebrado en la Ciudad de Puebla del 2 al 4 de marzo de 2016.

Atentamente
Pensar bien, para vivir mejor



Dr. Heriberto Hernández Coccoletzi
Facultad de Ingeniería Química
Presidente del Comité Organizador



Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de
Superficies y Materiales A. C.

IX International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum
September 26th to 30th, 2016 - Mazatlan, Mexico

Mexico, D.F. 27 July 2016
Reference No: 431- BIO

Mirna López- Fuentes

Dear Author:

On behalf of the Organizing Committee, it is my pleasure to inform you that the abstract entitled:

"Extracelular matrix, Chitosan and PRP in tissue regeneration"

by: **Mirna López- Fuentes, Jesús Reyes Fernandez, Elizabeth León Cruz, Monserrat Alejandra Herrera Pérez, B. Zenteno- Mateo, J. A Rivera- Márquez, M. C. Mendoza- Herrera, M.P. Sampedro, M. Cárdenas García**

Has been accepted as a poster presentation in the symposium of **BIOMATERIALS AND POLYMERS** of the IX International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum 2016.

As a contributor to the conference you are invited to submit your full paper for inclusion in the journal "Superficies y Vacío". Submission of papers can be done during the conference.

ATTE

Dr. Emmanuel Haro Poniatowski
Vocal de Congreso



Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de
Superficies y Materiales A. C.

IX International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum
September 26th to 30th, 2016 - Mazatlan, Mexico

Mexico, D.F. 27 July 2016
Reference No: 433- BIO

Mirna López- Fuentes

Dear Author:

On behalf of the Organizing Committee, it is my pleasure to inform you that the abstract entitled:

"Proposed treatment in wound healing in diabetes patient using activating growth factors and chitosan"

by: **Mirna López- Fuentes, Jesús Reyes Fernández, Monserrat Alejandra Herrera Pérez, Elizabeth León-Cruz, Pamela Salvador, B. Zenteno- Mateo, J. A. Rivera- Márquez, M. C. Mendoza- Herrera, M. P. Sampedro, M. Cárdenas- Garcia**

Has been accepted as a **poster** presentation in the symposium of **BIOMATERIALS AND POLYMERS** of the IX International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum 2016.

As a contributor to the conference you are invited to submit your full paper for inclusion in the journal "Superficies y Vacío". Submission of papers can be done during the conference.

ATTE

Dr. Emmanuel Haro Poniatowski
Vocal de Congreso

[http:// www.smctsm.org.mx/](http://www.smctsm.org.mx/)
Dept. de Física, CINVESTAV; Av. Instituto Politécnico Nacional 2508; Col. San Pedro Zacatenco; 07360 México, D.F.
Tel.: (52) (55) 5061-3828, 5061 3827; Fax: (52) (55) 5747-7096