

# *Platelet Rich Plasma (PRP) for non transfusional use*

International Meeting on PRP  
Regulation  
Brasilia 16-17 August 2018

*José Luis Bueno MD.  
Hematologist  
Hospital Universitario Puerta  
de Hierro-Majadahonda  
(Madrid)*



"Blood Saves Lives," by Jes Schlaikjer, 1948.

# Conflict of Interest Disclosure

I hereby declare the following potential conflicts of interest concerning my presentation:

- Grifols
  - Consultancy
  - Honoraria
- Janssen
  - Consultancy
  - Honoraria
- PRoPosit Bio
  - CEO & Medical Director
- Sanofi
  - Consultancy
  - Honoraria
  - Medical writing
  - Advisory Committees
- Onega+
  - Consultancy

# Índice de la sesión

1. Hemoterapia
2. Introducción a la plaqueta y factores de crecimiento de origen plaquetario
3. Definición de PRP
4. Aplicaciones clínicas del PRP.
5. Estudios de eficacia
6. Métodos de Obtención de PRP
7. Elementos que influyen en la calidad del PRP
8. Almacenamiento y activación del PRP
9. Sistema Abierto/Cerrado
10. Lisado plaquetar
11. Puebas microbiológicas y control de calidad
12. Normativa y Legislación.
13. Resultados en UHNT Puerta de Hierro y H Rosario
14. Estudio de Hemovigilancia
15. PRP alogénico
16. PRP y riesgo tumoral
17. PRP en veterinaria

# José Luis Bueno

<https://www.linkedin.com/in/jose-luis-bueno-19320619/?ppe=1>



*Dona Sangre*  
*le harás feliz :)*

Dr. José Luis Bueno Cabrera  
FEA Hematología y Hemoterapia.  
Servicio de Transfusión-Banco de Sangre  
Y Unidad de Hemoterapia No Transfusional  
Servicio de Hematología  
Hospital Universitario Puerta de Hierro Majadahonda  
c/Joaquín Rodrigo, 2 Majadahonda 28222 (Madrid)

Teléfono: 91 1917551 ext 417551  
Móvil: 638211550 ext 811550  
Fax: 91 1917861

[juseluis.bueno@salud.madrid.org](mailto:juseluis.bueno@salud.madrid.org)

*"Pedes in terra ad sidera visus"*







# SERVICIO DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA





# SERVICIO DE HEMATOLOGÍA Y HEMOTERAPIA



## HOSPITALES

INTEGRADA EN EL BANCO DE SANGRE-SERVICIO DE TRANSFUSIÓN

### El Hospital Puerta de Hierro de Madrid activa una Unidad de Hemoterapia No Transfusional



— MADRID 22 ABR, 2016 - 4:30 PM

El Hospital Universitario Puerta de Hierro de Madrid ha puesto en marcha una Unidad de Hemoterapia no Transfusional (UHNT), integrada en el Banco de Sangre-Servicio de Transfusión, dependiente del Servicio de Hematología del centro, que tiene como objetivo la preparación de productos de origen sanguíneo para su uso fuera del ámbito transfusional.



Algunos de estos componentes son el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y los sueros autólogos que son usados en Traumatología, Cirugía Maxilofacial, Oftalmología y Unidad de Úlceras. Según informa el Hospital, esta terapia se basa en que el plasma de los pacientes y, especialmente las plaquetas, contienen gran

cantidad de factores de crecimiento que tienen la capacidad de acelerar la curación de heridas y estimular la regeneración de los tejidos.

Un ejemplo de este uso terapéutico es su utilización en la curación de úlceras en piel u ojos y el tratamiento de lesiones musculares o tendinosas mediante la infiltración en las zonas de lesión. También se utiliza dentro de quirófano, como un adyuvante que acelera la consolidación de fracturas o estimula la regeneración de los huesos; como ocurre también en su uso en odontología y cirugía maxilofacial.

## SECCION DE HEMOTERAPIA

### AREA DE DONACIÓN

Donación de Sangre 5843

### UNIDAD DE AFÉRESIS TERAPÉUTICA

Aféresis Terapéutica 604  
Progenitores hematopoyéticos 60

### UNIDAD DE HEMOTERAPIA NO TRANSFUSIONAL

Plasma Rico en Plaquetas (PRP)  
397 /960 viales  
Sangrías 470  
Profilaxis anti-D de la embarazada 650

### SERVICIO DE TRANSFUSIÓN-BANCO DE SANGRE

Componentes transfundidos 18921  
Pruebas realizadas  
58571

## AREA DE DONACIÓN

Donación de Sangre 5843

## UNIDAD DE AFÉRESIS TERAPÉUTICA

Aféresis Terapéutica 604  
Progenitores hematopoyéticos 60

## UNIDAD DE HEMOTERAPIA NO TRANSFUSIONAL

Plasma Rico en Plaquetas (PRP)  
397 /960 viales  
Sangrías 470  
Profilaxis anti-D de la embarazada  
650

## SERVICIO DE TRANSFUSIÓN- BANCO DE SANGRE

Componentes transfundidos  
18921  
Pruebas realizadas  
58571

Datos 2017

HOSPITALES

INTEGRADA EN EL BANCO DE SANGRE-SERVICIO DE TRANSFUSIÓN

## El Hospital Puerta de Hierro de Madrid activa una Unidad de Hemoterapia No Transfusional

Like 0 Tweetear WhatsApp G+1 Menéame Print Email

— MADRID 22 ABR, 2016 - 4:30 PM

El Hospital Universitario Puerta de Hierro de Madrid ha puesto en marcha una Unidad de Hemoterapia no Transfusional (UHNT), integrada en el Banco de Sangre-Servicio de Transfusión, dependiente del Servicio de Hematología del centro, que tiene como objetivo la preparación de productos de origen sanguíneo para su uso fuera del ámbito transfusional.



Algunos de estos componentes son el Plasma Rico en Plaquetas (PRP) y los sueros autólogos que son usados en Traumatología, Cirugía Maxilofacial, Oftalmología y Unidad de Úlceras. Según informa el Hospital, esta terapia se basa en que el plasma de los pacientes y, especialmente las plaquetas, contienen gran

cantidad de factores de crecimiento que tienen la capacidad de acelerar la curación de heridas y estimular la regeneración de los tejidos.

Un ejemplo de este uso terapéutico es su utilización en la curación de úlceras en piel u ojos y el tratamiento de lesiones musculares o tendinosas mediante la infiltración en las zonas de lesión. También se utiliza dentro de quirófano, como un adyuvante que acelera la consolidación de fracturas o estimula la regeneración de los huesos; como ocurre también en su uso en odontología y cirugía maxilofacial.

- 17/2/ 2015 to 20/07/2018
- Patients: 786
- PRP procedures: 1028
- PRP vials: 4395
- Medical specialities: 8





Hospital  
Nuestra Señora  
del Rosario



PRoPosit  
sapere aude

Hospital Nuestra Señora del Rosario

Inicio Cuadro Médico Especialidades Servicios Centrales Noticias Artículos Paciente Blog

DR. BUENO CABRERA, JOSÉ LUIS

Médico especialista en Hematología y Hemoterapia. Amplió su formación en el Royal Marsden Hospital de Londres, y es Máster en Metodología de la Investigación y Máster en Oncología Molecular por el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Fue jefe de las Áreas de Aféresis, Extracciones, Fraccionamiento y Distribución entre 1997 y 2007 en el Centro de Transfusión de la Cruz Roja de Madrid. Actualmente es el responsable del Servicio de Transfusión del H. U. Puerta de Hierro-Majadahonda. Desde 2012 es vocal del Comité Científico para la Seguridad Transfusional, designado por el Ministerio de Sanidad. En octubre de 2014 participó dentro de este Comité en la elaboración del "Protocolo para la extracción de plasma de pacientes convalescentes de virus Ebola".

Desde 2003 es uno de los revisores españoles para las revistas Transfusion y Vox Sanguinis; las dos revistas con mayor índice de impacto internacional en el ámbito de la Transfusión.

Ha sido auditor de la Entidad Nacional de Acreditación (ENAC), dependiente del Ministerio de Industria, en auditorías nacionales en el ámbito de la Transfusión. Ha sido el responsable de la implantación de los Estándares JACIE en el Área de Obtención de Progenitores de la Unidad de Trasplante Hematopoyético del Hospital Puerta de Hierro-Majadahonda en 2014.



- 11/ 2013 to 06/2018
- Patients:220
- PRP procedures: 241
- PRP vials: 953
- Medical specialities: 6



# HEMOTERAPIA

*nombre femenino* [L] [SEP] MED [L] [SEP]

Tratamiento médico de algunas enfermedades que se fundamenta en el empleo de sangre o alguno de sus derivados, como el plasma.

“La hemoterapia más corriente es la transfusión sanguínea”

# Hemoterapia Transfusional

## Transfusión

Auto-  
Transfusión

GDF11  
anti-aging

Mesenquimales  
IM-REG

PRP  
sustrato  
cultivos  
celulares

Progenitores  
Hemato  
poyéticos  
TPH

Muestras de  
sangre para  
investigación

Sueros anti-  
infecciosos  
(E. Emergentes)

PRP uso  
clínico

Aféresis  
Terapéutica

IG anti-D  
embarazadas

# Hemoterapia NO Transfusional

Sangrías

1900

2000

2015



Venesection  
(sangrias)

1900

Therapeutic  
apheresis

anti-infectious  
serum  
(Ebola)

Anti-D  
For pregnant

Haematopoietic  
progenitors

PRP for  
local use

Mesenchymal cells

Blood samples  
for research

PRP as  
substrate  
for cell  
culture

GDF11  
anti-aging

# Non Transfusional Hemotherapy

2000

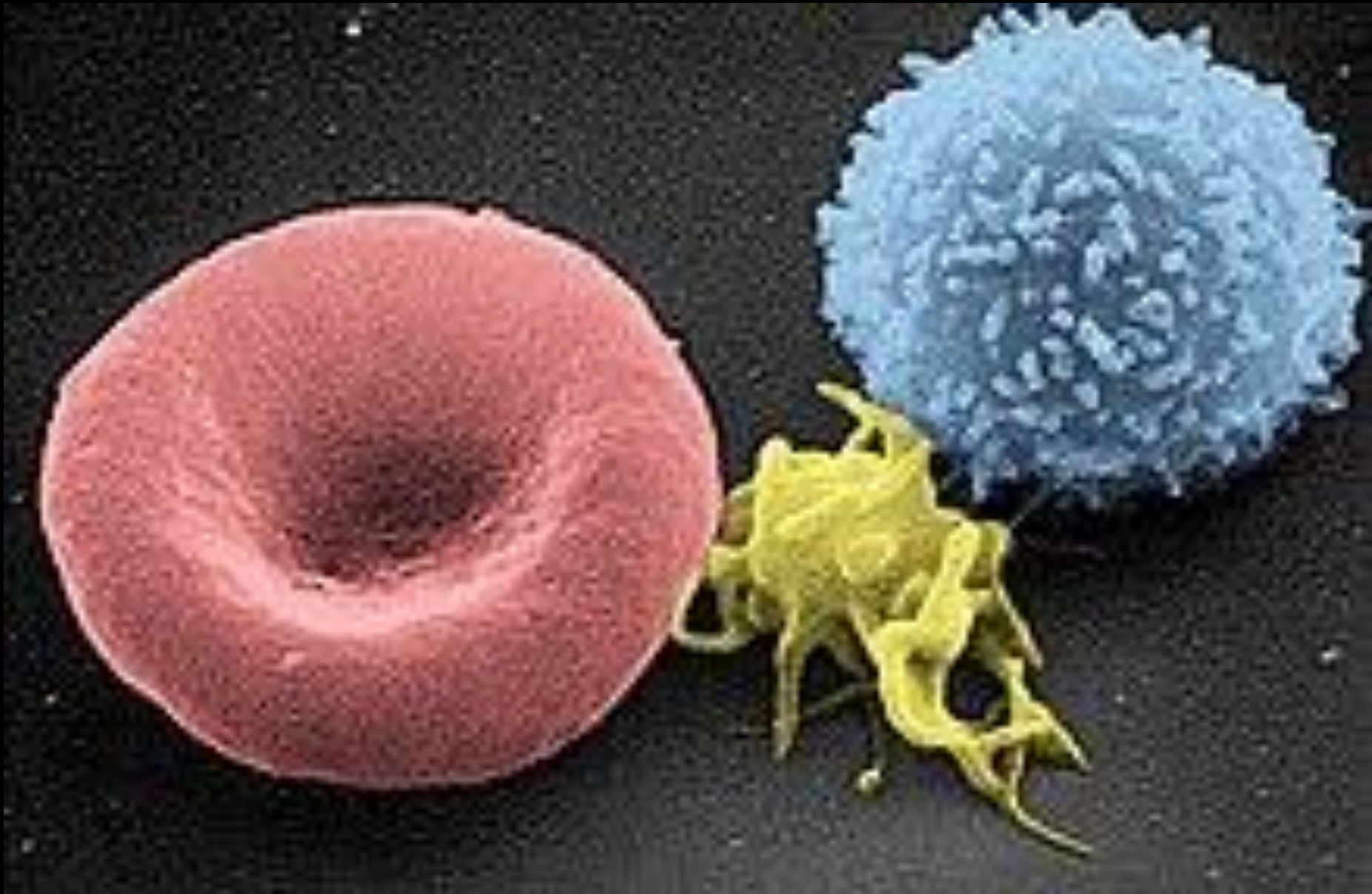
2015

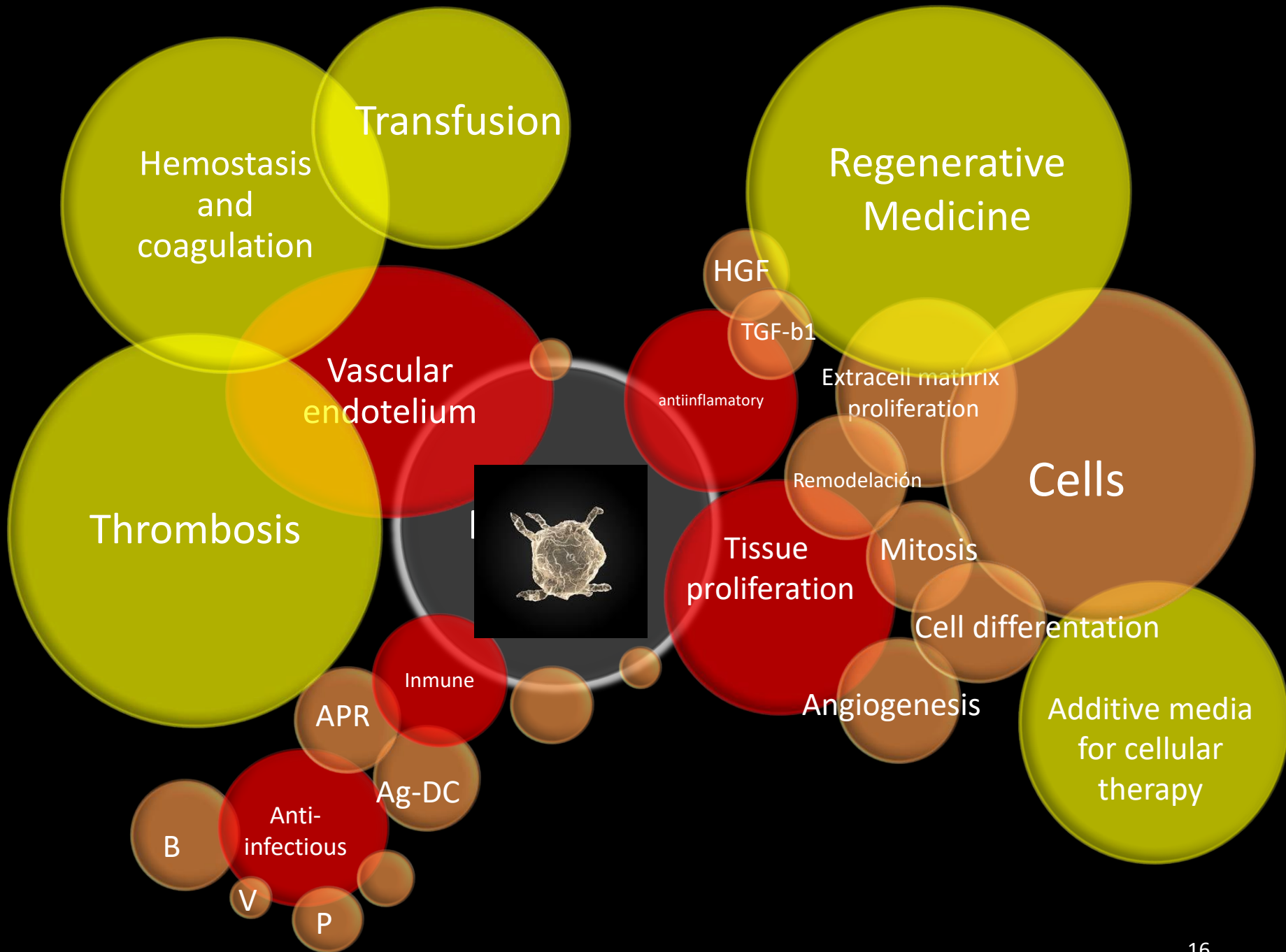
# Introducción a la plaqueta y factores de crecimiento de origen plaquetario

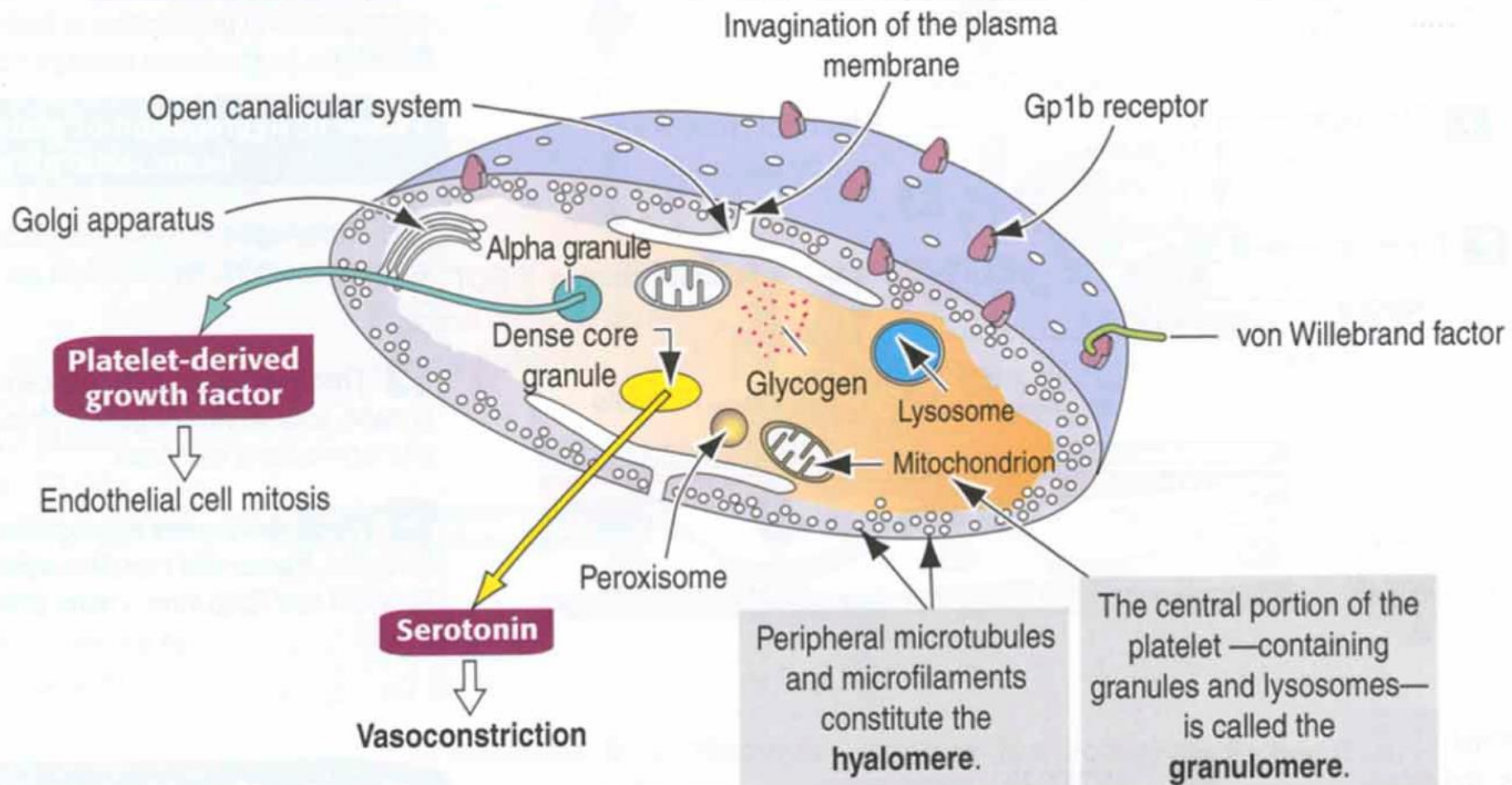












From: Kierszenbaum (2002)



### PDGF

(Platelet derived growth factor)

Cell growth, new generation and repair of blood vessels, collagen production

Platelets release various growth factors

### FGF (Fibroblast growth factor)

Tissue repair, cell growth, collagen production, hyaluronic acid production

### EGF (Epithelial growth factor)

Promotion of epithelial cell growth, angiogenesis, promotion of wound healing

Platelet



### VEGF

Growth and new generation of vascular endothelial cells

### TGF- $\beta$

Growth and neogenesis of epithelial cells and vascular endothelial cells, promotion of wound healing

RESEARCH

Open Access

## Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors

Paola Romina Amable<sup>1\*</sup>, Rosana Bizon Vieira Carias<sup>1</sup>, Marcus Vinicius Telles Teixeira<sup>1</sup>, Ítalo da Cruz Pacheco<sup>1</sup>, Ronaldo José Farias Corrêa do Amaral<sup>2</sup>, José Mauro Granjeiro<sup>3</sup> and Radovan Borojevic<sup>1</sup>

gins [8-11], chondrocytes [12-14], osteoblasts [3,15,16], fibroblasts [17-19] and endothelial cells [20]. Cell proliferation, angiogenesis and cell migration are stimulated, resulting in tissue regeneration. There are also reports confirming that platelets secrete antimicrobial peptides, suggesting an antibiotic effect [21].

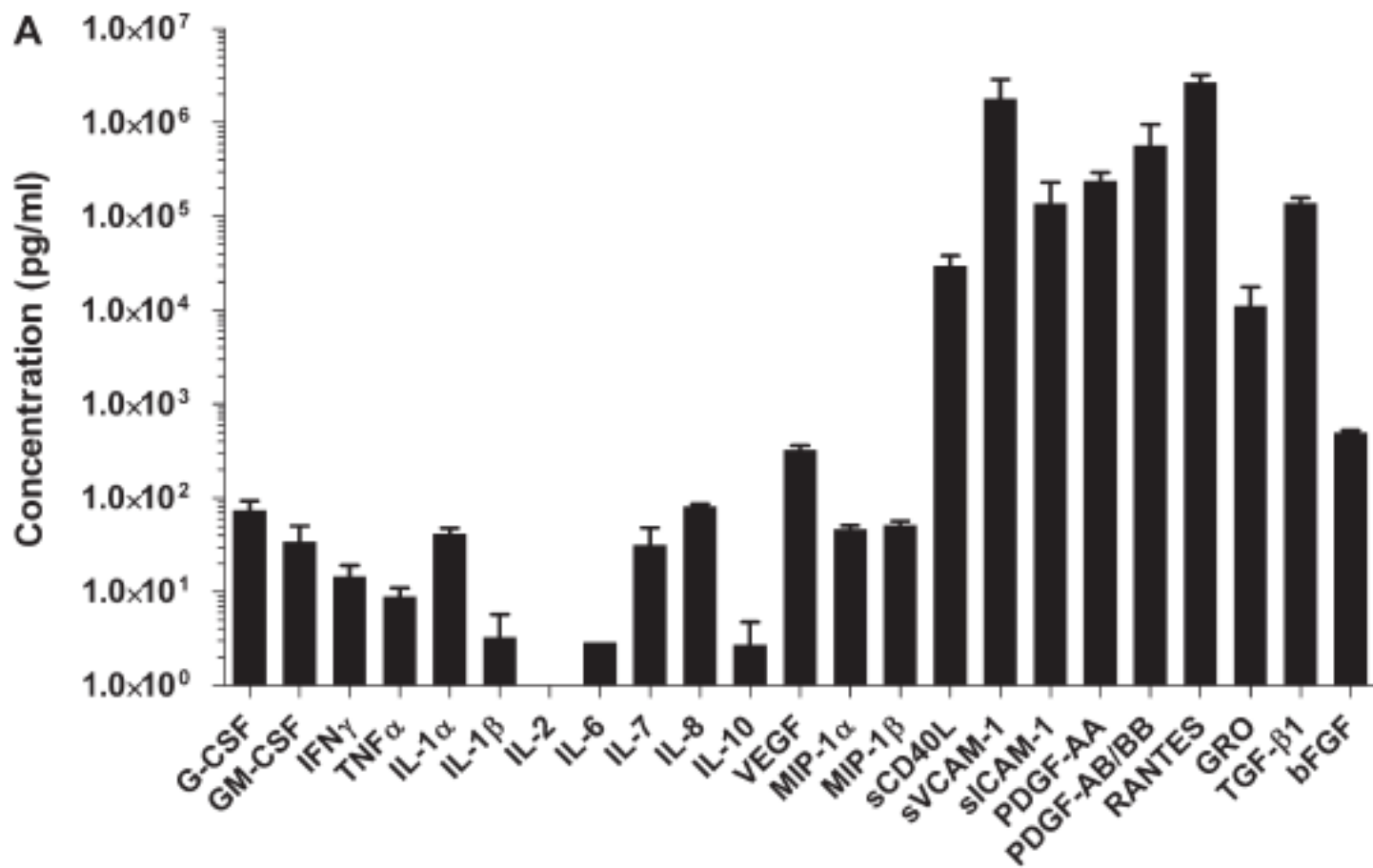
Other properties were already proven for platelets related to their anti-inflammatory and analgesic effects [22-24]. A clinical trial showed that platelet concentrates had an analgesic effect [25] and Asfaha and colleagues showed PAR<sub>4</sub>-mediated analgesic effects *in vitro* [26]. El-Sharkawy and colleagues studied platelet secretions and their effect on macrophage cultures, concluding that platelet concentrates function as an anti-inflammatory agent, because of the high RANTES and LXA<sub>4</sub> concentrations [27].



## Platelet lysate from whole blood-derived pooled platelet concentrates and apheresis-derived platelet concentrates for the isolation and expansion of human bone marrow mesenchymal stromal cells: production process, content and identification of active components

NATALIE FEKETE<sup>1</sup>, MÉLANIE GADELORGE<sup>2</sup>, DANIEL FÜRST<sup>1</sup>, CAROLINE MAURER<sup>1</sup>, JULIA DAUSEND<sup>1</sup>, SANDRINE FLEURY-CAPPELLESSO<sup>2</sup>, VOLKER MAILÄNDER<sup>1</sup>, RAMIN LOTFI<sup>1</sup>, ANITA IGNATIUS<sup>3</sup>, LUC SENSEBÉ<sup>2</sup>, PHILIPPE BOURIN<sup>2\*</sup>, HUBERT SCHREZENMEIER<sup>1</sup> & MARKUS THOMAS ROJEWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Transfusionsmedizin, Universität Ulm und Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immunogenetik Ulm, DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen, Germany, <sup>2</sup>Laboratoire de Thérapie Cellulaire, Etablissement Français du Sang-Pyrénées-Méditerranée Toulouse, France, and <sup>3</sup>Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik, Universitätsklinikum Ulm, Germany



# Platelet derived growth factors. Synergistic & non-selective effect

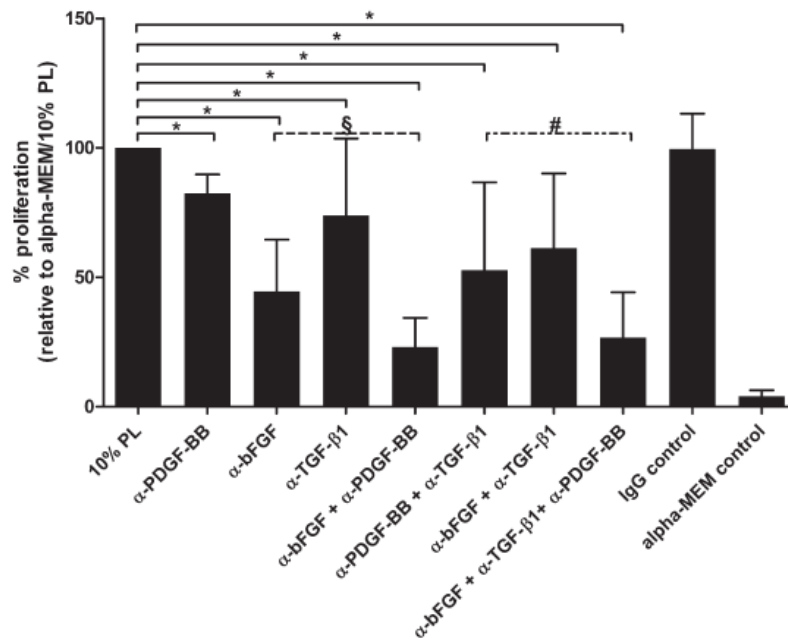


Figure 6. Inhibition of PL components bFGF, PDGF-BB and TGF- $\beta$ 1 by neutralizing antibodies as single factors or in combination significantly reduces MSC proliferation. Data are presented as mean and SD values of quadruplicate wells of three independent experiments. Statistical significance of the effect of inhibition of bFGF, TGF- $\beta$ 1 and/or PDGF-BB on MSC proliferation: \* $P$  < 0.05 compared with MSC cultivated in alpha-MEM/10% PL; # $P$  = 0.039 compared with anti-PDGF-BB + anti-TGF- $\beta$ 1; § $P$  = 0.039 compared with anti-PDGF-BB.  $\alpha$ , anti.

PDGF-BB, bFGF y TGF- $\beta$ 1  
are essential for cell  
proliferation

The other GF have a  
synergistic effect

The selective inhibition of  
each GF do not inhibit the  
cell proliferation; except  
**PDGF-BB**

## SHORT REPORT

© 2016 International Society of Blood Transfusion  
DOI: 10.1111/vox.12438

# Growth differentiation factor 11 (GDF11) – a promising anti-ageing factor – is highly concentrated in platelets

J. L. Bueno,<sup>1</sup> M. Ynigo,<sup>2</sup> C. de Miguel,<sup>1</sup> R. M. Gonzalo-Daganzo,<sup>1</sup> A. Richart,<sup>3</sup> C. Vilches,<sup>4</sup> C. Regidor,<sup>1</sup>  
J. A. García-Marco,<sup>1</sup> E. Flores-Ballester<sup>3</sup> & J. R. Cabrera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Haematology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Spain

<sup>2</sup>Immunology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Spain

<sup>3</sup>Centro de Transfusión, Madrid, Spain

<sup>4</sup>Immunogenetics & Histocompatibility, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro.

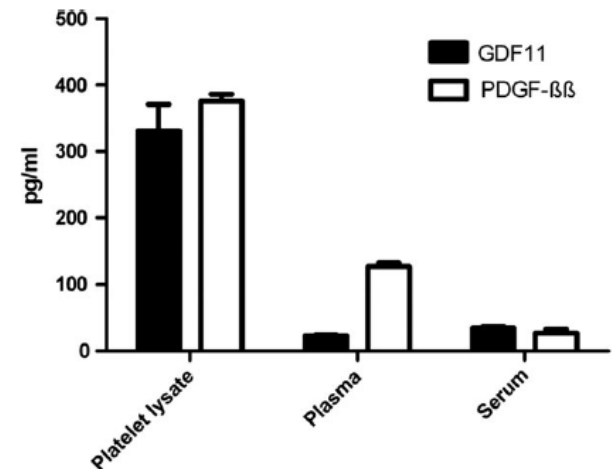
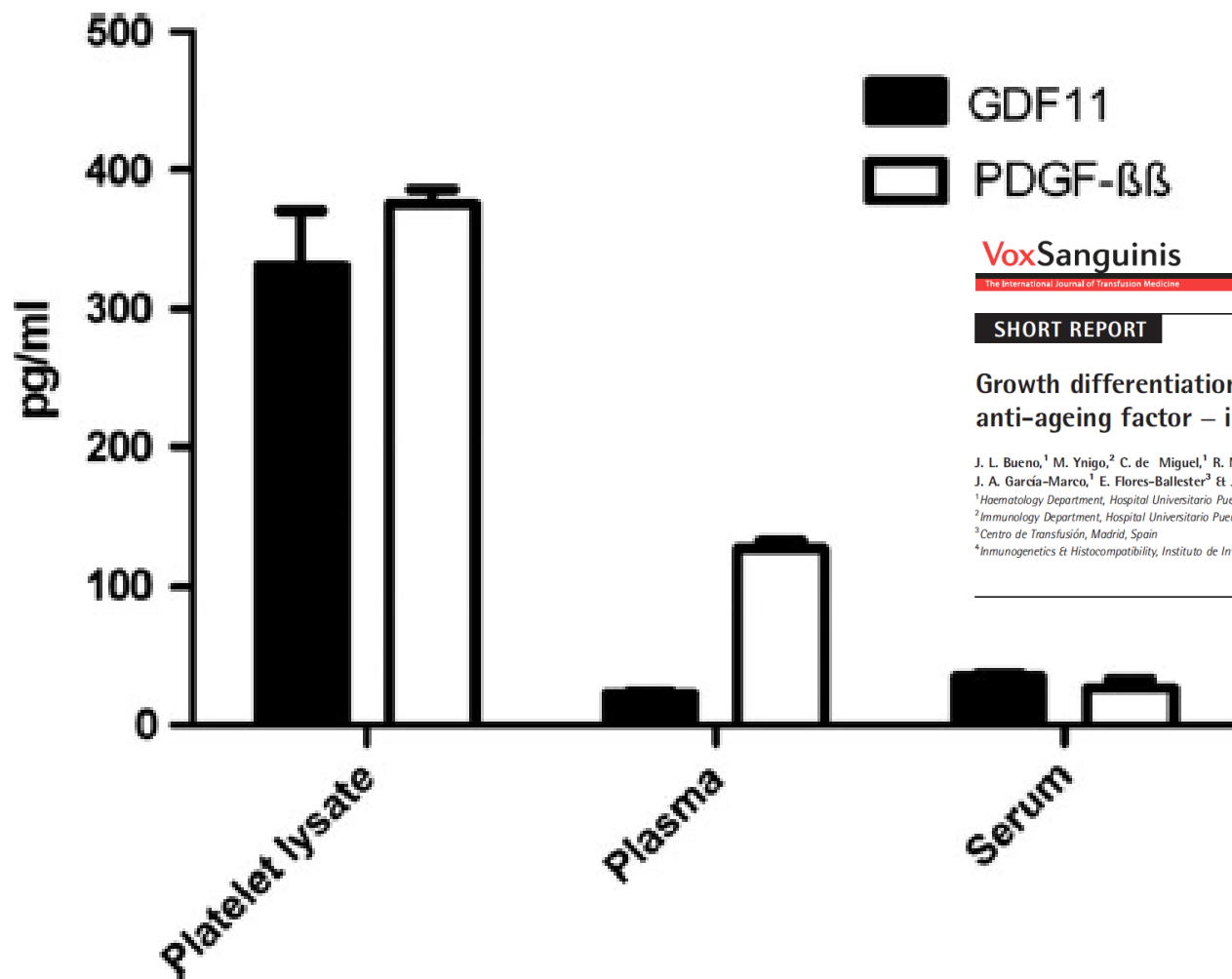


Fig. 1 GDF11 and PDGF-ββ concentrations in platelet lysate (PL), serum and plasma (PPP). The graphs show GDF11 and PDGF-ββ concentrations measured by ELISA. PL contained significantly more GDF11 than serum or plasma ( $P < 0.0001$  in both analyses). Data are displayed as mean  $\pm$  SEM.



**Fig. 1** GDF11 and PDGF-ββ concentrations in platelet lysate (PL), serum and plasma (PPP). The graphs show GDF11 and PDGF-ββ concentrations measured by ELISA. PL contained significantly more GDF11 than serum or plasma ( $P < 0.0001$  in both analyses). Data are displayed as mean  $\pm$  SEM.

**Growth differentiation factor 11 (GDF11) – a promising anti-ageing factor – is highly concentrated in platelets**

J. L. Bueno,<sup>1</sup> M. Ynigo,<sup>2</sup> C. de Miguel,<sup>1</sup> R. M. Gonzalo-Daganzo,<sup>1</sup> A. Richart,<sup>3</sup> C. Vilches,<sup>4</sup> C. Regidor,<sup>1</sup> J. A. García-Marco,<sup>1</sup> E. Flores-Ballester<sup>3</sup> & J. R. Cabrera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Haematology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Spain

<sup>2</sup>Immunology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Spain

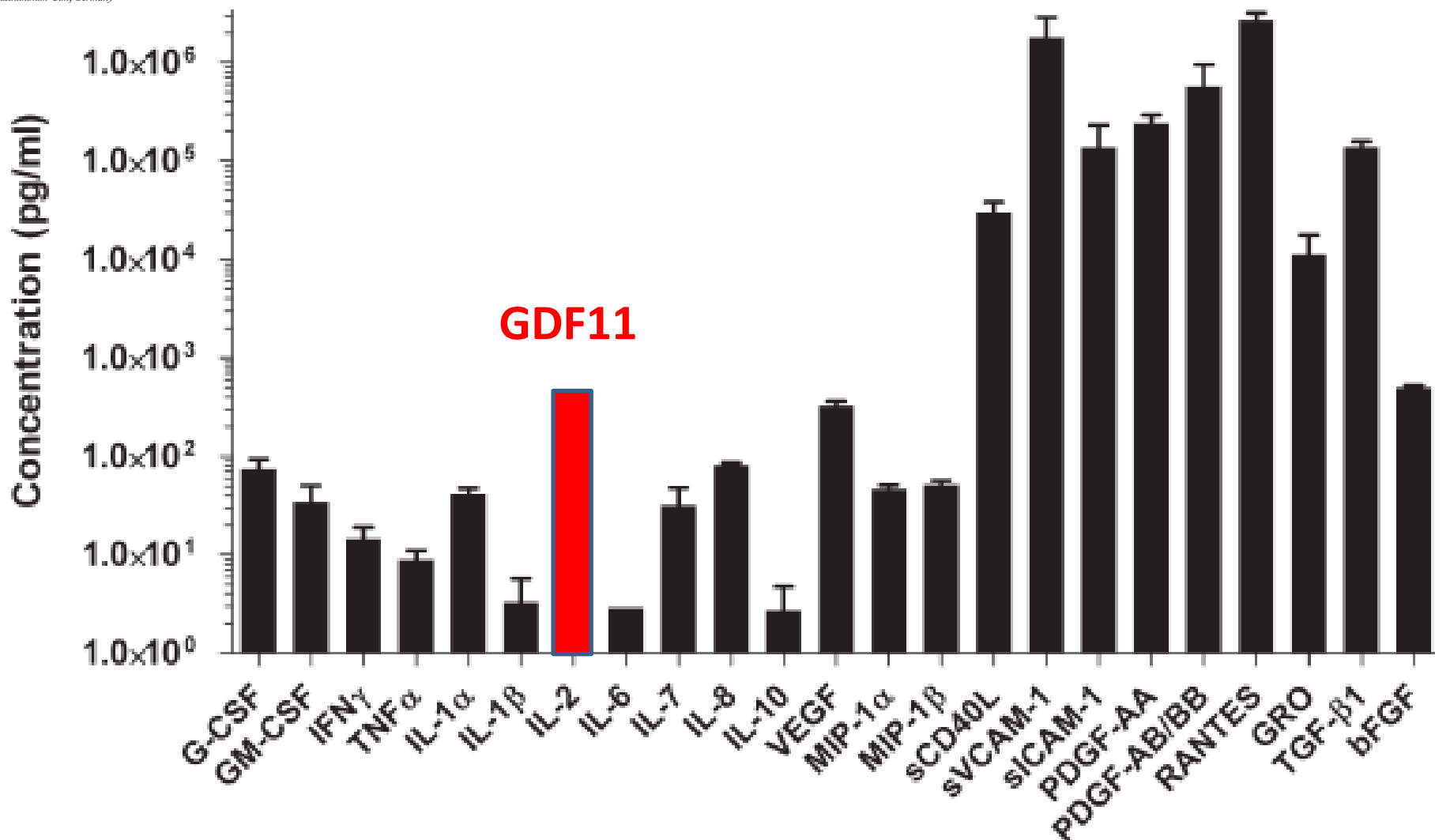
<sup>3</sup>Centro de Transfusión, Madrid, Spain

<sup>4</sup>Immunogenetics & Histocompatibility, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro.

**Platelet lysate from whole blood-derived pooled platelet concentrates and apheresis-derived platelet concentrates for the isolation and expansion of human bone marrow mesenchymal stromal cells: production process, content and identification of active components**

NATALIE FEKETE<sup>1</sup>, MÉLANIE GADELORGE<sup>2</sup>, DANIEL FÜRST<sup>1</sup>, CAROLINE MAURER<sup>1</sup>, JULIA DAUSEND<sup>1</sup>, SANDRINE FLEURY-CAPPELLESO<sup>2</sup>, VOLKER MAILÄNDER<sup>1</sup>, RAMIN LOTFI<sup>1</sup>, ANITA IGNATIUS<sup>2</sup>, LUC SENSEBÉ<sup>2</sup>, PHILIPPE BOURIN<sup>2</sup>, HUBERT SCHREZENMEIER<sup>1</sup> & MARKUS THOMAS ROJEWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Transfusionsmedizin, Universität Ulm und Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immunogenetik Ulm, DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen, Germany, <sup>2</sup>Laboratoire de Thérapie Cellulaire, Etablissement Français du Sang-Pyrénées-Méditerranée Toulouse, France, and <sup>3</sup>Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik, Universitätsklinikum Ulm, Germany





**Tab. 1: Growth factor contents in platelet lysates of different donor batches**

Lysates were prepared from platelet concentrates containing  $\sim 1.5 \times 10^{10}$  platelets/ml. For comparison, two human serum samples were analysed. n.d., not determined.

Lysate Samples	Growth Factors [ng/ml]							Protein [mg/ml]
	EGF	PDGF-AB	TGF- $\beta$ 1	HGF	IGF-1	bFGF	VEGF	
# 56	11.63	57.28	1,179.7	1.17	12.81	0.96	8.46	7.93
# 69	15.34	76.48	533.2	1.38	16.70	1.04	3.47	5.88
# 70	20.55	53.60	1,462.6	1.46	8.90	1.05	10.63	9.03
# 71	13.45	58.26	503.7	2.48	16.13	0.90	19.65	7.10
# 72	16.69	46.34	1,272.5	0.68	9.32	0.81	5.17	7.16
# 73	14.27	51.88	1,084.3	1.22	16.66	0.98	19.99	6.94
# 108	13.44	89.26	518.1	1.65	25.89	1.33	1.27	9.34
# 134	16.40	96.08	669.2	1.39	n.d.	2.55	1.36	12.34
# 162	22.58	118.79	692.9	2.57	n.d.	2.97	1.12	10.55
# 173	37.11	162.75	350.1	1.78	n.d.	4.52	1.01	15.63
# 194	20.27	115.32	191.2	1.28	n.d.	4.41	5.32	14.15
Mean	18.34	84.19	768.9	1.55	15.20	1.96	7.04	9.64
$\pm$ SD	$\pm 6.76$	$\pm 34.86$	$\pm 395.0$	$\pm 0.53$	$\pm 5.34$	$\pm 1.36$	$\pm 6.72$	$\pm 3.04$
Human Serum	1.52	4.64	46.87	0.80	75.96	0.0019	0.063	70.00
	0.02	5.20	33.85	0.62	83.98	0.018	n.d.	70.00

12X 18X 16X 2X 15X 1000X 111X

Received July 6, 2011; accepted in revised form October 18, 2011.

## Alternatives to the Use of Fetal Bovine Serum: Human Platelet Lysates as a Serum Substitute in Cell Culture Media

Caroline Rauch<sup>1</sup>, Elisabeth Feifel<sup>1</sup>, Eva-Maria Amann<sup>2</sup>, Hans Peter Spötl<sup>2</sup>, Harald Schennach<sup>2</sup>, Walter Pfaller<sup>1</sup>, and Gerhard Gstraunthaler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Physiology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria; <sup>2</sup>Central Institute of Blood Transfusion and Immunology, University Hospital, Innsbruck, Austria

**Table 5 Statistical comparison (q-values) of cytokine concentration between plasma and activated PRP2**

Cytokine	PRP2-Ca	PRP2-Thr	Result
PDGF-AA	6.674	5.931	Platelet-secreted factor
PDGF-AB	9.352	9.556	Platelet-secreted factor
PDGF-BB	8.072	7.886	Platelet-secreted factor
IGF-1	0.038	0.302	Plasmatic factor
TGF-β1	5.912	4.143	Platelet-secreted factor
TGF-β2	5.574	3.850	Platelet-secreted factor
TGF-β3			Not detected
EGF	9.243	8.386	Platelet-secreted factor
IL-5	2.568	2.539	Plasmatic factor
IL-6	0.303	0.388	Plasmatic factor
Eotaxin	5.829	6.169	<sup>a</sup>
bFGF	0.101	1.173	Plasmatic factor
G-CSF	0.081	0.097	Plasmatic factor
GM-CSF	0.711	0.716	Plasmatic factor
HGF	2.657	2.469	Plasmatic factor
IFNα	4.188	2.514	Platelet-secreted factor
IL-1β	0.480	0.590	Plasmatic factor
IL-2	0.869	0.882	Plasmatic factor
IL-2R	0.604	0.256	Plasmatic factor
IL-4	4.894	4.003	Platelet-secreted factor
IL-7	1.881	1.739	Plasmatic factor
IL-1RA	1.216	0.856	Plasmatic factor
IL-8	10.590	9.597	Platelet-secreted factor
IL-10	1.433	1.357	Plasmatic factor
IL-12	2.079	1.070	Plasmatic factor

IL-13	3.884	3.901	Platelet-secreted factor
IL-15	0.001	0.337	Plasmatic factor
IL-17	3.911	3.902	Platelet-secreted factor
VEGF			not detected
IFNγ			not detected
IP-10	3.131	3.288	Plasmatic factor
MCP-1	4.247	4.392	<sup>a</sup>
MIG	1.462	1.136	Plasmatic factor
MIP-1α	0.750	1.046	Plasmatic factor
MIP-1β	3.341	2.442	Plasmatic factor
RANTES	0.463	0.839	Plasmatic factor
TNFα	6.752	4.584	Platelet-secreted factor

Determination of platelet-secreted cytokines using the Tukey *post-hoc* test. *q*-value = 3.68 (*k* = 3, *n* = 6,  $\alpha$  = 0.05). *bFGF* basic fibroblast growth factor, *EGF* endothelial growth factor, *GM-CSF* granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, *HGF* hepatocyte growth factor, *IGF-1* insulin-like growth factor-1, *IP-10* IFNγ-induced protein 10, *MCP-1* monocyte chemoattractant protein-1, *MIG* IFNγ-induced monokine, *MIP* macrophage inflammatory protein, *PDGF* platelet-derived growth factor, *PRP2* platelet-rich plasma after the second centrifugation step, *PRP2-Ca* calcium-activated PRP2, *PRP2-Thr*, calcium plus human thrombin-activated PRP2, *TGF* transforming growth factor, *VEGF* vascular endothelial growth factor. <sup>a</sup>Eotaxin and MCP-1 showed statistically significant differences due to concentration reduction but they cannot be classified as platelet-secreted factors because their concentration was reduced, probably due to degradation

Amable et al. *Stem Cell Research & Therapy* 2013, **4**:67  
<http://stemcellres.com/content/4/3/67>



RESEARCH

Open Access

## Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors

Paola Romina Amable<sup>1\*</sup>, Rosana Bizon Vieira Carias<sup>1</sup>, Marcus Vinicius Telles Teixeira<sup>1</sup>, Ítalo da Cruz Pacheco<sup>1</sup>, Ronaldo José Farias Corrêa do Amaral<sup>2</sup>, José Mauro Granjeiro<sup>3</sup> and Radovan Borojevic<sup>1</sup>

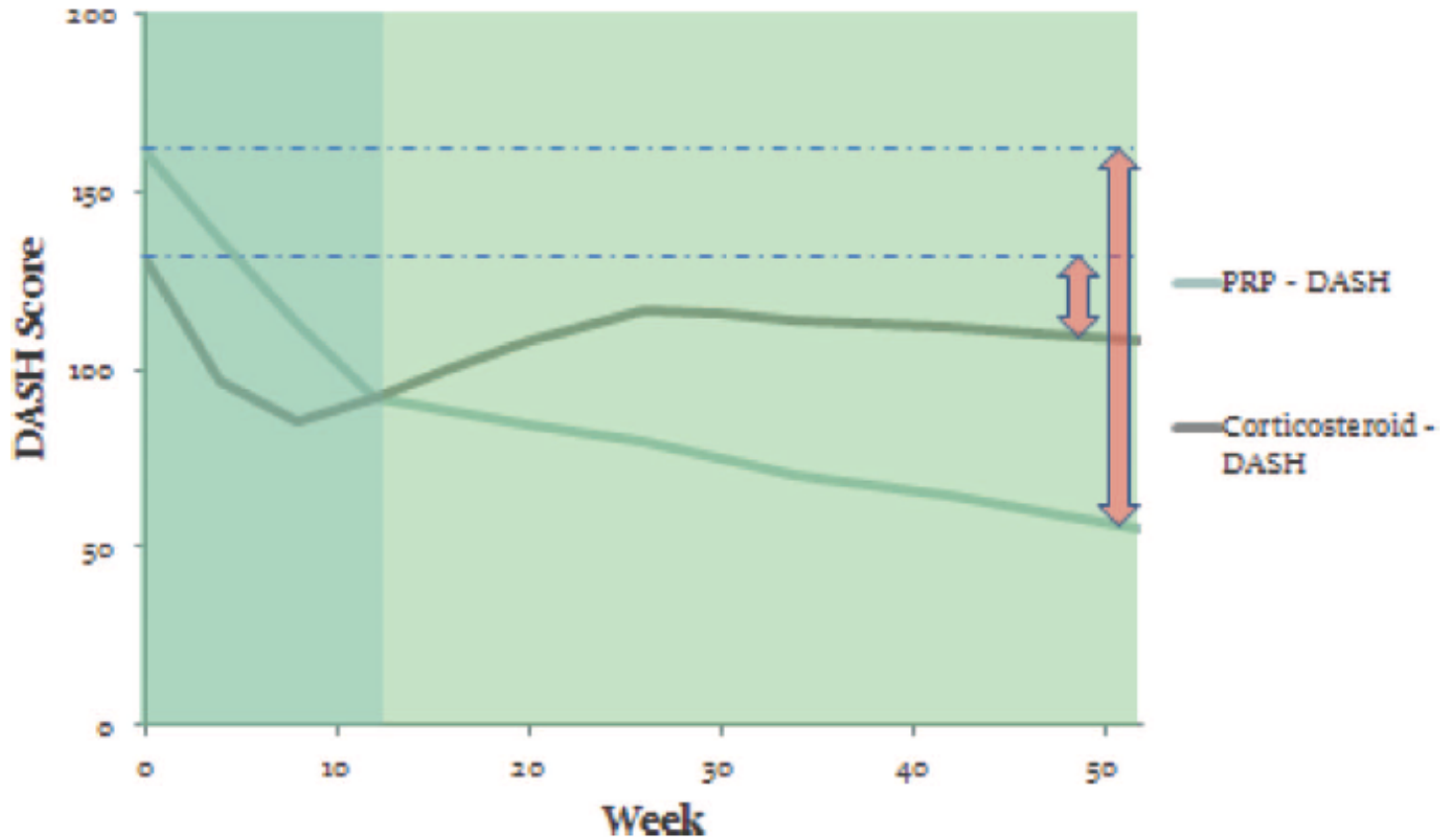


Figure 2. DASH scores at 1 year in the PRP and corticosteroid groups in the Peerbooms et al study.<sup>15</sup>

## Disabilities of the Shoulder, Arm and Hand (DASH) en epicondilitis lateral

# Definición de PRP

Madrid, 23 de mayo de 2013

ASUNTO: RESOLUCIÓN POR LA QUE SE ESTABLECE LA CLASIFICACIÓN DEL USO TERAPÉUTICO NO SUSTITUTIVO DEL PLASMA AUTÓLOGO Y SUS FRACCIONES, COMPONENTES O DERIVADOS, COMO MEDICAMENTO DE USO HUMANO PARA ATENDER NECESIDADES ESPECIALES.

**INFORME/V1/23052013**

## **Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas**

Fecha de publicación: 23 de mayo de 2013

(factores de crecimiento y otras citoquinas) (1-4).

La **definición de PRP** es muy controvertida. La única definición defendida consistentemente en la literatura, define el PRP como *un volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/ $\mu$ L)(1).*

Guide to the quality  
and safety of  
**TISSUES AND CELLS**  
for human application



European Committee  
(Partial Agreement)  
on Organ Transplantation  
(CD-P-TO)

EDQM  
3<sup>rd</sup> Edition  
2017



## 29.5. Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin

### 29.5.1. Introduction

Platelet-derived products are used as source of growth factors and cytokines. They are normally used as autologous products and can be prepared *ex tempore* during the same surgical procedure or in advance. When they are prepared in advance, this should be done by a blood or tissue establishment.

Platelet-rich plasma (PRP) is blood plasma that has been enriched in platelets. As a concentrated source of autologous platelets, PRP contains several different growth factors and other cytokines, in concentrations 5 to 10 times higher than usual, which can be used to stimulate healing of soft tissue by injecting this concentrated plasma in the tissue where healing or effect is desired. There are primarily 3 isomers of platelet-derived growth factor (PDGF) and 1



# Guide to the preparation, use and quality assurance of **BLOOD COMPONENTS**



European Committee  
(Partial Agreement)  
on Blood Transfusion  
(CD-P-TS)

EDQM  
18<sup>th</sup> Edition  
2015

  
European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare | Direction européenne de la qualité du médicament & soins de santé

  
COUNCIL OF EUROPE  
CONSEIL DE L'EUROPE

## 1. Platelets, Recovered, Single Unit

### Definition and properties

*Platelets, Recovered, Single Unit (Rec, SU)* is a platelet component derived from a single *Whole Blood* donation. It contains the majority of the original *Whole Blood* platelet content, suspended in plasma.

*Platelets, Rec, SU* contains more than  $60 \times 10^9$  platelets.

*Platelets, Rec, SU* contains up to  $0.2 \times 10^9$  leucocytes if prepared by the platelet-rich plasma method, and up to  $0.05 \times 10^9$  leucocytes if prepared by the buffy coat method.

*Platelets, Rec, SU* can be used for neonatal and infant transfusion. In order to achieve a 'standard adult dose', 4 to 6 units of *Platelets, Rec, SU* have to be transfused.

### Preparation

#### *Preparation from platelet-rich plasma (PRP)*

A unit of *Whole Blood*, stored for up to 24 hours in conditions validated to maintain the temperature between  $+ 20\text{ }^{\circ}\text{C}$  and  $+ 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ , is centrifuged so that an optimal number of platelets remain in the plasma and the number of leucocytes and red cells are reduced to a defined level. Platelets from PRP are sedimented by hard-spin centrifugation; the supernatant platelet-poor plasma is removed, leaving 50-70 mL of it with the platelets. The platelets are allowed to disaggregate and are then re-suspended in the remnant plasma.

#### *Preparation from buffy coat*

A *Whole Blood* unit, stored for up to 24 hours in conditions validated to maintain the temperature between  $+ 20$  and  $+ 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ , is centrifuged so that platelets are primarily sedimented to the buffy coat layer together with the leucocytes. The buffy coat is separated and processed further to obtain a platelet concentrate. Single buffy coats diluted with plasma are centrifuged so that the platelets remain in the supernatant, but red cells and leucocytes are sedimented to the bottom of the bag.







SCIENCEPHOTOLIBRARY





wiseGEEK

# Plasma Rico en Plaquetas

## MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO

**15514** *REAL DECRETO 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.*

Plaquetas recuperadas, unidad	Volumen	El necesario para garantizar las especificaciones relativas a pH en relación a las condiciones de conservación
	Número de plaquetas	Se admiten variaciones en el número de plaquetas por donación si se encuentran dentro de límites que se ajusten a las condiciones validadas de preparación y conservación
	Contenido en leucocitos	Inferior a $0,2 \times 10^9$ por unidad simple (método PRP) Inferior a $0,05 \times 10^9$ por unidad simple (método capa leucocitaria)
	pH	6,4 – 7,4 corregido para 22 °C, al caducar
Plaquetas recuperadas, unidad, leucodeplecionadas	Volumen	El necesario para garantizar las especificaciones relativas a pH en relación a las condiciones de conservación
	Número de plaquetas	Se admiten variaciones en el número de plaquetas por donación si se encuentran dentro de límites que se ajusten a las condiciones validadas de preparación y conservación
	Contenido en leucocitos	Inferior a $1 \times 10^6$ por unidad
	pH	6,4 – 7,4 corregido para 22 °C, al caducar

# Guidelines for the Use of Platelet Rich Plasma

Presented by  
The International Cellular Medical Society

## Platelet Rich Plasma: Definition and Preparation Considerations

By definition, PRP must contain a higher concentration of platelets than baseline, however an increase in platelets is a very gross description of PRP and does not accurately describe the variability among different types of PRP. There are several parameters that need to be taken into account when considering PRP, including: platelet concentration above baseline, whether or not leucocytes are included, whether or not the PRP has been anticoagulated and whether it requires exogenous activation.

Platelet count is the first variable to consider. Absolute platelet count varies depending on the platelet concentration in the subjects' peripheral blood. PRP devices can be usually divided into lower (2.5 - 3 times baseline concentration) and higher (5 - 9 times baseline concentration) systems. It would seem intuitive that a higher platelet count would yield more growth factors and better clinical results, however, this has not yet been determined. Graziani et al suggested that the optimal concentration of PRP was 2.5x baseline and above this there may be an inhibitory effect (4). More research is needed.



## Platelet Lysate as Replacement for Fetal Bovine Serum in Mesenchymal Stromal Cell Cultures

Karen Bieback

Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University, German Red Cross Blood Service Baden-Württemberg – Hessen, Mannheim, Germany

### *Thrombocyte Concentration*

Crucial for manufacturing MSC is the concentration of thrombocytes which is directly related to the growth factor concentration. Lange et al. [84] evaluated different thrombocyte concentrations as 5% supplement in basal medium to evaluate the effect on MSC proliferation: 1.5, 1.0, 0.75, and  $0.5 \times 10^9/\text{ml}$ . It became obvious that a platelet concentration below  $1.5 \times 10^9/\text{ml}$  significantly reduced the pro-proliferative effect.

	$\times 10^6/\text{ml}$	$\times 10^9/\text{ml}$
Normal platelet count	150-350	0,15-0,335
Desired plt count in PRP	1500	1,5
	10X	

RESEARCH

Open Access

# Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors

Paola Romina Amable<sup>1\*</sup>, Rosana Bizon Vieira Carias<sup>1</sup>, Marcus Vinicius Telles Teixeira<sup>1</sup>, Ítalo da Cruz Pacheco<sup>1</sup>, Ronaldo José Farias Corrêa do Amaral<sup>2</sup>, José Mauro Granjeiro<sup>3</sup> and Radovan Borojevic<sup>1</sup>

## Abstract

**Introduction:** Platelet-rich plasma (PRP) is nowadays widely applied in different clinical scenarios, such as orthopedics, ophthalmology and healing therapies, as a growth factor pool for improving tissue regeneration. Studies into its clinical efficiency are not conclusive and one of the main reasons for this is that different PRP preparations are used, eliciting different responses that cannot be compared. Platelet quantification and the growth factor content definition must be defined in order to understand molecular mechanisms behind PRP regenerative strength. **Standardization of PRP preparations is thus urgently needed.**



# ¿Qué es Plasma Rico en Plaquetas (PRP)?

- Es un **producto sanguíneo**
- Preparado (generalmente) a partir de sangre del propio paciente (autólogo)
- Que se obtiene tras la separación de las plaquetas del resto de componentes celulares
  - **Bajo o nulo contenido en leucocitos y/o hematíes**
- Que contiene una concentración de plaquetas superior a  **$700 \times 10^6$**  plaquetas por ml. Idealmente alrededor de  **$1000 \times 10^6$  /ml**
  - Independientemente de las plaquetas basales del paciente
- Que el método de procesamiento permite asegurar la **integridad de los factores de crecimiento (FC)** contenidos en los gránulo plaquetarios
- Que puede ser usado **en Hemoterapia Transfusional o Hemoterapia No transfusional. (HNT)**

# ¿Qué **NO** es Plasma Rico en Plaquetas (PRP)?

- Un producto en el que se desconoce el contenido en plaquetas
  - y de otras células; leucocitos y hematíes
- Un producto en el que se desconoce el contenido en factores de crecimiento plaquetarios

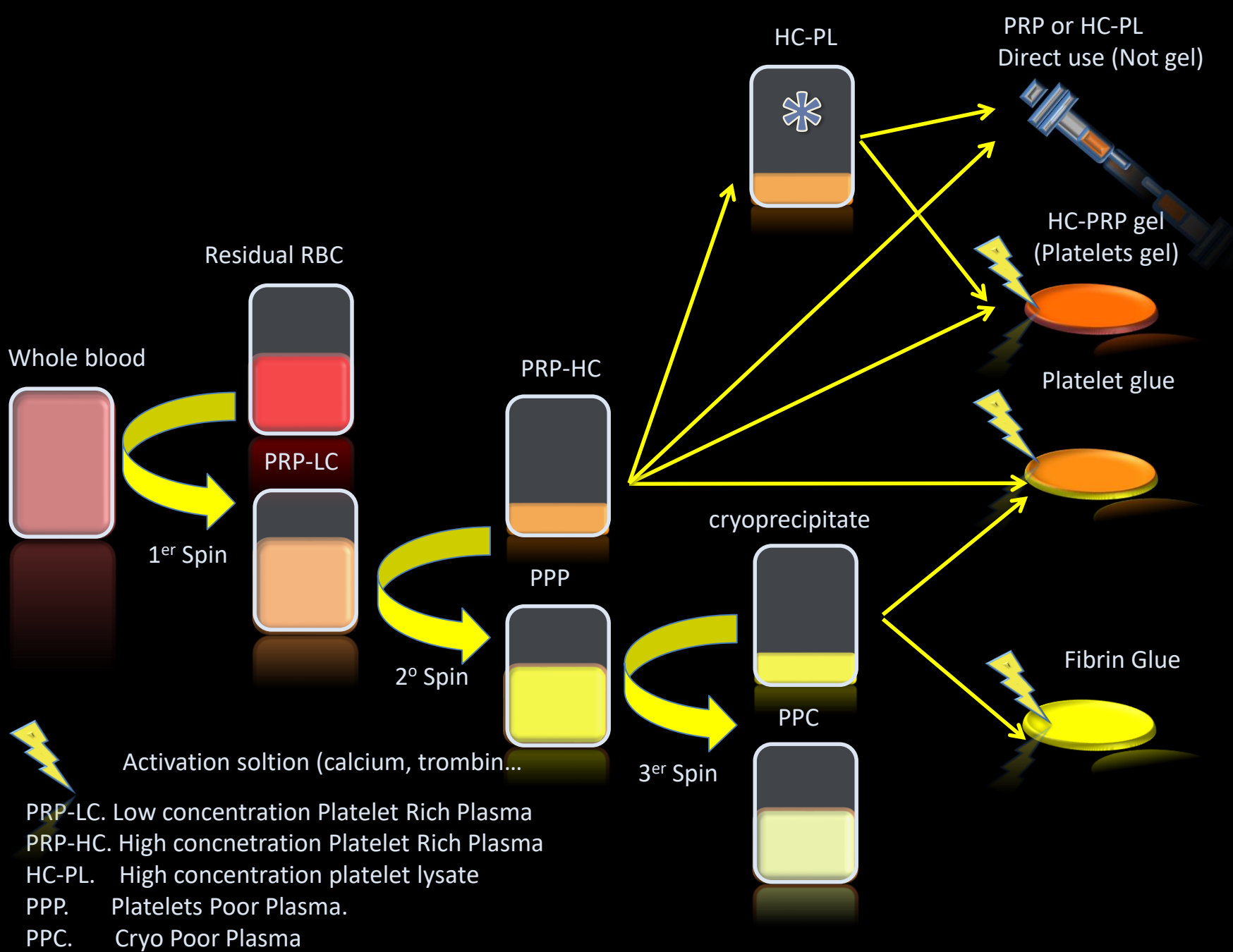
# Otros productos sanguíneos usados en Hemoterapia No Transfusional

- PRP de baja concentración
  - Concentración de plaquetas superior a 10 y menor a 700 x  $10^6$  plaquetas por ml
- Plasma Pobre en Plaquetas (PPP)
  - Concentración de plaquetas inferior a  $10 \times 10^6$  plaquetas por ml
- Crioprecipitado
- Plasma Pobre en Plaquetas sin crioprecipitado
- Cola de Fibrina (Fibrin Glue)
- Cola de Plaquetas



# Otros productos sanguíneos usados en Hemoterapia No Transfusional con denominaciones **equívocas** o **comerciales**

- Plasma Rich in Growth Factors (PRGF)=PRP de baja concentración
- Fibrina rica en Leukocyte and Platelet (L-PRF) = coágulo de sangre



# Aplicaciones clínicas del PRP

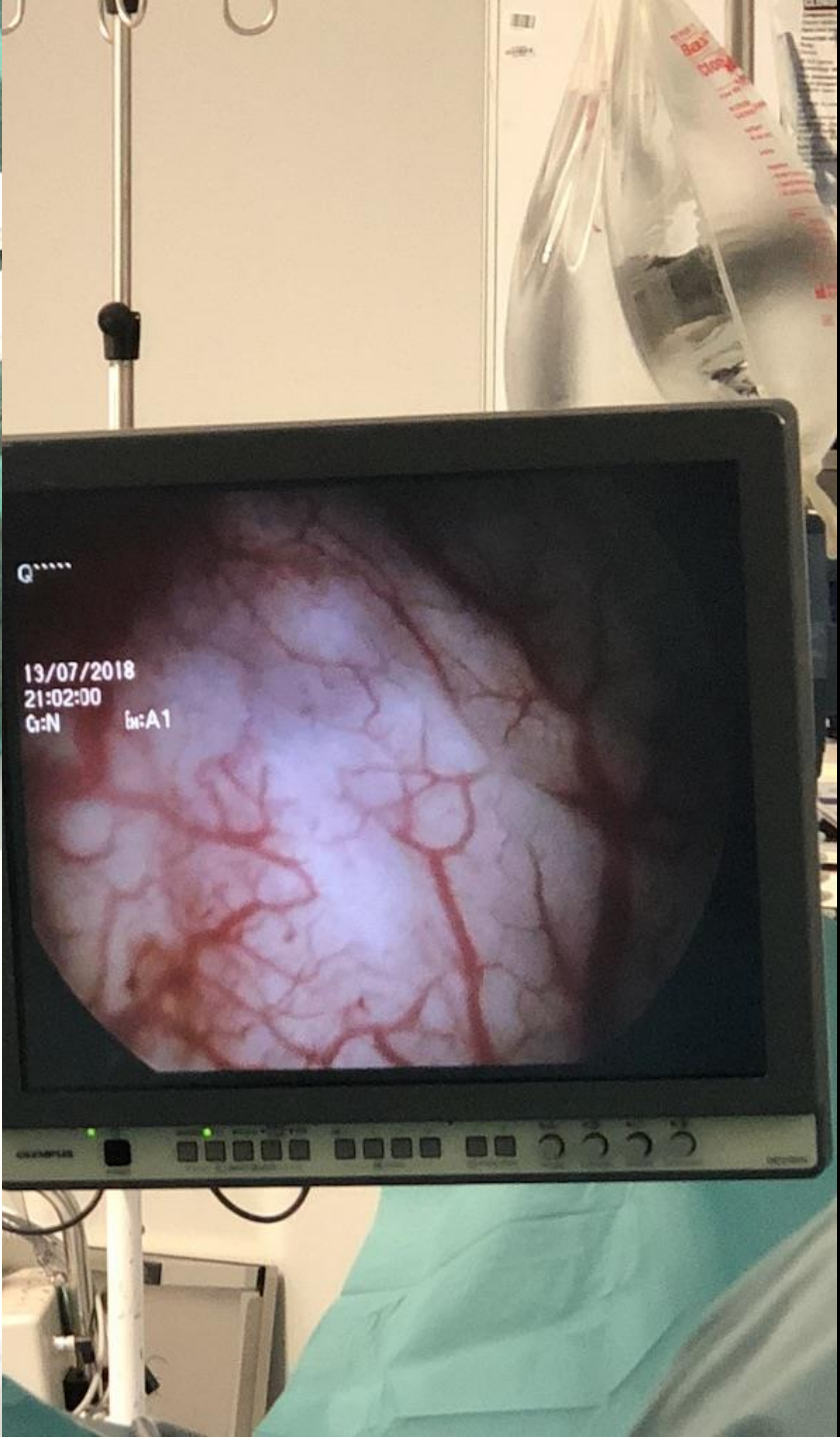


 **Hospital Universitario**  
**Puerta de Hierro**  
**Majadahonda**  
SaludMadrid  
Comunidad de Madrid















**INFORME DE EVALUACIÓN: PI17 - Proyectos de investigación en salud (AES 2017). Modalidad proyectos en salud.**

EXPEDIENTE: PI17/02001  
INVESTIGADOR PRINCIPAL: MARTINEZ SALAMANCA, JUAN IGNACIO  
CENTRO DE REALIZACIÓN: INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA DEL HOSPITAL UNIV. PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA (IDIPHIM)  
TÍTULO: Evaluación clínica del uso de plasma rico en plaquetas (PRP autólogo) en el tratamiento de la disfunción eréctil vasculogénica: ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado

a) Valoración del equipo de investigación (0-35):	30,00
b) Valoración del proyecto (0-65):	56,00
<b>PUNTUACIÓN TOTAL:</b>	<b>86,00</b>

El proyecto aborda evaluar la eficacia y seguridad de la inyección intracavernosa del plasma rico en plaquetas en el tratamiento de la disfunción eréctil y determinar los posibles mecanismos implicados. El proyecto tiene interés y se plantea en un centro hospitalario especializado, está bien elaborado, es innovador y trascendente. El IP es un experto en la temática propuesta y posee buena trayectoria científica. El equipo es solvente lo que otorga máximas garantías de éxito.

FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA DEL HOSPITAL UNIV. PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA (IDIPHIM)	HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	G83726968	PI17/01926	Estudio de las implicaciones diagnósticas y terapéuticas de la identificación de un subtipo TEA caracterizado por la presencia de disfunción mitocondrial	27.107.465A.758	62.920,00 €	30.250,00 €	18.150,00 €	14.520,00 €
FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA DEL HOSPITAL UNIV. PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA (IDIPHIM)	HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	G83726968	PI17/01941	DIAGNOSTICO ETIOLOGICO DE LOS TRASTORNOS DE CONDUCCION AVANZADOS	27.107.465A.758	256.520,00 €	60.500,00 €	98.010,00 €	98.010,00 €
FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA DEL HOSPITAL UNIV. PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA (IDIPHIM)	HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	G83726968	PI17/01977	Utilidad Clínica de la Biopsia Líquida en el paciente con cáncer de pulmón no microcítico con translocación EML4-ALK	27.107.465A.758	56.870,00 €	18.150,00 €	18.150,00 €	20.570,00 €
FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	INSTITUTO DE INVESTIGACION SANITARIA DEL HOSPITAL UNIV. PUERTA DE HIERRO MAJADAHONDA (IDIPHIM)	HOSPITAL PUERTA DE HIERRO	G83726968	PI17/02001	Evaluación clínica del uso de plasma rico en plaquetas (PRP autólogo) en el tratamiento de la disfunción eréctil vasculogénica: ensayo aleatorizado, doble ciego y controlado	27.107.465A.758	111.320,00 €	60.500,00 €	25.410,00 €	25.410,00 €
FUNDACION INVESTIGACION BIOMEDICA HOSPITAL RAMON Y CAJAL	INSTITUTO RAMON Y CAJAL DE INVESTIGACION SANITARIA (IRYCIS)	HOSPITAL RAMON Y CAJAL	G83726984	PI17/00115	Establecimiento de la Microbiota Intestinal y Pulmonar en Neonatos con Fibrosis Quística como Factor Pronóstico para el Tratamiento Antimicrobiano y Antiinflamatorio	27.107.465A.758	98.615,00 €	36.300,00 €	37.207,50 €	25.107,50 €





# Estudios de eficacia



Antipirético  
Analgésico  
Anti-inflamatorio  
Antiagregante plaquetario  
Reduce el riesgo de Cáncer de colon

Riesgo de sangrado  
Riesgo de úlcera digestiva  
Síndrome De Reye



Antipirético  
Analgésico  
Anti-inflamatorio  
Antiagregante plaquetario  
Reduce el riesgo de Cáncer de colon



Riesgo de sangrado  
Riesgo de úlcera digestiva  
Síndrome De Reye

Antipirético

Analgésico

Anti-inflamatorio

Antiagregante plaquetario

Reduce el riesgo de Cancer de colon

Riesgo de sangrado

Riesgo de úlcera digestiva

Síndrome De Reye







Antipirético

Analgésico

Anti-inflamatorio

Antiagregante plaquetario

Reduce el riesgo de Cancer de colon

Riesgo de sangrado

Riesgo de úlcera digestiva

Síndrome De Reye

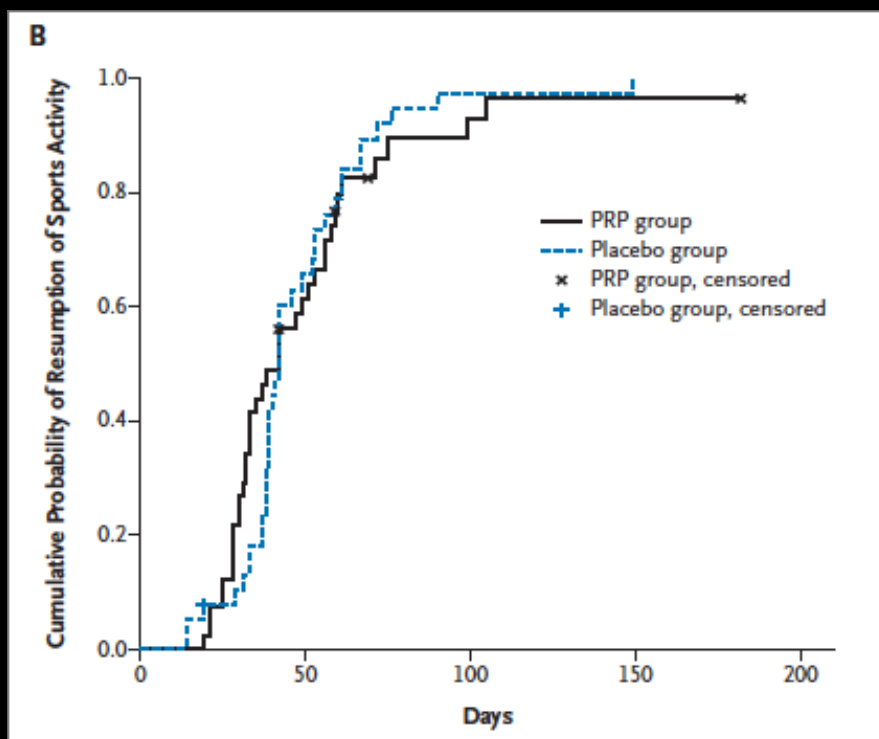


Antipirético  
Analgésico  
Anti-inflamatorio  
Antiagregante plaquetario  
Reduce el riesgo de Cancer de colon

Riesgo de sangrado  
Riesgo de úlcera digestiva  
Síndrome De Reye



# Platelet-Rich Plasma Injections in Acute Muscle Injury



**Figure 1. Timing of Resumption of Sports Activity after Acute Hamstring Injury.**

Panel A shows a scatter plot of the number of days that were required for patients to resume their sports activity in the group receiving injections of platelet-rich plasma (PRP) and the placebo group. Panel B shows Kaplan-Meier curves for the cumulative probability of a resumption of sports activity. Data for patients who had a non-hamstring injury before they resumed their sports activity were censored at the time of this injury.

N ENGL J MED 370;26 NEJM.ORG JUNE 26, 2014

Although the 95% confidence interval still allows for a small chance that there was a clinically relevant between-group difference, our study demonstrated no benefit for intramuscular PRP injections, as compared with placebo injections, in patients with acute hamstring injuries.

Gustaaf Reurink, M.D.

Gustaaf Reurink, M.D.

Erasmus Medical Center  
Rotterdam, the Netherlands  
g.reurink@erasmusmc.nl

Gert Jan Goudswaard, M.D.

Aspetar Qatar Orthopedic and Sports Medicine Hospital  
Doha, Qatar

Maarten H. Moen, M.D., Ph.D.

University Medical Center Utrecht  
Utrecht, the Netherlands

The use of autologous platelet-rich plasma in the orthopedic setting

Claudia S. Cohn,<sup>1</sup> Evelyn Lockhart,<sup>2</sup> and J. Jeffrey McCullough<sup>1</sup>

1812 TRANSFUSION Volume 55, July 2015

TABLE 2. RCTs of aPRP and their findings

First author	Trial	Trial design	Number	Findings
<i>A. RCTs and a controlled cohort study of aPRP treatment for lateral epicondylitis</i>				
Mishra	aPRP vs. bupivacaine-epinephrine	Controlled cohort	15/5	At 4 and 8 weeks a reduction in pain reported; however, three of five control subjects withdrew rendering data interpretable.
Peerbooms	aPRP vs. corticosteroid	RCT	51/49	Reduced pain and increased function; significantly better than controls.
Krogh	aPRP vs. saline vs. corticosteroid	RCT	20/20/20	No significant differences reported for aPRP.
Thanasas	aPRP vs. autologous whole blood	RCT	14/14	aPRP superior to whole blood for short-term pain control.
<i>B. RCTs of aPRP treatment for Achilles tendinopathy</i>				
De Vos	aPRP and exercise vs. saline and exercise	RCT	27/27	No significant difference between aPRP and placebo injections at 1-year follow-up.
De Jonge	aPRP vs. saline using de Vos cohort at 1-year follow-up	RCT	27/27	No clinical or ultrasound superiority demonstrated with RP vs. placebo at 1-year follow-up.
<i>C. RCTs of aPRP treatment for ACL healing</i>				
Orrego	aPRP vs. no treatment vs. bone plug vs. aPRP + bone plug	RCT	26/27/28/27	After 6 months there were differences detected on MRI, but no significant differences associated with aPRP.
Nin	aPRP vs. saline using de Vos cohort at 1-year follow-up	RCT	50/50	After 24 months no clinical or biomechanical effect of aPRP found.
<i>D. RCTs of aPRP treatment for rotator cuff repairs</i>				
Randelli	aPRP vs. no treatment in surgery	RCT	26/27	Increased strength of external rotation when aPRP is used in Grade 1 and 2 repairs ( $p < 0.05$ ). Pain reduced at 30 days in aPRP group, but no difference at 3-24 months.
Weber	aPRP vs. no treatment in surgery	RCT	30/30	aPRP did not significantly improve perioperative morbidity, clinical outcomes, or structural integrity.
Rodeo	aPRP vs. no treatment in surgery	RCT	40/39	aPRP had no effect on tendon healing or strength of clinical outcome.
Castricini	aPRP vs. no treatment in surgery	RCT	43/45	aPRP did not improve healing compared to control.
Jo	aPRP vs. no treatment in surgery	RCT	20/18	Lower retear rate and better shoulder function with aPRP. No differences in pain or strength.



Platelet-rich plasma injections: out of control and on the loose?

1596 TRANSFUSION Volume 55, July 2015

## ARE AUTOLOGOUS PRP INJECTIONS CLINICALLY EFFICACIOUS?

Cochrane Reviews have concluded that insufficient evidence supports the use of autologous PRP in treating chronic wounds, long-bone healing, and musculoskeletal soft tissue injuries.<sup>2-4</sup> Despite insufficient evidence, patients with osteoarthritis of the knee are often offered autologous PRP injections in an attempt to delay a knee replacement, only after steroid injections and hyaluronic acid injections have failed to provide relief. The practice

### Platelet-rich plasma injections: out of control and on the loose?

1596 TRANSFUSION Volume 55, July 2015

#### CONCLUDING THOUGHTS

Physicians familiar with the TM function of the laboratory are all too familiar with QC, process control, and competency checklists. The problem with autologous PRP is the lack of laboratory involvement and the operators of the autologous PRP device who are often unfamiliar with QC, process control, and competency checklists. The 510(k) clearance of autologous PRP devices indicates the device is safe and that the performance of the device is substantially equivalent to a predicate PRP device. While the device may be “controlled,” the PRP product is not. There is significant variability in the PLT content of PRP products depending upon the device used for manufacture.<sup>9</sup> There is no clear guidance on the minimal PLT content in

**TABLE 1. Manufacturers of aPRP and final product**

Procedure and trials	Manufacturer*	Starting volume of whole blood	Fold enrichment of PLT fraction	PLT count after procedure	Activating agent
Lateral epicondylitis	GPS systems				None
Mishra <sup>3</sup>		55 mL	5.39-5.5×	3.31 × 10 <sup>6</sup> /2-3 mL	
Peerbooms <sup>4</sup>		27 mL	Not reported	1,292,500/mL	
Krogh <sup>40</sup>		27 mL	Reported†		
Thanasas <sup>41</sup>		27-55 mL	5.5×		
Chronic Achilles tendinopathy	GPS systems				None
de Vos <sup>1</sup>		54 mL	Not reported	Not reported	
de Jonge <sup>42</sup>		54 mL	Not reported	Not reported	
ACL					
Orrego <sup>43</sup>	GPS system	57 mL	Not reported	Not reported	Thromb + Ca
Nin <sup>44</sup>	Centrifugation‡	40 mL	4.69×	837 × 10 <sup>9</sup> /L	Calcium
Rotator cuff					
Randelli <sup>45</sup>	GPS system	54 mL	3× in fibr	Not reported	Autol thrombin
Rodeo <sup>47</sup>	Cascade	9 mL	Not reported	Not reported	Calcium
Castricini <sup>46</sup>	Centrifuge‡	9 mL	Not reported	Not reported	Not reported
Weber <sup>48</sup>	Cascade	Not reported	Not reported	Not reported	Calcium
Jo <sup>49</sup>	COBE Spectra	N/A	N/A	1000 × 10 <sup>9</sup> /L	Ca gluc

\* GPS system (Cell Factor Technologies); Cascade = Cascade system (Musculoskeletal Transplant Foundation, Edison, NJ); COBE Spectra (CaridianBCT, Lakewood, CO).

† Cited literature that found a typical eightfold enrichment.

‡ Standard laboratory centrifuge used, no specifications given.

Autol = autologous; Ca = calcium; Gluc = gluconate; N/A = not appropriate; Thromb = thrombin.

teristics of an aPRP “unit.” There are multiple aPRP isolation techniques available that yield variations in PLT concentration and quantity (Table 1). Protocols also differ in the timing of application, the amount of aPRP applied, and whether a PLT activator is added. These differences may have functional implications, which make it impossible to compare or reproduce clinical studies.<sup>13</sup> This review will describe some of the aPRP formulations currently used and their indications in the orthopedic setting and explore some of the evidence available for its efficacy.

## REVIEW

### The use of autologous platelet-rich plasma in the orthopedic setting

*Claudia S. Cohn,<sup>1</sup> Evelyn Lockhart,<sup>2</sup> and J. Jeffrey McCullough<sup>1</sup>*

**1812 TRANSFUSION** Volume 55, July 2015

molecules are purported to be essential for aPRP’s therapeutic effect,<sup>9,22</sup> the timing and amount of released cytokines are critical; variations in handling may potentially affect the quality and potency of the final product.<sup>23</sup> Finally, the number of WBCs present in aPRP is also dependent on the manufacturing process and may also affect function. These quantitative and qualitative differ-

RESEARCH

Open Access

# Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors

Paola Romina Amable<sup>1\*</sup>, Rosana Bizon Vieira Carias<sup>1</sup>, Marcus Vinicius Telles Teixeira<sup>1</sup>, Ítalo da Cruz Pacheco<sup>1</sup>, Ronaldo José Farias Corrêa do Amaral<sup>2</sup>, José Mauro Granjeiro<sup>3</sup> and Radovan Borojevic<sup>1</sup>

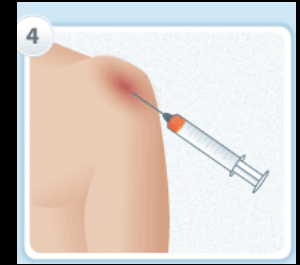
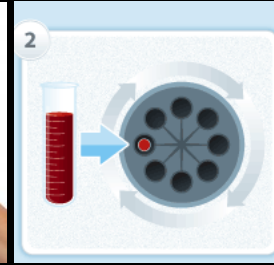
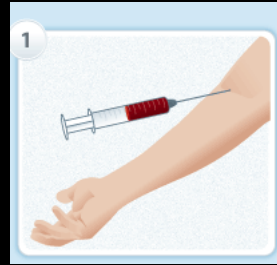
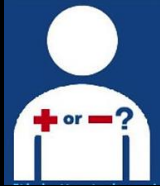
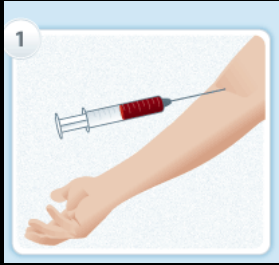
## Abstract

**Introduction:** Platelet-rich plasma (PRP) is nowadays widely applied in different clinical scenarios, such as orthopedics, ophthalmology and healing therapies, as a growth factor pool for improving tissue regeneration. Studies into its clinical efficiency are not conclusive and one of the main reasons for this is that different PRP preparations are used, eliciting different responses that cannot be compared. Platelet quantification and the growth factor content definition must be defined in order to understand molecular mechanisms behind PRP regenerative strength. **Standardization of PRP preparations is thus urgently needed.**

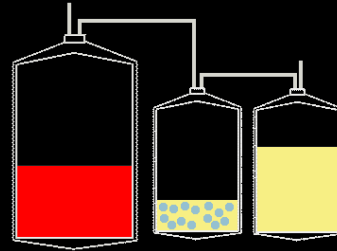
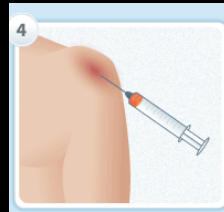
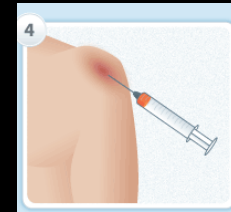
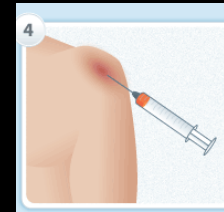
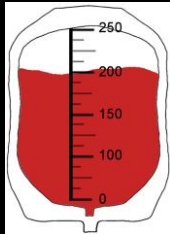
# Métodos de obtención de PRP



# Tube

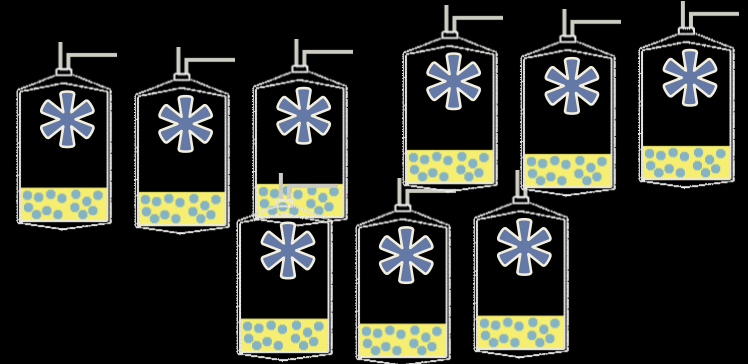


# Bag



# Apheresis

1. Blood is drawn.
2. Blood is separated into components by a centrifuge.
3. Needed components are collected into sterile bags.
4. Unused components are returned to the donor.



# PROCESS OF PRP THERAPY

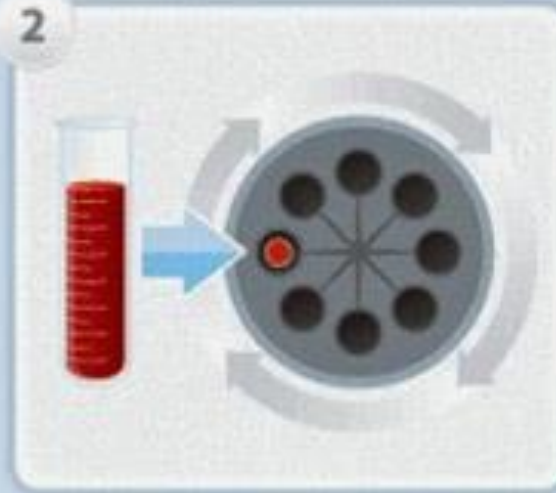
1



## Collect blood

30-60ml of blood is drawn from the patient's arm.

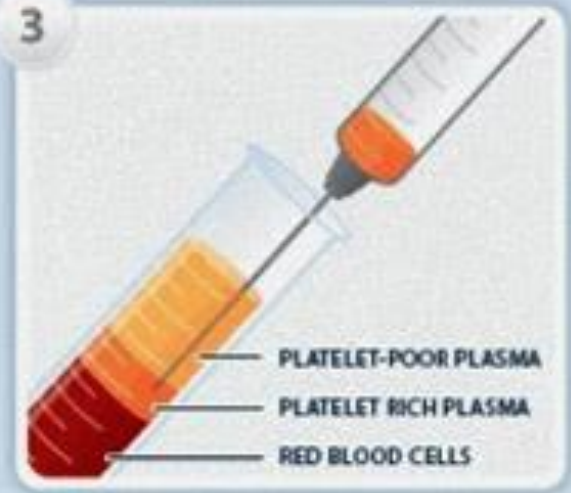
2



## Separate the platelets

The blood is then placed in a centrifuge. The centrifuge spins and separates the platelets from the rest of the blood components.

3



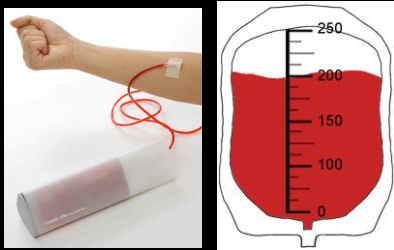
## Extract platelet-rich plasma

Extract 3-6ml of platelet-rich plasma.

# Método de separación “en bolsa”

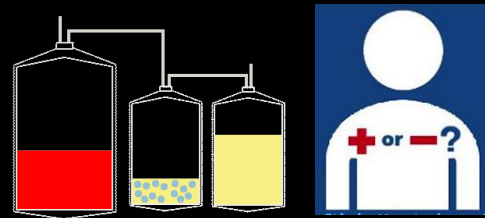
Día 0

Blood collection Processing and microbiologic test



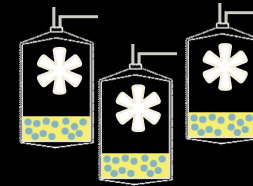
150 ml

Día +1



Día +2

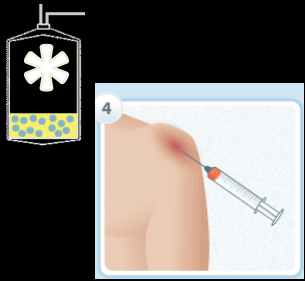
PRP delivery



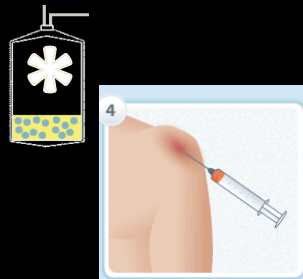
3 frozen vials 3-6 ml

Day +2

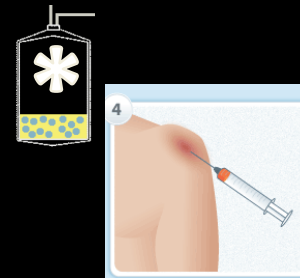
Day +365



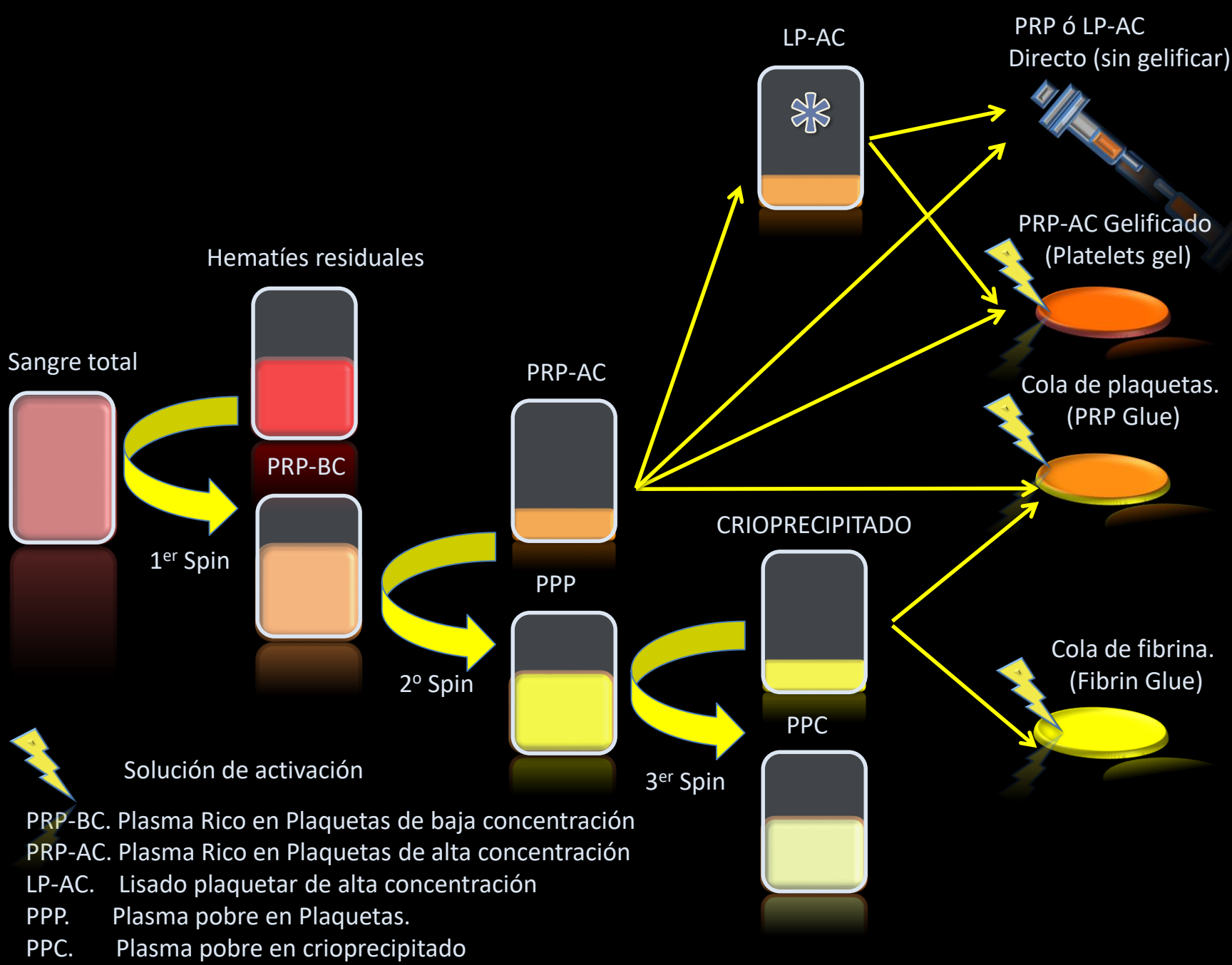
First use



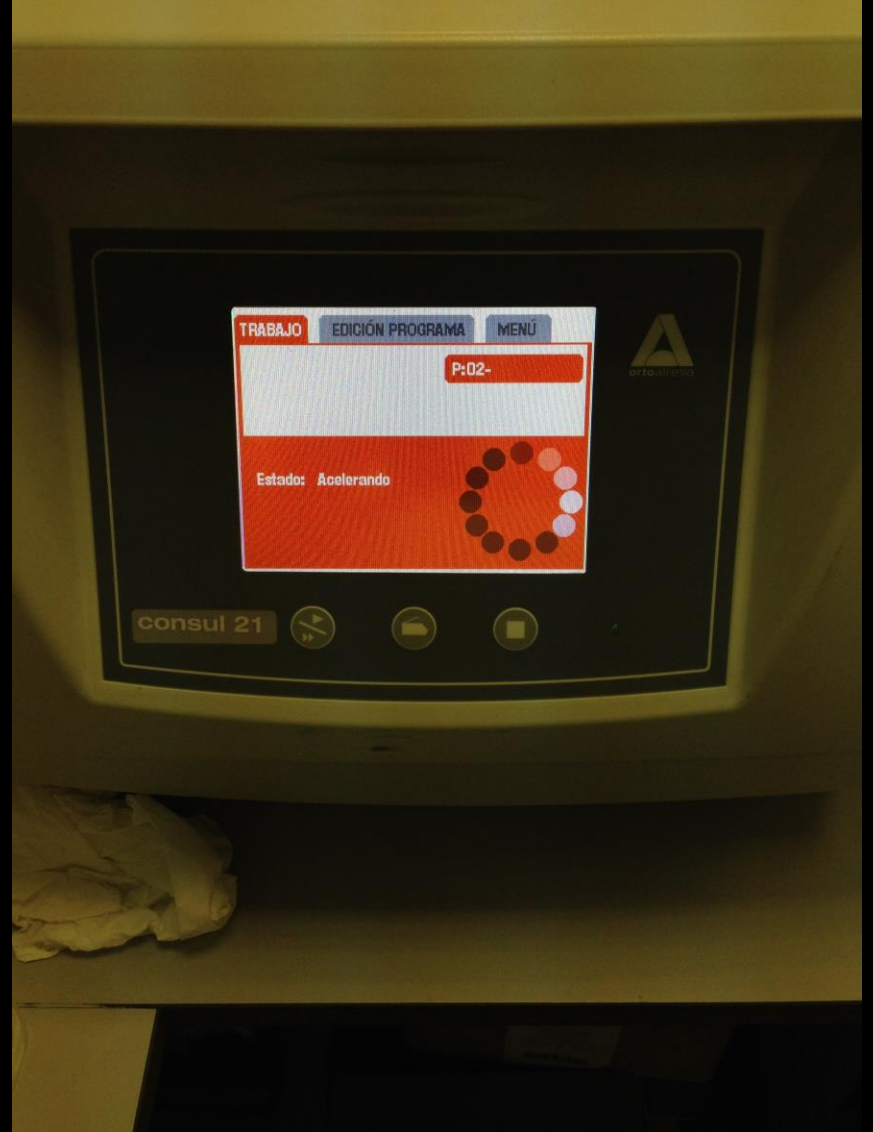
Second use



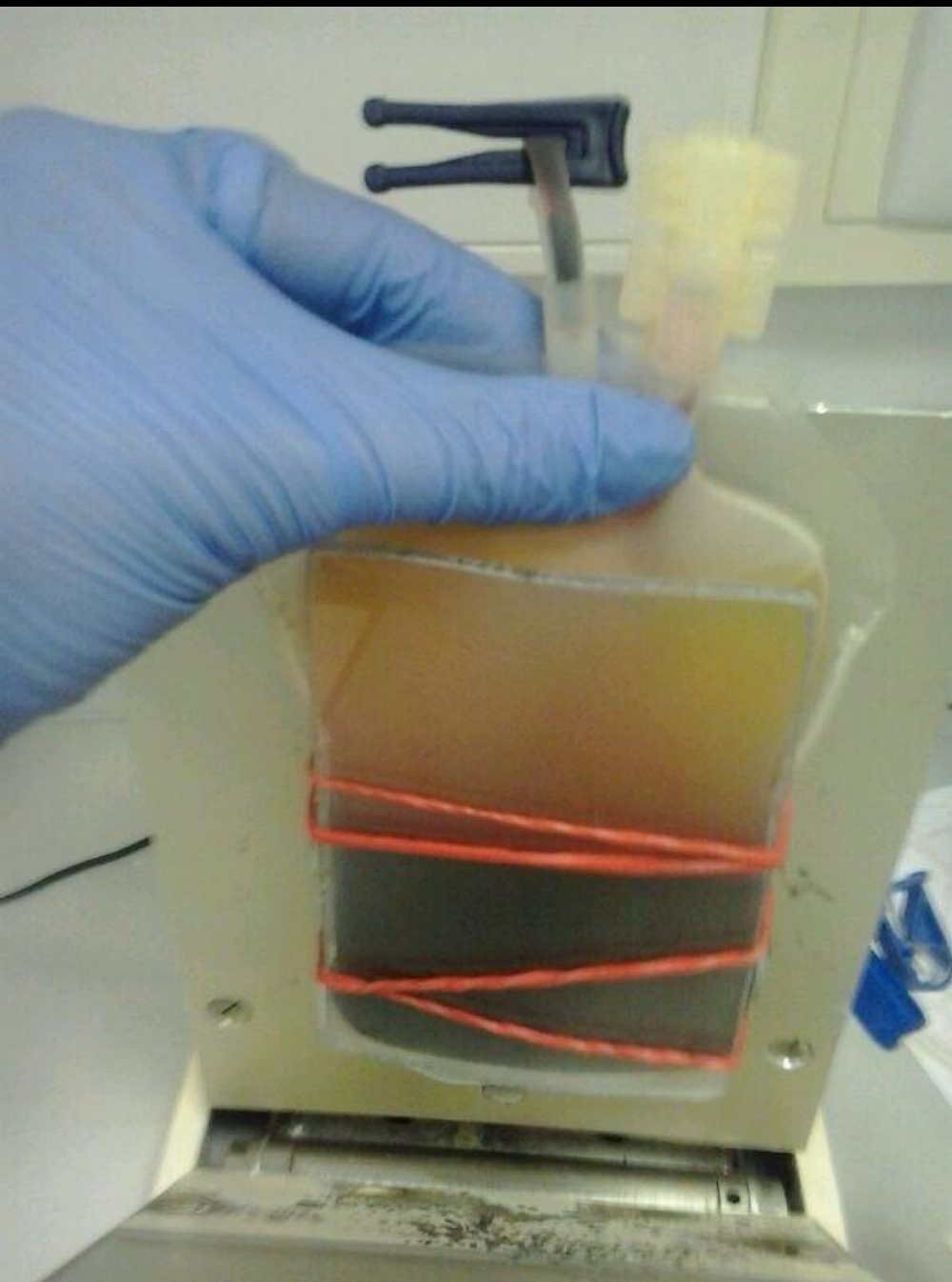
Third use



PRP-BC. Plasma Rico en Plaquetas de baja concentración  
 PRP-AC. Plasma Rico en Plaquetas de alta concentración  
 LP-AC. Lisado plaquetar de alta concentración  
 PPP. Plasma pobre en Plaquetas.  
 PPC. Plasma pobre en crioprecipitado





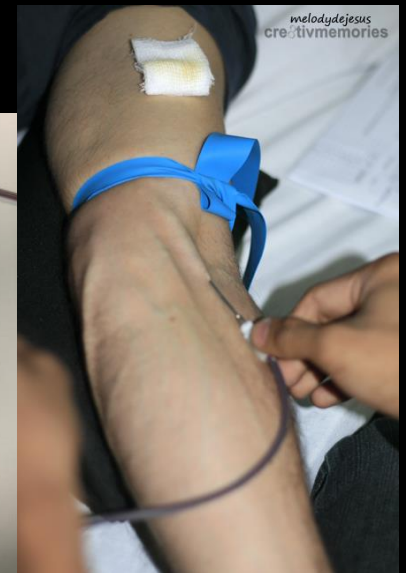
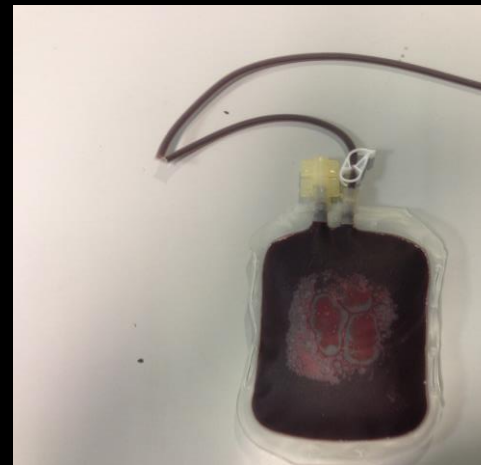




# Métodos de obtención de PRP

## Elementos que influyen en la calidad del PRP

# Extracción de sangre





# Almacenamiento de sangre previa al procesamiento

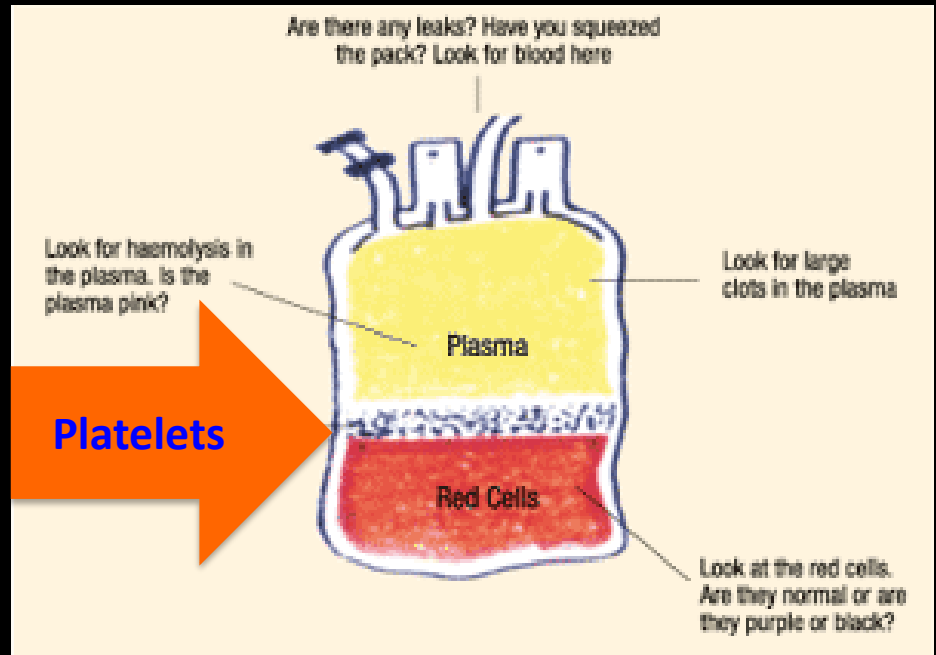
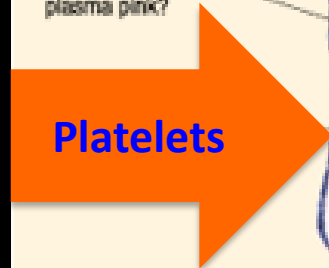
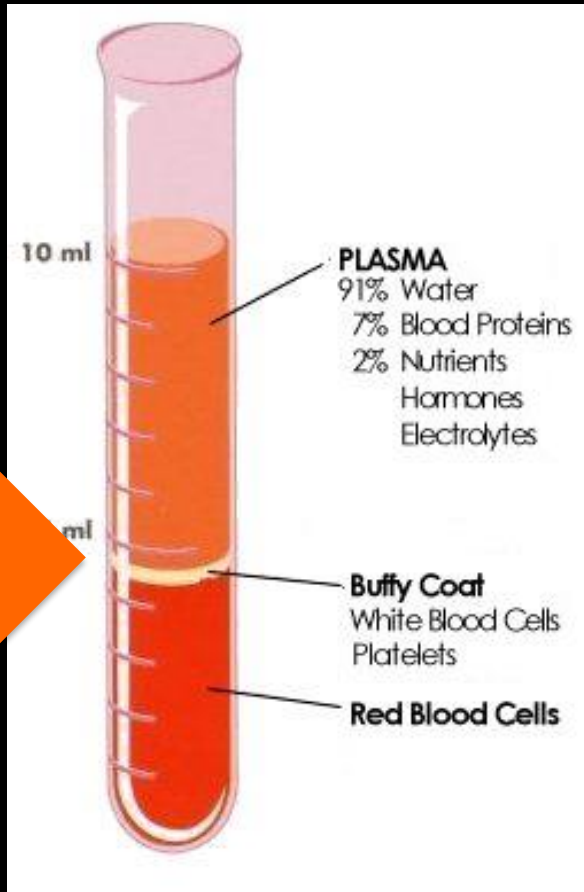
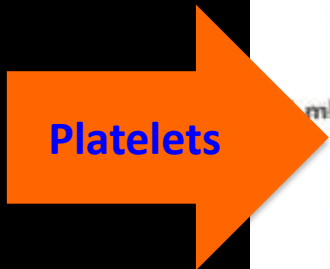


20-24°C



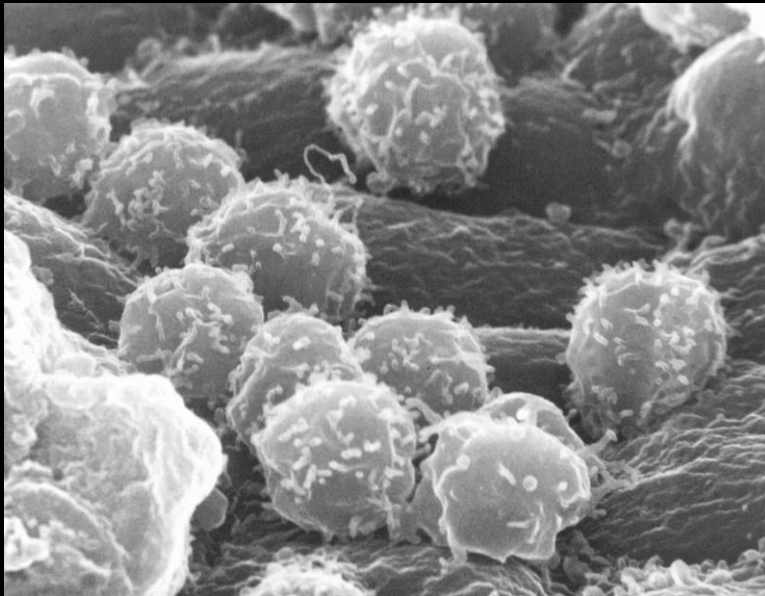






# ¿Contenido en leucocitos?

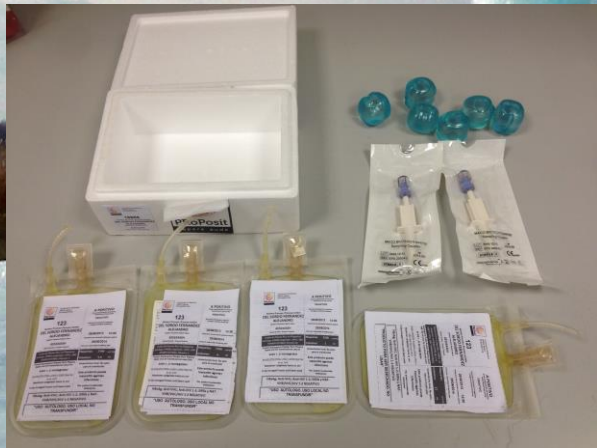
- Los leucocitos son los mediadores de la inflamación
  - A más leucocitos más inflamación?
- Los leucocitos liberan también FC que nos interesan?



Contenido de leucocitos  
en PRP:  
Como máximo los que  
hay en la sangre basal  
del paciente



# Almacenamiento



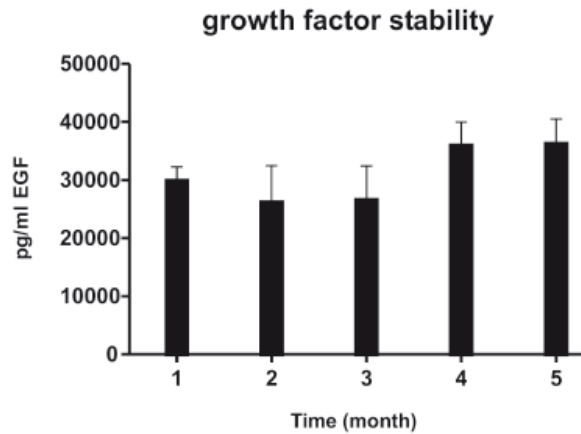


Fig. 3: Growth factor stability of EGF in platelet lysates stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for five months. Values are expressed as means  $\pm$ SD of four lysate samples.

## Alternatives to the Use of Fetal Bovine Serum: Human Platelet Lysates as a Serum Substitute in Cell Culture Media

Caroline Rauch<sup>1</sup>, Elisabeth Feifel<sup>1</sup>, Eva-Maria Amann<sup>2</sup>, Hans Peter Spötl<sup>2</sup>, Harald Schemmich<sup>2</sup>, Walter Pfaller<sup>1</sup>, and Gerhard Gstraunthaler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Physiology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria; <sup>2</sup>Central Institute of Blood Transfusion and Immunology, University Hospital, Innsbruck, Austria

Received July 6, 2011; accepted in revised form October 18, 2011.

age (analogous to therapeutic fresh frozen plasma) to increase safety [77]. Final HPL can be stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  for a prolonged time, maintaining a stable growth factor content [79].

## Platelet Lysate as Replacement for Fetal Bovine Serum in Mesenchymal Stromal Cell Cultures

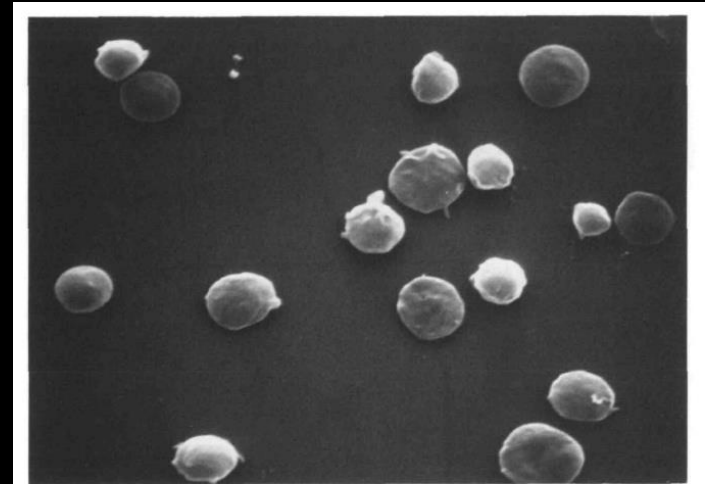
Karen Bieback

Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University, German Red Cross Blood Service Baden-Württemberg – Hessen, Mannheim, Germany

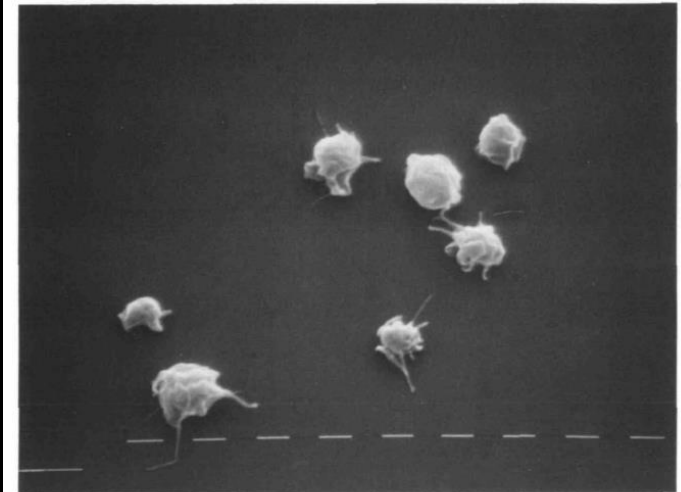


# GF release from platelets

- Calcium
  - Calcium chloride
  - Calcium Glucobionate
- Trombin
  - Human
  - Bovine
- ADP
- Collagen
- Zeolite
- Adrenaline
- Freeze/thawing



A



B

**Figure 2.** Scanning electron micrographs of resting discoidal platelets (**A**) and platelets after activation with ADP (**B**). Note the thin filopodial extensions and irregular shape of the activated platelets.  $\times 5000$ .

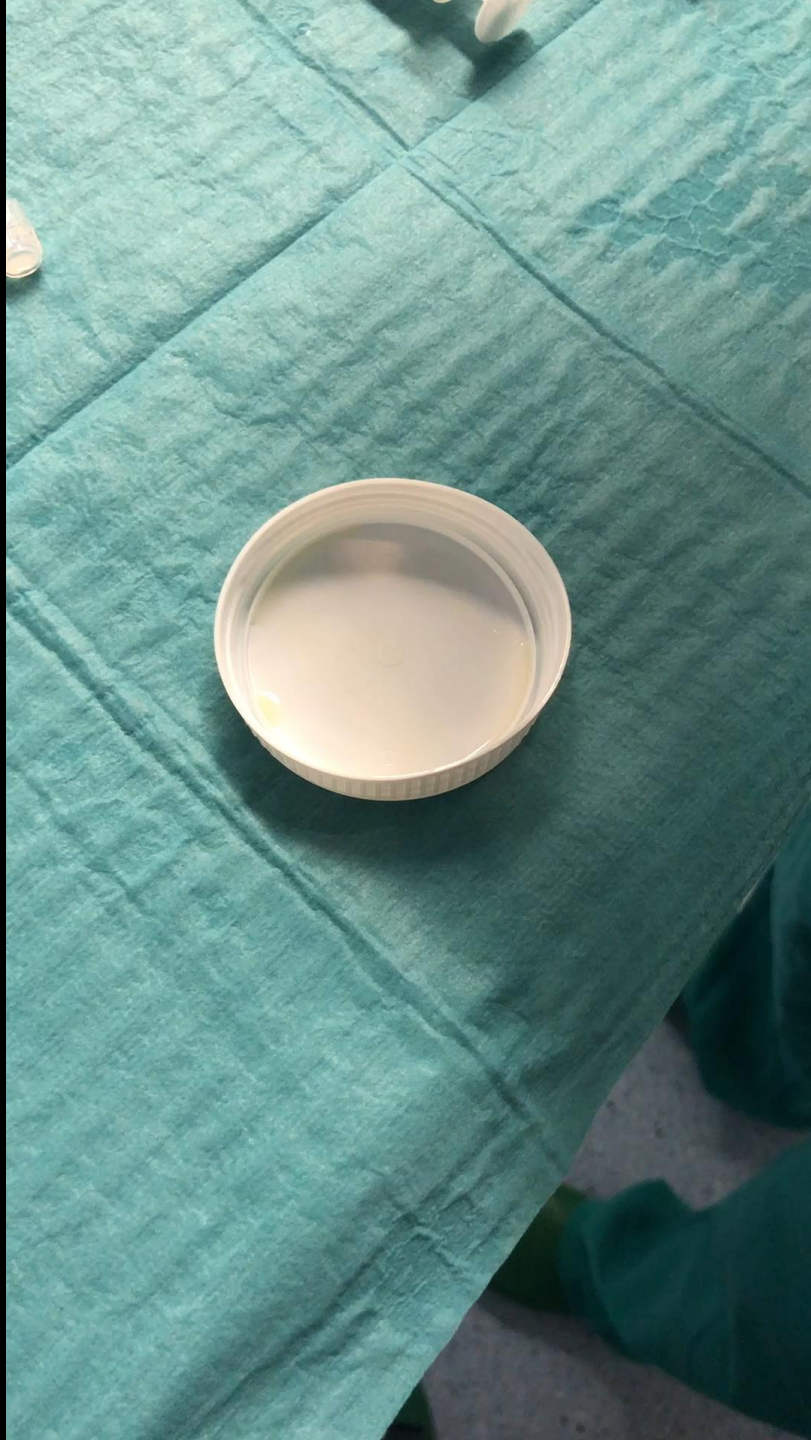
Arteriosclerosis,  
Thrombosis, and  
Vascular Biology

JOURNAL OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION



Platelet activation.  
M B Zucker and V T Nachmias

Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1985;5:2-18  
doi: 10.1161/01.ATV.5.1.2



chet, 2000; Kamath et al., 2001; Reed et al., 2000; Rendu and Brohard-Bohn, 2001). Of the methods tested (coagulation with  $\text{CaCl}_2$ , activation with ADP, fibrillar collagen type I, thrombin, thrombin receptor activating peptide, or zeolite), freeze-thawing of platelet suspension turned out to be the most effective procedure (Barano and Hammond, 1985). The method induces platelet disruption by hypo-osmotic shock and three repeated freezing/thawing cycles at  $-20^\circ\text{C}$ .

steps do not activate the platelets, and that freeze/thawing is sufficient for maximal release of  $\alpha$ -granule growth factors and P-selectin, respectively.

## Alternatives to the Use of Fetal Bovine Serum: Human Platelet Lysates as a Serum Substitute in Cell Culture Media

*Caroline Rauch<sup>1</sup>, Elisabeth Feifel<sup>1</sup>, Eva-Maria Amann<sup>2</sup>, Hans Peter Spötl<sup>2</sup>, Harald Schennach<sup>2</sup>, Walter Pfaller<sup>1</sup>, and Gerhard Gstraunthaler<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Division of Physiology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria; <sup>2</sup>Central Institute of Blood Transfusion and Immunology, University Hospital, Innsbruck, Austria

Received July 6, 2011; accepted in revised form October 18, 2011.

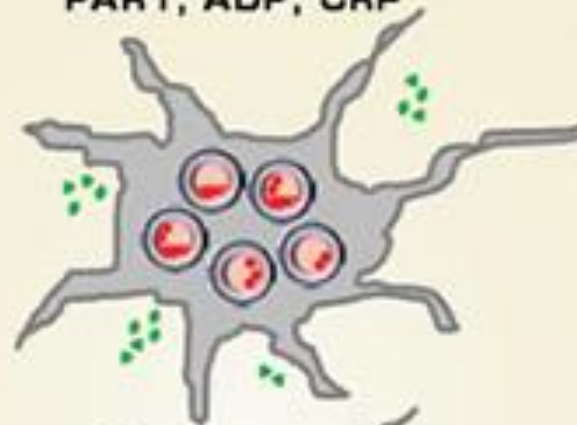
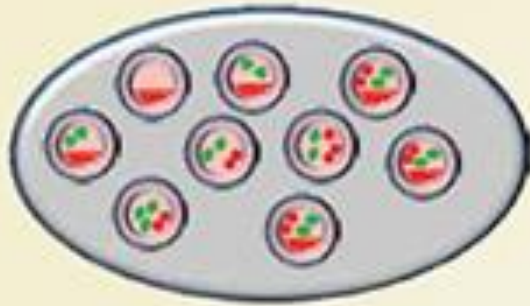
Figure

Resting

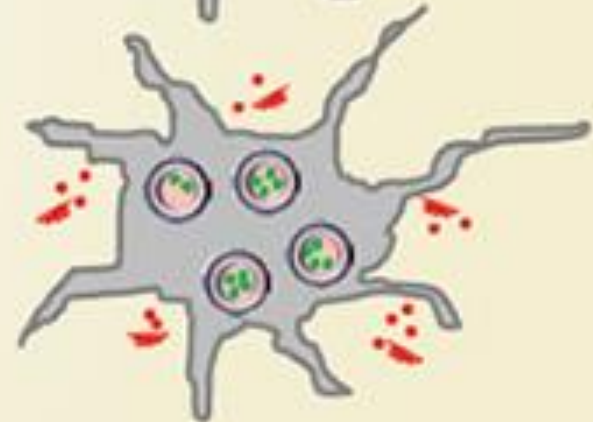
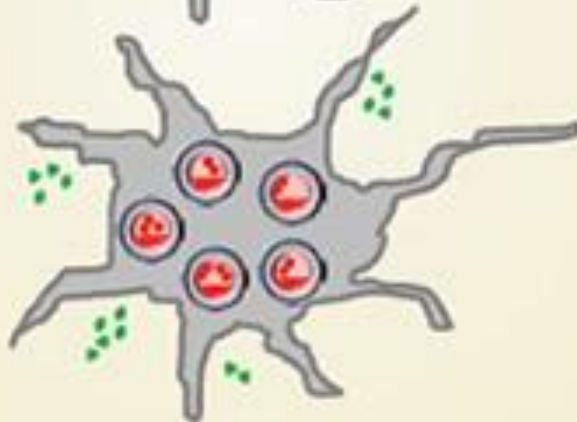
PAR1, ADP, CRP

PAR4, TxA<sub>2</sub>

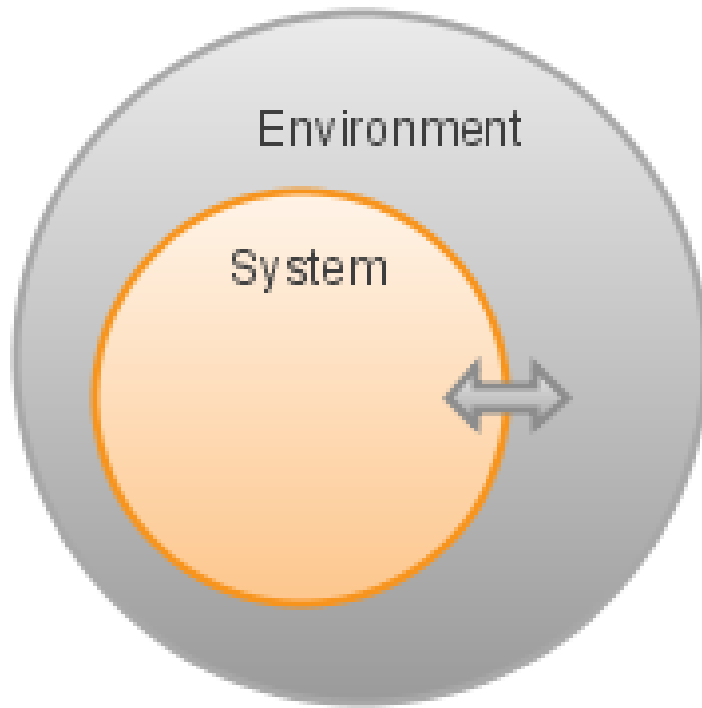
**A**



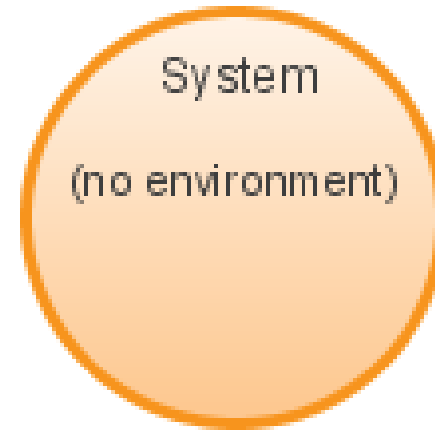
**B**



**Agonist-selective release of contents from  $\alpha$ -granules.** Model A proposes that granule cargos are distributed in a random manner among  $\alpha$ -granules, not in specific subpopulations. Cargo may be clustered with  $\alpha$ -granules, given the appearance of segregation and enabling release of specific contents in response to different agonists. Model B postulates that different granule contents are segregated into discrete subpopulations of  $\alpha$ -granules that are released in response to different agonists. Angiogenic factors are depicted in green and anti-angiogenic factors depicted in red.



**Open System**



**Closed System**

**Método abierto o cerrado**

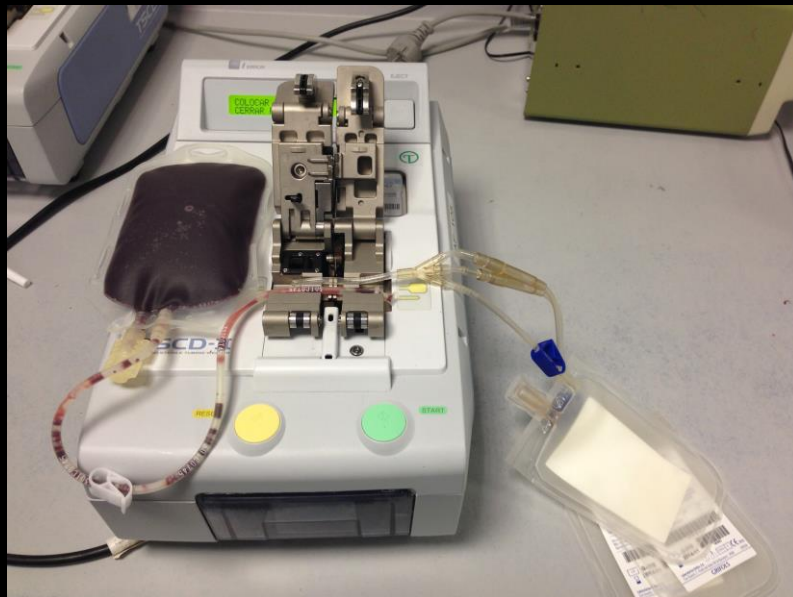


# ¿Qué es un método de procesamiento “cerrado”?

- Un método de procesamiento de sangre, productos sanguíneos o medicamentos que asegura que el producto manipulado no ha estado expuesto al aire ambiente o a cualquier material o dispositivo susceptible de provocar una contaminación bacteriana del producto



# Centros de procesamiento de productos sanguíneos





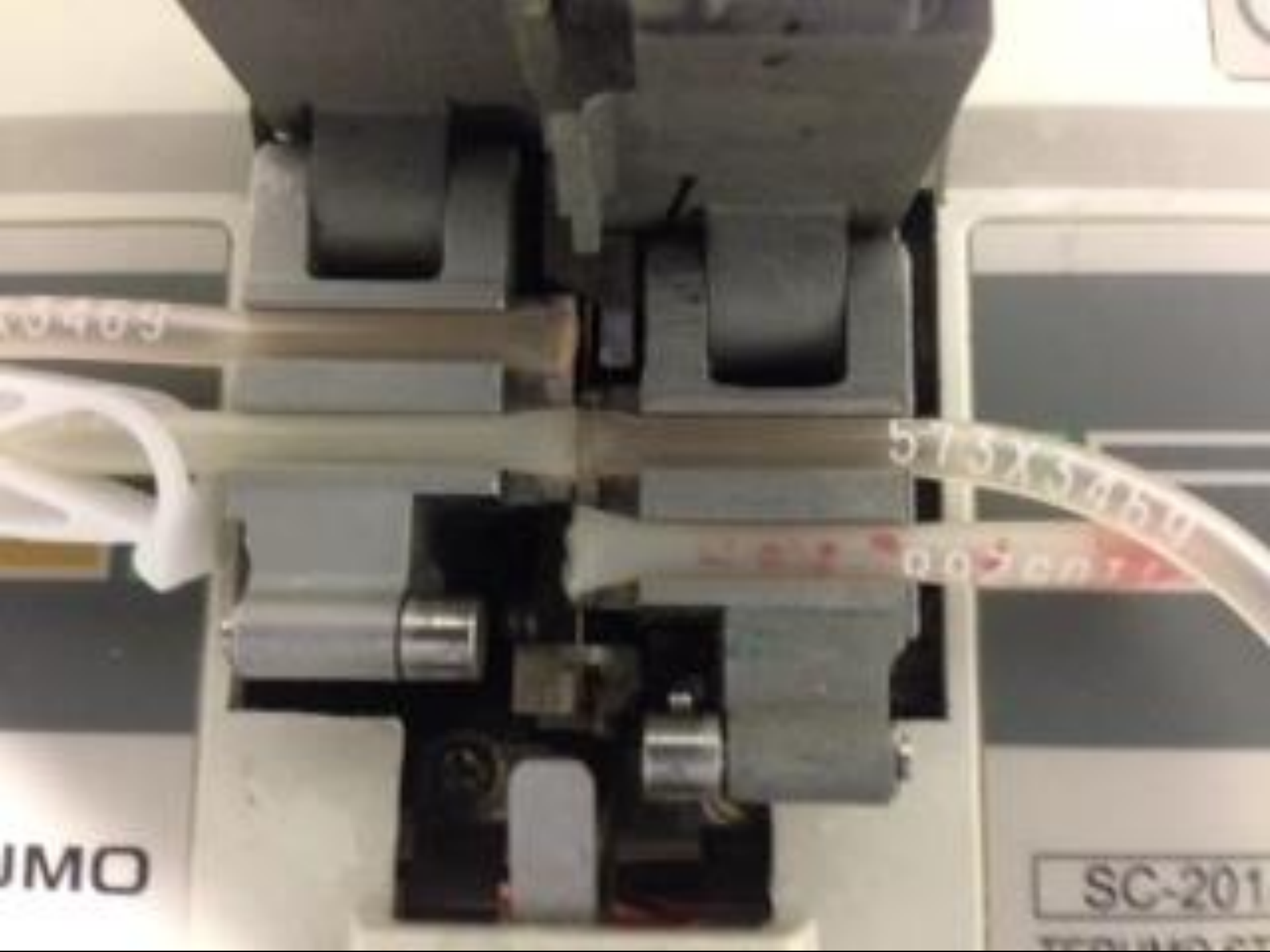
OMO

SC-201

575X3460

575X3460

005011





 **Hospital Universitario  
Puerta de Hierro  
Majadahonda**  
SaludMadrid  
Comunidad de Madrid



# Condiciones GMP



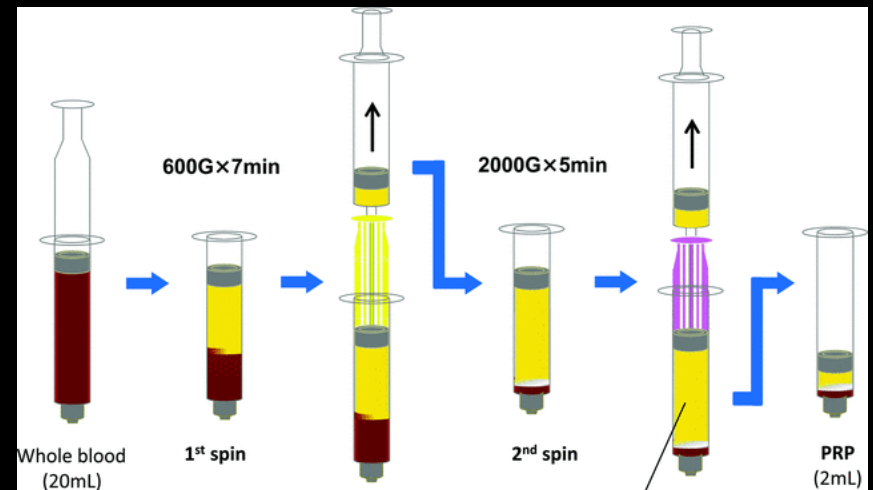
# ¿Qué es un método de procesamiento “cerrado”?

No confundir!!

- El uso de productos desechables NO es sinónimo de sistema cerrado
- Un producto estéril, no es un sistema cerrado
- Un producto con marcado CE o FDA no es sinónimo de sistema cerrado



PROFESSIONAL MANUFACTURER (PRP)  
MANSON TECHNOLOGY



The volume below the platelet border was aspirated.

PPP was discarded.

# Métodos de envasado. Criterios

- Sistema de procesamiento “cerrado”  
Validado para largo almacenamiento
  - Normativa de Transfusión
- Mercado CE o FDA
- Barato








 U. Alvarado & Madrid  
 28002 Spain  
 TF 944237518

**260123**  
 Numero Proceso-Process number  
**RIVERO PEREZ**  
 ESTHER  
 Nombre Paciente-Patient Name  
 78487589C  
 Fecha Number-Number

**O POSITIVO**  
 Resultado negativo de la muestra  
 Patient Blood Type and Rh  
**NEGATIVO**  
 Resultados Anticuerpos Infecciosos  
 Infecciones transmitidas por sangre  
 Infectious antibodies Screening

15/04/2014 13:15  
 Fecha/Pure de extracción-Collection date  
 15/04/2015  
 Fecha de validación-Expiry date

Estado de Plasma Rico en Plaquetas  
 autólogo (PRP) (Congelador: 20°C) (No  
 TRANSFUNDIBLE) Alotipo A 1  
 Frozen Autologous Platelet Rich Plasma Donor  
 (not for transfusion use) (2ml aliquot)

Volumen: 8 ml  
 Plaquetas: 450 x10<sup>9</sup>/L  
 Hto: 0,2 % Leuc: 1,15 x10<sup>6</sup>/L

Uso exclusivo local. No apto  
 para la transfusión  
 Este producto puede transmitir  
 agentes infecciosos  
 Maintain frozen until used  
 This product is potentially  
 infectious

PLATELETS (CPDA-1/XX/-20C) (Not for  
 tx or med)  
 Mantener congelado hasta su uso

HBsAg: Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sifilis y NAT-  
 VHB/VHC/HIV 1-2 NEGATIVO  
**O AUTÓLOGO. USO LOCAL NO TRANSFUNDIR\***

**260123**


 U. Alvarado & Madrid  
 28002 Spain  
 TF 944237518

**260123**  
 Numero Proceso-Process number  
**RIVERO PEREZ**  
 ESTHER  
 Nombre Paciente-Patient Name  
 78487589C  
 Fecha Number-Number

**O POSITIVO**  
 Resultado negativo de la muestra  
 Patient Blood Type and Rh  
**NEGATIVO**  
 Resultados Anticuerpos Infecciosos  
 Infecciones transmitidas por sangre  
 Infectious antibodies Screening

15/04/2014 13:15  
 Fecha/Pure de extracción-Collection date  
 15/04/2015  
 Fecha de validación-Expiry date

Estado de Plasma Rico en Plaquetas  
 autólogo (PRP) (Congelador: 20°C) (No  
 TRANSFUNDIBLE) Alotipo A 2  
 Frozen Autologous Platelet Rich Plasma Donor  
 (not for transfusion use) (2ml aliquot)

Volumen: 7 ml  
 Plaquetas: 450 x10<sup>9</sup>/L  
 Hto: 0,2 % Leuc: 1,15 x10<sup>6</sup>/L

Uso exclusivo local. No apto  
 para la transfusión  
 Este producto puede transmitir  
 agentes infecciosos  
 Maintain frozen until used  
 This product is potentially  
 infectious

PLATELETS (CPDA-1/XX/-20C) (Not for  
 tx or med)  
 Mantener congelado hasta su uso

HBsAg: Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sifilis y NAT-  
 VHB/VHC/HIV 1-2 NEGATIVO  
**O AUTÓLOGO. USO LOCAL NO TRANSFUNDIR\***

**260123**


 U. Alvarado & Madrid  
 28002 Spain  
 TF 944237518

**260123**  
 Numero Proceso-Process number  
**RIVERO PEREZ**  
 ESTHER  
 Nombre Paciente-Patient Name  
 78487589C  
 Fecha Number-Number

**O POSITIVO**  
 Resultado negativo de la muestra  
 Patient Blood Type and Rh  
**NEGATIVO**  
 Resultados Anticuerpos Infecciosos  
 Infecciones transmitidas por sangre  
 Infectious antibodies Screening

15/04/2014 13:15  
 Fecha/Pure de extracción-Collection date  
 15/04/2015  
 Fecha de validación-Expiry date

Estado de Plasma Rico en Plaquetas  
 autólogo (PRP) (Congelador: 20°C) (No  
 TRANSFUNDIBLE) Alotipo A 3  
 Frozen Autologous Platelet Rich Plasma Donor  
 (not for transfusion use) (2ml aliquot)


Volumen: 8 ml  
 Plaquetas: 450 x10<sup>9</sup>/L  
 Hto: 0,2 % Leuc: 1,15 x10<sup>6</sup>/L

Uso exclusivo local. No apto  
 para la transfusión  
 Este producto puede transmitir  
 agentes infecciosos  
 Maintain frozen until used  
 This product is potentially  
 infectious

PLATELETS (CPDA-1/XX/-20C) (Not for  
 tx or med)  
 Mantener congelado hasta su uso

HBsAg: Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sifilis y NAT-  
 VHB/VHC/HIV 1-2 NEGATIVO  
**O AUTÓLOGO. USO LOCAL NO TRANSFUNDIR\***

**260123**


 U. Alvarado & Madrid  
 28002 Spain  
 TF 944237518

**260123**  
 Numero Proceso-Process number  
**RIVERO PEREZ**  
 ESTHER  
 Nombre Paciente-Patient Name  
 78487589C  
 Fecha Number-Number

**O POSITIVO**  
 Resultado negativo de la muestra  
 Patient Blood Type and Rh  
**NEGATIVO**  
 Resultados Anticuerpos Infecciosos  
 Infecciones transmitidas por sangre  
 Infectious antibodies Screening

15/04/2014 13:15  
 Fecha/Pure de extracción-Collection date  
 15/04/2015  
 Fecha de validación-Expiry date

Estado de Plasma Rico en Plaquetas  
 autólogo (PRP) (Congelador: 20°C) (No  
 TRANSFUNDIBLE) Alotipo A 4  
 Frozen Autologous Platelet Rich Plasma Donor  
 (not for transfusion use) (2ml aliquot)


Volumen: 7 ml  
 Plaquetas: 450 x10<sup>9</sup>/L  
 Hto: 0,2 % Leuc: 1,15 x10<sup>6</sup>/L

Uso exclusivo local. No apto  
 para la transfusión  
 Este producto puede transmitir  
 agentes infecciosos  
 Maintain frozen until used  
 This product is potentially  
 infectious

PLATELETS (CPDA-1/XX/-20C) (Not for  
 tx or med)  
 Mantener congelado hasta su uso

HBsAg: Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sifilis y NAT-  
 VHB/VHC/HIV 1-2 NEGATIVO  
**O AUTÓLOGO. USO LOCAL NO TRANSFUNDIR\***

**260123**


 U. Alvarado & Madrid  
 28002 Spain  
 TF 944237518

**260123**  
 Numero Proceso-Process number  
**RIVERO PEREZ**  
 ESTHER  
 Nombre Paciente-Patient Name  
 78487589C  
 Fecha Number-Number

**O POSITIVO**  
 Resultado negativo de la muestra  
 Patient Blood Type and Rh  
**NEGATIVO**  
 Resultados Anticuerpos Infecciosos  
 Infecciones transmitidas por sangre  
 Infectious antibodies Screening

15/04/2014 13:15  
 Fecha/Pure de extracción-Collection date  
 15/04/2015  
 Fecha de validación-Expiry date

Estado de Plasma Rico en Plaquetas  
 autólogo (PRP) (Congelador: 20°C) (No  
 TRANSFUNDIBLE) Alotipo A 5  
 Frozen Autologous Platelet Rich Plasma Donor  
 (not for transfusion use) (2ml aliquot)

Volumen: 8 ml  
 Plaquetas: 450 x10<sup>9</sup>/L  
 Hto: 0,2 % Leuc: 1,15 x10<sup>6</sup>/L

Uso exclusivo local. No apto  
 para la transfusión  
 Este producto puede transmitir  
 agentes infecciosos  
 Maintain frozen until used  
 This product is potentially  
 infectious

PLATELETS (CPDA-1/XX/-20C) (Not for  
 tx or med)  
 Mantener congelado hasta su uso

HBsAg: Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sifilis y NAT-  
 VHB/VHC/HIV 1-2 NEGATIVO  
**O AUTÓLOGO. USO LOCAL NO TRANSFUNDIR\***

**260123**


 U. Alvarado & Madrid  
 28002 Spain  
 TF 944237518

**260123**  
 Numero Proceso-Process number  
**RIVERO PEREZ**  
 ESTHER  
 Nombre Paciente-Patient Name  
 78487589C  
 Fecha Number-Number

**O POSITIVO**  
 Resultado negativo de la muestra  
 Patient Blood Type and Rh  
**NEGATIVO**  
 Resultados Anticuerpos Infecciosos  
 Infecciones transmitidas por sangre  
 Infectious antibodies Screening

15/04/2014 13:15  
 Fecha/Pure de extracción-Collection date  
 15/04/2015  
 Fecha de validación-Expiry date

Estado de Plasma Rico en Plaquetas  
 autólogo (PRP) (Congelador: 20°C) (No  
 TRANSFUNDIBLE) Alotipo A 6  
 Frozen Autologous Platelet Rich Plasma Donor  
 (not for transfusion use) (2ml aliquot)

Volumen: 8 ml  
 Plaquetas: 450 x10<sup>9</sup>/L  
 Hto: 0,2 % Leuc: 1,15 x10<sup>6</sup>/L

Uso exclusivo local. No apto  
 para la transfusión  
 Este producto puede transmitir  
 agentes infecciosos  
 Maintain frozen until used  
 This product is potentially  
 infectious

PLATELETS (CPDA-1/XX/-20C) (Not for  
 tx or med)  
 Mantener congelado hasta su uso

HBsAg: Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sifilis y NAT-  
 VHB/VHC/HIV 1-2 NEGATIVO  
**O AUTÓLOGO. USO LOCAL NO TRANSFUNDIR\***

**260123**





# “Método Asturias”

*A close and unidose PRP packing system for ophthalmic use*

***Best communication award***

19/12/2019



**PREMIO A LA MEJOR COMUNICACIÓN**

La Sociedad Española de Transfusión Sanguínea y Terapia Celular:

CERTIFICA QUE LA COMUNICACIÓN CON TÍTULO Y AUTORES:

“UN SISTEMA DE ALICUOTADO DE VIALES OFTÁLMICOS UNIDOSIS, UTILIZANDO UN SISTEMA CERRADO, PARA ENVASAR PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP), SUERO AUTÓLOGO Y OTROS PRODUCTOS DE USO OFTÁLMICO. EL PROCEDIMIENTO “ASTURIAS”.

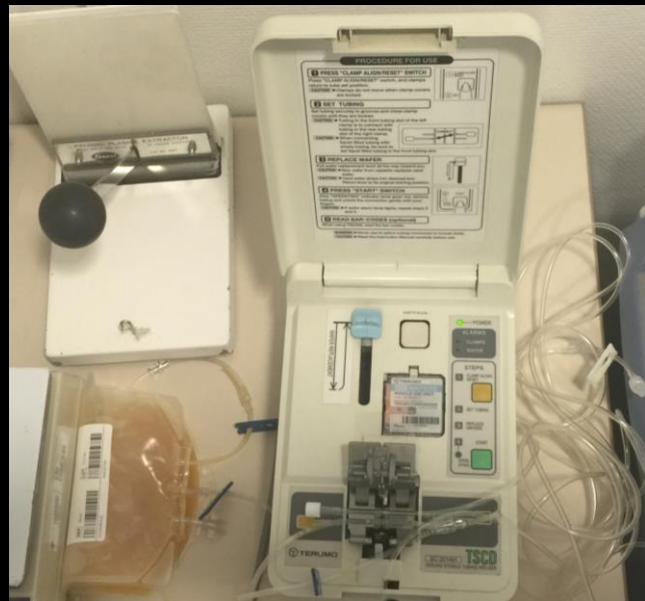
B. Pérez De Camino Gaisse, A. Lerma Verdejo, N. Valdés, B. Rodríguez, M.J. Nuñez, A. Salas, R. Cabrera, J.L. Arroyo, J.L. Bueno

presentada en el transcurso del 27 CONGRESO SETS, celebrado en Bilbao del 23 al 25 de junio de 2016, ha recibido el PREMIO al mejor trabajo en el área de PRODUCCIÓN DE COMPONENTES SANGUÍNEOS: EXTRACCIÓN, PROCESAMIENTO Y CRIBADO DE AGENTES TRANSMISIBLES.

Bilbao, a 25 de junio de 2016

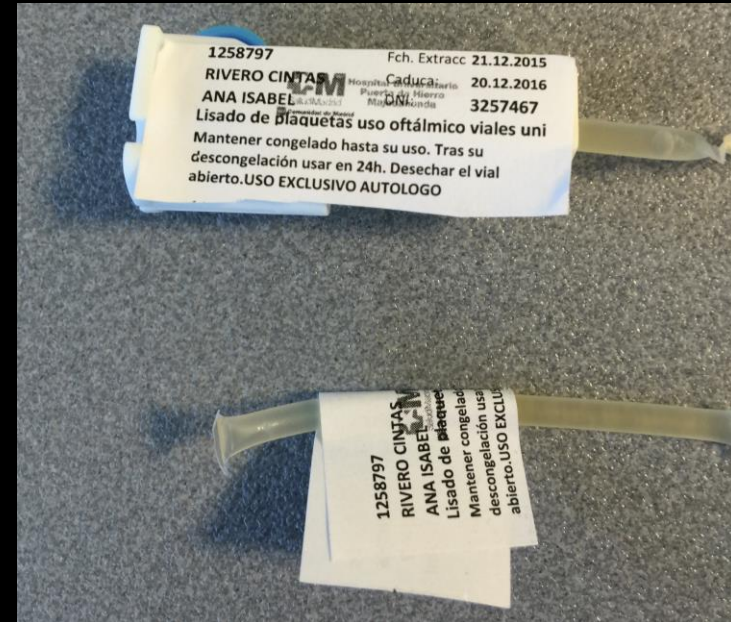
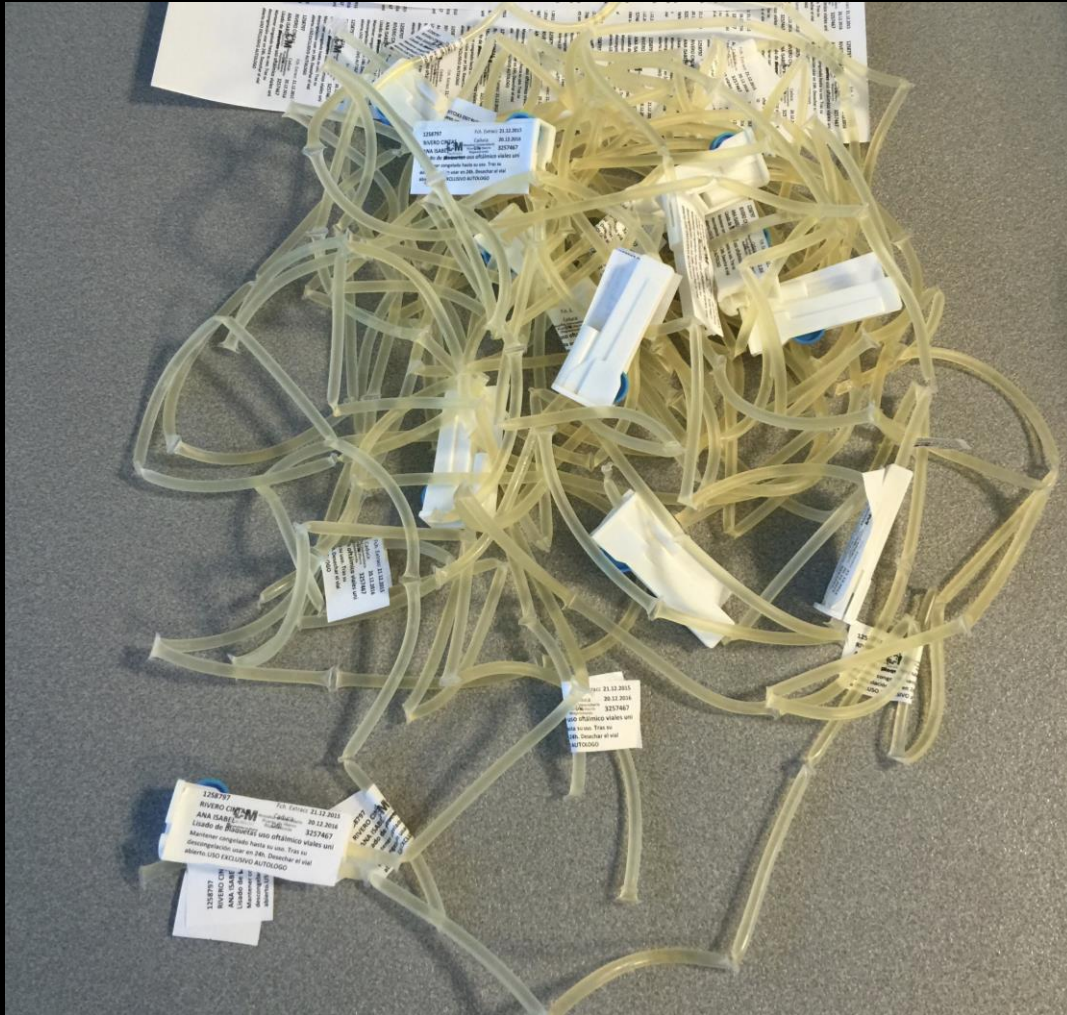
  
Dr. José Manuel Cárdenas Díaz de Espada  
Presidente de la SETS

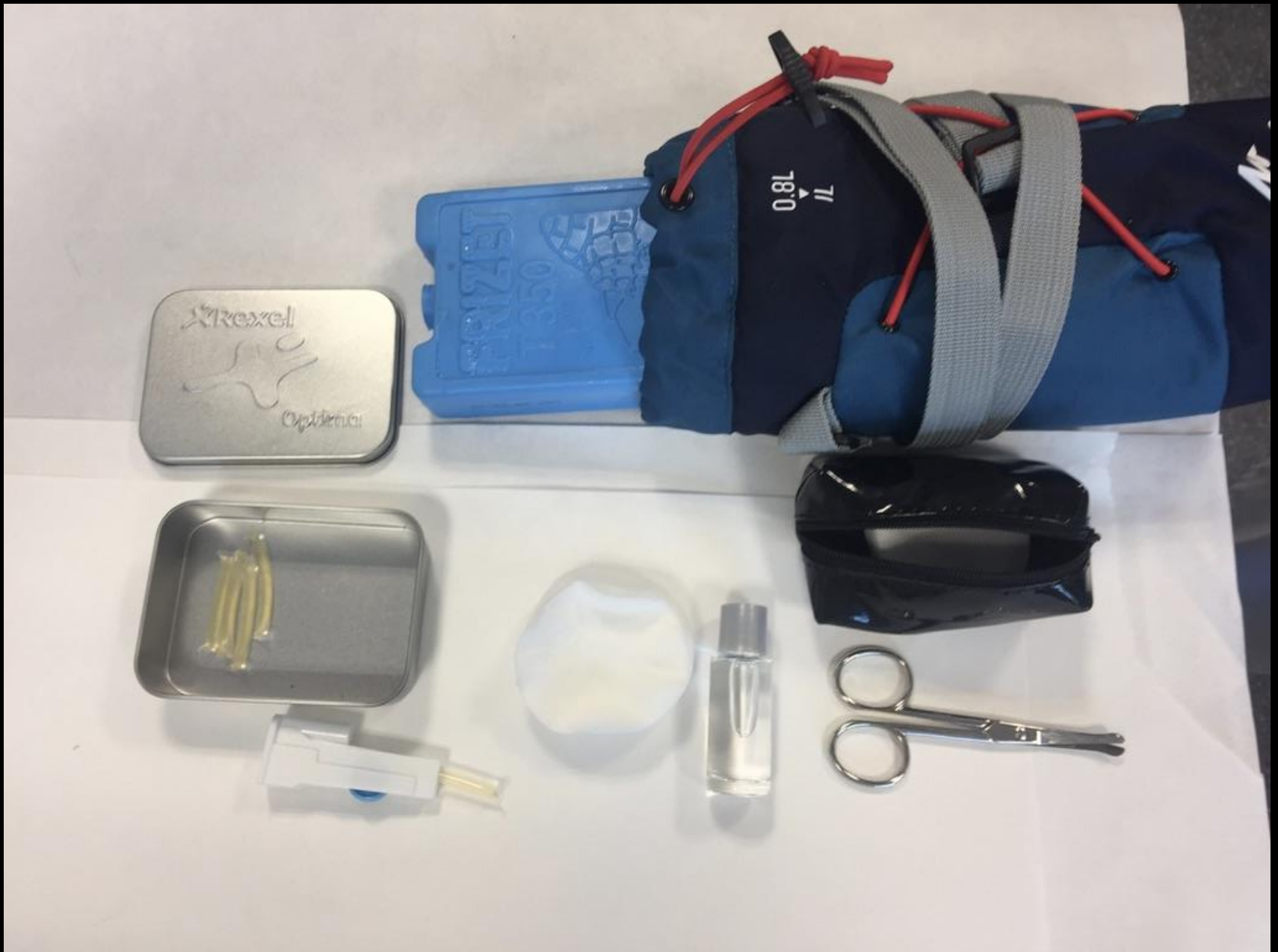
  
Dr. Fernando Puente Mangirón  
Secretario de la SETS





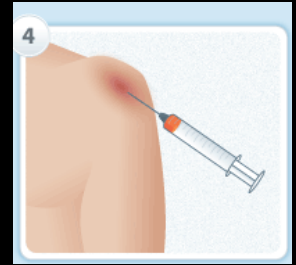
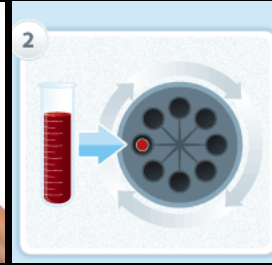
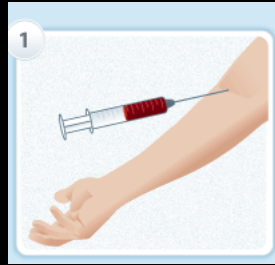
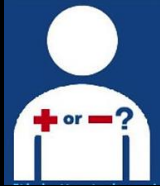
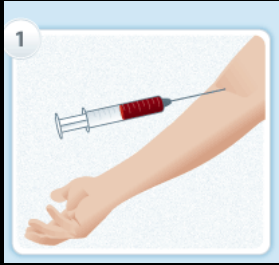




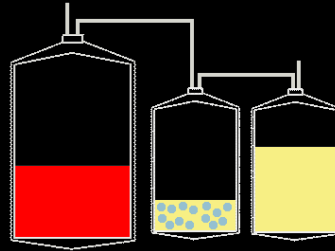
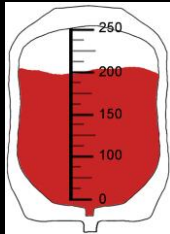
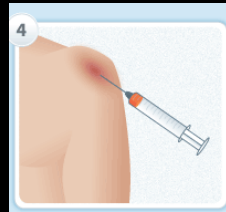
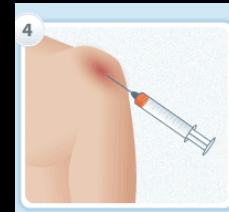
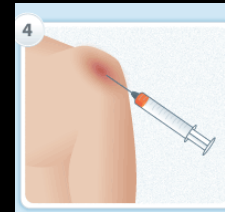
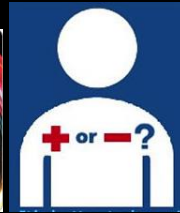




# Tube

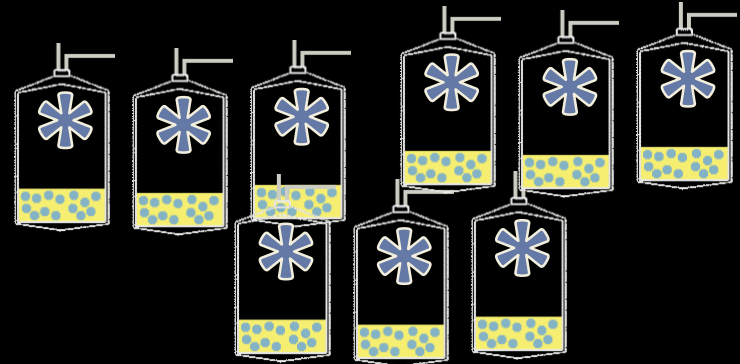


# Bag



# Apheresis

1. Blood is drawn.
2. Blood is separated into components by a centrifuge.
3. Needed components are collected into sterile bags.
4. Unused components are returned to the donor.



	<b>Tubo</b>	<b>Bolsa</b>	<b>Aféresis</b>
Vol de extracción de sangre	5-15ml	100-150	Proceso en máquina
Tiempo de extracción	10 min	10 min	30 min
Procesamiento	No sistema cerrado. Esterilidad comprometida	Sistema cerrado. Estéril	No precisa. Producto listo para ser usado
Rendimiento del producto	Bajo Tubo de 15 ml= 1-3 x 10 <sup>9</sup> plq	Alto. 30 x 10 <sup>9</sup> plq 10 veces mayor que tubo	Muy alto. 300 x 10 <sup>9</sup> plq 100 veces mayor que tubo
Almacenamiento	No posible. Uso intraoperatorio	3 días a 22°C/>1 año congelado <-20°C Alícuotas congeladas	3 días a 22°C/>1 año congelado <-20°C Alícuotas congeladas
Aplicación	Uso inmediato intraoperatorio. Un procesamiento por uso	Posibilidad de programar, por posibilidad de almacenamiento	Posibilidad de programar, por posibilidad de almacenamiento
Legislación		Cumple requisitos de: AEM: Informe sobre uso de PRP mayo 2013 RD 1088/2005	Cumple requisitos de: AEM: Informe sobre uso de PRP mayo 2013 RD 1088/2005
Control de calidad del producto	No se informa habitualmente del contenido de plq. Posibilidad de aplicar PPP en vez de PRP. Riesgo de contaminación bacteriano por manipulación abierta	Concentración y contenido total de plq en producto. Procesamiento en sistema cerrado. Producto estéril Informe con Hemograma y Serología y NAT HIV; VHB; VHC	Concentración y contenido total de plq en producto Procesamiento en sistema cerrado. Producto estéril Informe con Hemograma y Serología y NAT HIV; VHB; VHC





Hospital  
Nuestra Señora  
del Rosario



**PProPosit**

sapere aude



**Facultativo prescriptor**  
Solicitud de PRP  
Dosis PRP y número de alícuotas  
Entrevista de Preselección (hepatitis cardiopatía...)

**UHNT**  
Registro en BD y custodia de documentos  
Grupo y AAll

**UHNT**  
Cita, Información, Entrevista  
hemograma grupo y serología

**Servicio de Microbiología**  
Analítica  
serológica y PCR

**UHNT**  
Extracción de PRP

**UHNT**  
Alicuotado en viales uso traumatológico  
Almacenamiento y entrega a **FACULTATIVOS**

**Facultativo Prescriptor**  
Solicitud de producto

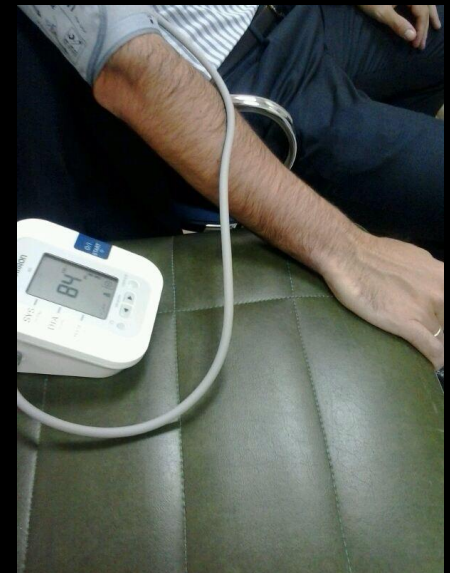
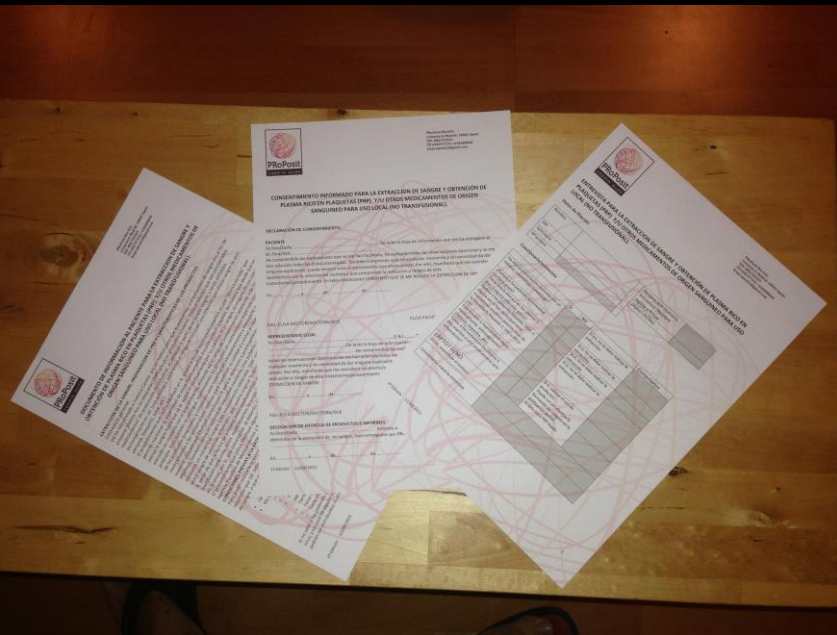
**Servicio de Farmacia**  
Alicuotado en viales oftálmicos  
Almacenamiento y entrega  
**PACIENTES**

**UHNT**  
Entrega de productos e informes.

**Facultativo Prescriptor**  
Aplicación en Consulta o quirófano

**FARMACOVIGILANCIA**

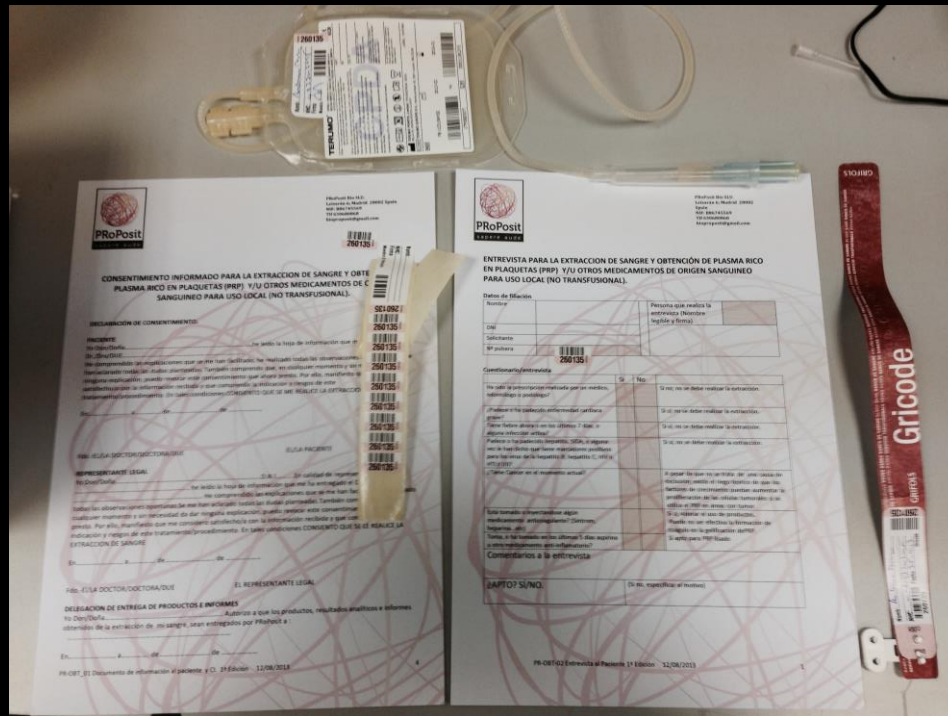
# Entrevista, información, consentimiento informado y exploración médica



El paciente recibe un documento de información sobre el procedimiento. Posteriormente es entrevistado por una enfermera para descartar contraindicaciones para la extracción de sangre o para la aplicación del producto. Se toma pulso y tensión arterial, y se realiza la extracción de sangre con protocolos similares a los utilizados para una donación de sangre



# Asignación de número único de proceso y pulsera de trazabilidad



La trazabilidad y control de seguridad para evitar errores en la identificación de los Pacientes o productos se realiza mediante la asignación de un número de seguridad a cada proceso. Y la entrega al paciente de una pulsera-testigo que se utiliza para la verificación en el momento de la aplicación del producto por el médico prescriptor.



Extracción de  
sangre



# Extracción de muestras analíticas



Se realizan las siguientes pruebas analíticas a todos los pacientes en cada proceso:

- Hemograma Grupo sanguíneo ABO-Rh
- Escrutinio de anticuerpos irregulares.
- HBsAg (Antígeno de superficie VHB)
- Serología para VHC
- Serología para HIV1/2
- Serología para sífilis
- **Prueba genómica (NAT) para VIH, VHB y VHC**

## ANEXO III

### Requisitos de verificación para las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos

En las donaciones de sangre total, donaciones por aféresis y autodonación de predepósito, se realizarán las pruebas analíticas siguientes:

1. Determinación del **grupo sanguíneo ABO**. No requerido para el plasma destinado únicamente a fraccionamiento.

2. Determinación del **grupo sanguíneo Rho (D)**. No requerido para el plasma destinado únicamente a fraccionamiento.

3. Se practicará, en cada donante con historia de transfusión previa o embarazo, **escrutinio de anticuerpos irregulares antieritrocitarios** mediante métodos que detecten anticuerpos clínicamente significativos.

4. Pruebas para la detección de agentes infecciosos:

a) **Sífilis: pruebas serológicas.**

b) **Hepatitis B: AgHBs.**

c) **Hepatitis C: Anti-VHC y pruebas de amplificación genómica del ácido nucleico (NAT).**

d) **VIH I/II: Anti-VIH I/II.**

e) Aquellas pruebas necesarias para detectar portadores de otros agentes infecciosos en determinados donantes por sus circunstancias epidemiológicas concretas.

Las técnicas utilizadas en estas pruebas deberán tener, en cada momento, un nivel óptimo de sensibilidad y especificidad, y los reactivos empleados en ellas cumplirán la normativa sanitaria nacional.

## MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO

**15514** REAL DECRETO 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.



INFORME/V1/23052013

**Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas**

Fecha de publicación: 23 de mayo de 2013

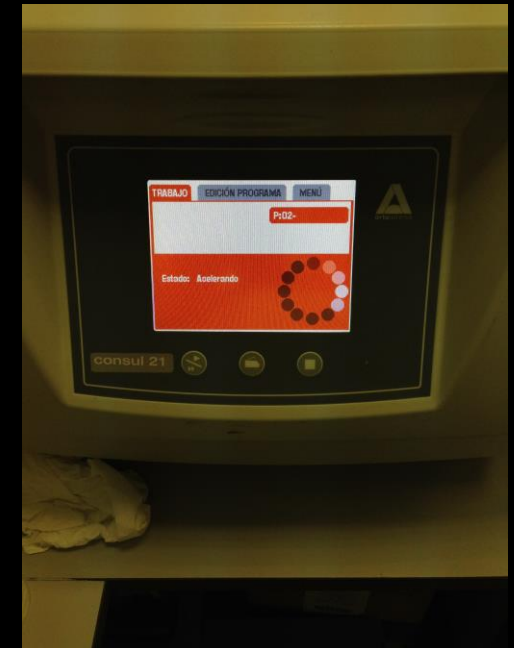
En este sentido, se le aplicará el Capítulo V sobre donación autóloga y autotransfusión del Real Decreto 1088/2005, en lo que corresponda.

Quedarán excluidas de la utilización de estos procedimientos las personas pertenecientes al grupo que se describe en el Anexo II, punto C, del Real Decreto 1088/2005, donde constan los criterios de exclusión permanente y temporal.

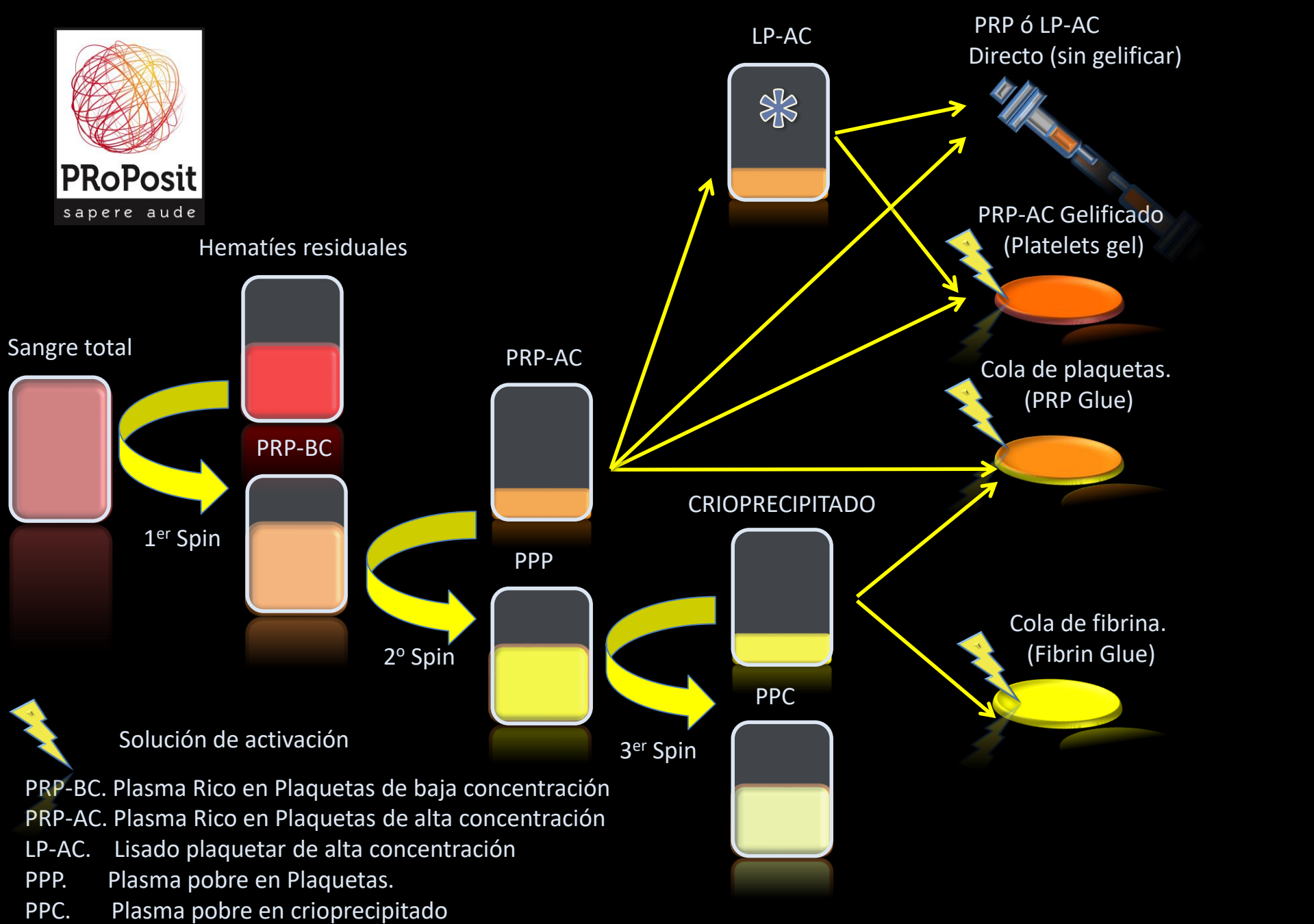
En cada donación deberán realizarse las pruebas analíticas que se indican en el Anexo III del Real Decreto 1088/2005, como requisitos de verificación para las donaciones de sangre total y componentes sanguíneos. Estas pruebas analíticas no deberán seguir de modo obligado las normas de correcta fabricación de medicamentos, siendo suficientes las normas habituales de los laboratorios de hematología y/o análisis clínicos.

# Centrifugación

- Centrifuga de diseño propio, específica para PRP en bolsa
- Programas de centrifugación encriptados
- Centrifugación **diferencial según el hematocrito** del paciente
- Software con control periférico de procesos







PRP-BC. Plasma Rico en Plaquetas de baja concentración  
PRP-AC. Plasma Rico en Plaquetas de alta concentración  
LP-AC. Lisado plaquetar de alta concentración  
PPP. Plasma pobre en Plaquetas.  
PPC. Plasma pobre en crioprecipitado

	<b>Método en tubo</b>	<b>Método PROposit</b>
Volume de sangre	5-15ml	100-150
Tiempo de extracción	10 min para cada aplicación	10 min para 3-6 aplicaciones
Procesamiento de la sangre	Esterilidad NO ASEGURADA. Uso de tubos para uso diagnóstico para uso clínico en algunos procedimientos Tiempo de procesamiento 30-40 min, mientras el paciente espera	SISTEMA CERRADO. Esterilidad asegurada. Marca CEE de material Tiempo de procesamiento 40-60 min. EL PACIENTE NO ESPERA
Cantidad de plaquetas obtenidas	BAJA 15 ml de sangre= $1-3 \times 10^9$ plaquetas	ALTA. $30 \times 10^9$ plaquetas 10 Veces más plaquetas que con el método en tubo
Almacenamiento del PRP	No es posible. El PRP debe ser usado inmediatamente tras la preparación	3 días at 22°C ó 12 meses congelado
Uso clínico	El PRP debe usarse inmediatamente tras prepararse Hay que realizar una extracción de sangre por cada aplicación clínica	El PRP se puede usar a lo largo de 12 meses Por cada extracción de sangre se pueden realizar entre 3 y 6 aplicaciones La preparación de PRP no se hace en la consulta
Control de calidad del PRP	El contenido en plaquetas del PRP aplicado es desconocido Riesgo de contaminación bacteriana	El contenido en plaquetas de cada PRP es bien conocido También el contenido en leucocitos y hemoglobina PRODUCTO ESTERIL Se incluye un informe médico con controles de calidad
Precio	5 to 300€ por cada aplicación. No incluye coste de analíticas	200-250€ por vial. Incluye coste analíticas y control de calidad



# Control de calidad del PRP obtenido



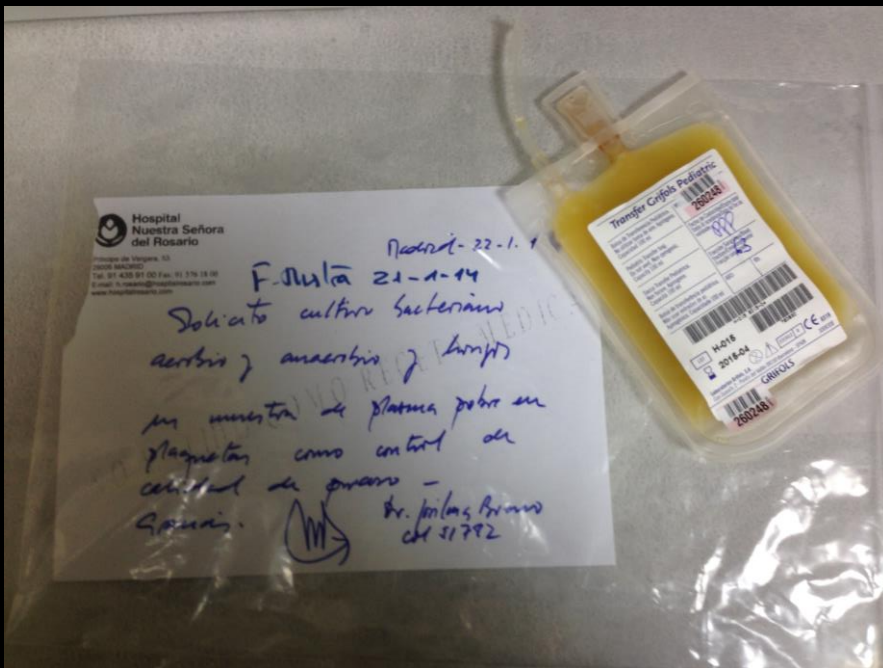
Positiva  
Diff. Cont.

WBC	12.71	[10 <sup>3</sup> /uL]		
RBC	0.66	- [10 <sup>6</sup> /uL]		
HGB	1.9	- [g/dL]		
HCT	6.5	- [%]		
MCV	98.5	[fL]		
MCH	28.8	[pg]		
MCHC	29.2	[g/dL]		
PLT	1778	Ⓢ [10 <sup>3</sup> /uL]		
RDW-SD	54.8	+ [fL]		
RDW-CV	15.8	[%]		
PDW	10.3	[fL]		
MPV	9.3	[fL]		
P-LCR	20.1	[%]		
PCT	1.65	+ [%]		
NEUT	4.32	[10 <sup>3</sup> /uL]	34.0	- [%]
LYMPH	7.41	+ [10 <sup>3</sup> /uL]	58.3	+ [%]
MONO	0.83	+ [10 <sup>3</sup> /uL]	6.5	[%]
EO	0.06	[10 <sup>3</sup> /uL]	0.5	[%]
BASO	0.09	[10 <sup>3</sup> /uL]	0.7	[%]
NRBC	0.00	[10 <sup>3</sup> /uL]	0.0	[/100W]
RET	2.44	[%]	0.0161	[10 <sup>6</sup> /uL]
IRF	16.5	[%]		
LFR	83.5	[%]		
MFR	14.0	[%]		
HFR	2.5	[%]		

El control de calidad del PRP obtenido se realiza mediante un hemograma para conocer la concentración de plaquetas y la contaminación de leucocitos y hematocrito de cada producto. Esta prueba se realiza en todos los procesos. Estas pruebas de control de calidad no son un requisito legal, pero lo consideramos Imprescindible para asegurar la calidad de nuestros productos



# Cultivos de control de laboratorio



Nombre: 260239  
Fecha Exr: 02-dic-2013  
Doctor: .  
Petición: 02120287  
Habitación: CONSULTA

**MICROBIOLOGÍA**  
Facultativo Microbiología: Dra. Catón

**Muestra: CULTIVO**

**LOCALIZACIÓN** PLASMA DESCONGELADO DE PROCESO DE PRP

**CULTIVO** El cultivo realizado, en medio aerobio y anaerobio resulta negativo a los 7 días de incubación.

**CULTIVO EN MEDIO SABOURAUD** Negativo

Aunque el método PRoPosit es un sistema cerrado que asegura la esterilidad de los productos, de forma aleatoria (cada 20 procesos), se realizan análisis de control microbiológico bacteriano y de hongos.

Habitualmente se utiliza una muestra del plasma pobre en plaquetas de un proceso que no se ha utilizado para uso clínico, del que se realizan cultivos aerobios, anaerobios y en *Sabouraud*

# Seroteca, perrepeteca, y bolsa testigo de PPP como control microbiológico



De cada proceso se guardan muestras de PRP para futuros estudios de investigación y también del plasma pobre en plaquetas (PPP), que al mantenerse en condiciones de esterilidad, puede utilizarse como contra-análisis ante una eventual reclamación de pacientes

# Informe médico

VOLUMEN DE EXTRACCION (ml de sangre)				150			
<b>HEMOGRAMA BASAL * (Bolsa de extracción)</b>							
Leucocitos (10 <sup>3</sup> /L):	4,67	5,32	Neutrófilos (%):	70			
Hematies (10 <sup>6</sup> /L):	4,56	5,20	Linfocitos (%):	20			
Hemoglobina (g/dL):	14,8	16,87	Monocitos (%):	5			
Hematocrito (%):	39,5	45,03	Eosinófilos (%):	1			
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /L):	270	307,80	Basófilos (%):	5			
VCM (fl):	95						
MCH (pg):	43						
MCHC (g/dL):	23						

\*Los resultados de la primera columna muestran el resultado del hemograma realizado en una muestra de sangre obtenido de la bolsa de extracción. La segunda columna muestra los resultados calculados en una muestra del paciente sin estar diluida con anticoagulante; y que serían los obtenidos en un análisis normal de una muestra del paciente. El diferencial de leucocitos, VCM, HCM y MCHC no se alteran por la dilución.

<b>E. INMUNOHEMATOLOGICO</b>			
Grupo Sanguineo:	A		
RH:	POSITIVO		
Escrutinio de anticuerpos Irregulares:	NEGATIVO		

<b>SEROLOGIA</b>			
HBSAg:	NEGATIVO	NAT Triplex	NEGATIVO
HCV:	NEGATIVO	VHB/VHC/HIV	
HIV 1-2:	NEGATIVO	Observaciones Serología:	
Sífilis RPR:	NEGATIVO	todo bien	
Serología:			
HBsAg; Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sífilis y NAT-VHB/VHC/HIV 1-2			
NEGATIVO			

<b>PLASMA RICO EN PLAQUETAS DE ALTA CONCENTRACIÓN (PRP-AC)/LISADO PLAQUETAR</b>			
Vol PRP (ml):	16	Leucocitos (10 <sup>9</sup> /L):	1,3
Nº Alicuotas:	3	Hemoglobina (g/dL):	0,4
Conc. Plaquetas (10 <sup>9</sup> /L)	2.000	Hematocrito (%):	2
Cont. total plaquetas (10 <sup>10</sup> ):	3,2	Vol PPP (ml):	80

<b>DESCRIPCION DE PRODUCTOS DISTRIBUIDOS</b>						
Nº Proceso	Nombre producto	Vol. (ml)	Pla. (10 <sup>9</sup> /L)	Leuc. (10 <sup>9</sup> /L)	Hgb. (g/dL)	Hcto. (%)
123	Lisado plaquetar de ALTA concentración. (Alic. 0)	2	2300	4		
123	Lisado plaquetar de ALTA concentración. (Alic. 1)	5,9	2300	6,7	2,7	1,9
123	Lisado plaquetar de ALTA concentración. (Alic. 2)	6	2300	4	2	1
123	Plasma FC autólogo POBRE en plaquetas (PPP) (de 150ml)	12		30	0	1

Comentarios: MMM

Contiene información del hemograma, grupo ABO Rh, anticuerpos irregulares Pruebas microbiológicas y control de calidad de los productos obtenidos



# Entrega y almacenamiento del producto



Los productos se envasan en contenedores con marca CE para el almacenamiento de productos sanguíneos.

Tanto el transporte como el almacenamiento de los productos se realiza con equipamiento validado para el transporte de componentes sanguíneos y con un registro continuo de la temperatura de transporte y almacenamiento. Cumplimos la normativa establecida en el RD 1088/2005 para componentes sanguíneos.



# Aplicación clínica del PRP



El producto se entrega al facultativo prescriptor, que aplica el producto para la indicación terapéutica que ha sido prescrita.

PRoPosit provee a los facultativos prescriptores de un Procedimiento operativo para el correcto uso de nuestros productos





**HEMOGRAMA BASAL \* (Bolsa de extracción)**

Leucocitos (10 <sup>3</sup> /L):	4,67	5,32	Neutrófilos (%):	70
Hematíes (10 <sup>6</sup> /L):	4,56	5,20	Linfocitos (%):	20
Hemoglobina (g/dL):	14,8	16,87	Monocitos (%):	5
Hematocrito (%):	39,5	45,03	Eosinófilos (%):	1
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /L):	270	307,80	Basófilos (%):	5
VCM (fl):	95			
MCH (pg):	43			
MCHC (g/dL):	23			

\*Los resultados de la primera columna muestran el resultado del hemograma realizado en una muestra de sangre obtenido de la bolsa de extracción. La segunda columna muestra los resultados calculados en una muestra del paciente sin estar diluída con anticoagulante; y que serían los obtenidos en un análisis normal de una muestra del paciente. El diferencial de leucocitos, VCM, HCM y MCHC no se alteran por la dilución.

**E. INMUNOHEMATOLOGICO**

Grupo Sanguineo:	A
RH:	POSITIVO
Escrutinio de anticuerpos Irregulares:	NEGATIVO

**SEROLOGIA**

HBSAg:	NEGATIVO	NAT Triplex	NEGATIVO
HCV:	NEGATIVO	VHB/VHC/HIV	
HIV 1-2:	NEGATIVO	Observaciones Serologia:	
Sífilis RPR:	NEGATIVO	todo bien	
Serología:	HBsAg; Anti-VHC; Anti-HIV 1-2; Sífilis y NAT-VHB/VHC/HIV 1-2 NEGATIVO		

**PLASMA RICO EN PLAQUETAS DE ALTA CONCENTRACIÓN (PRP-AC)/LISADO PLAQUETAR**

Vol PRP (ml):	16	Leucocitos (10 <sup>9</sup> /L):	1,3
Nº Alicuotas:	3	Hemoglobina (g/dL):	0,4
Conc. Plaquetas (10 <sup>9</sup> /L)	2.000	Hematocrito (%) :	2
Cont. total plaquetas (10 <sup>10</sup> ):	3,2	Vol PPP (ml):	80

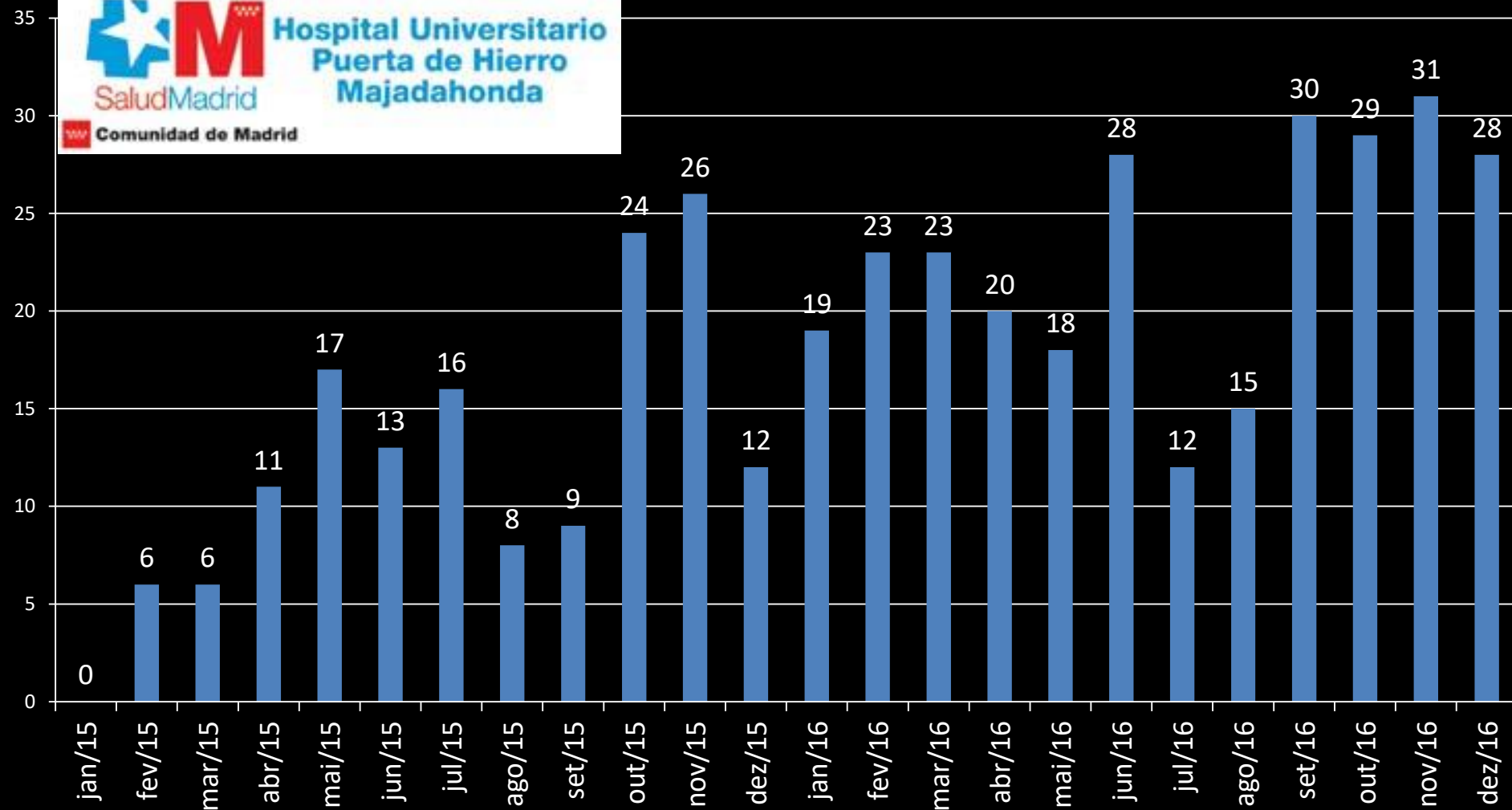
**DESCRIPCION DE PRODUCTOS DISTRIBUIDOS**

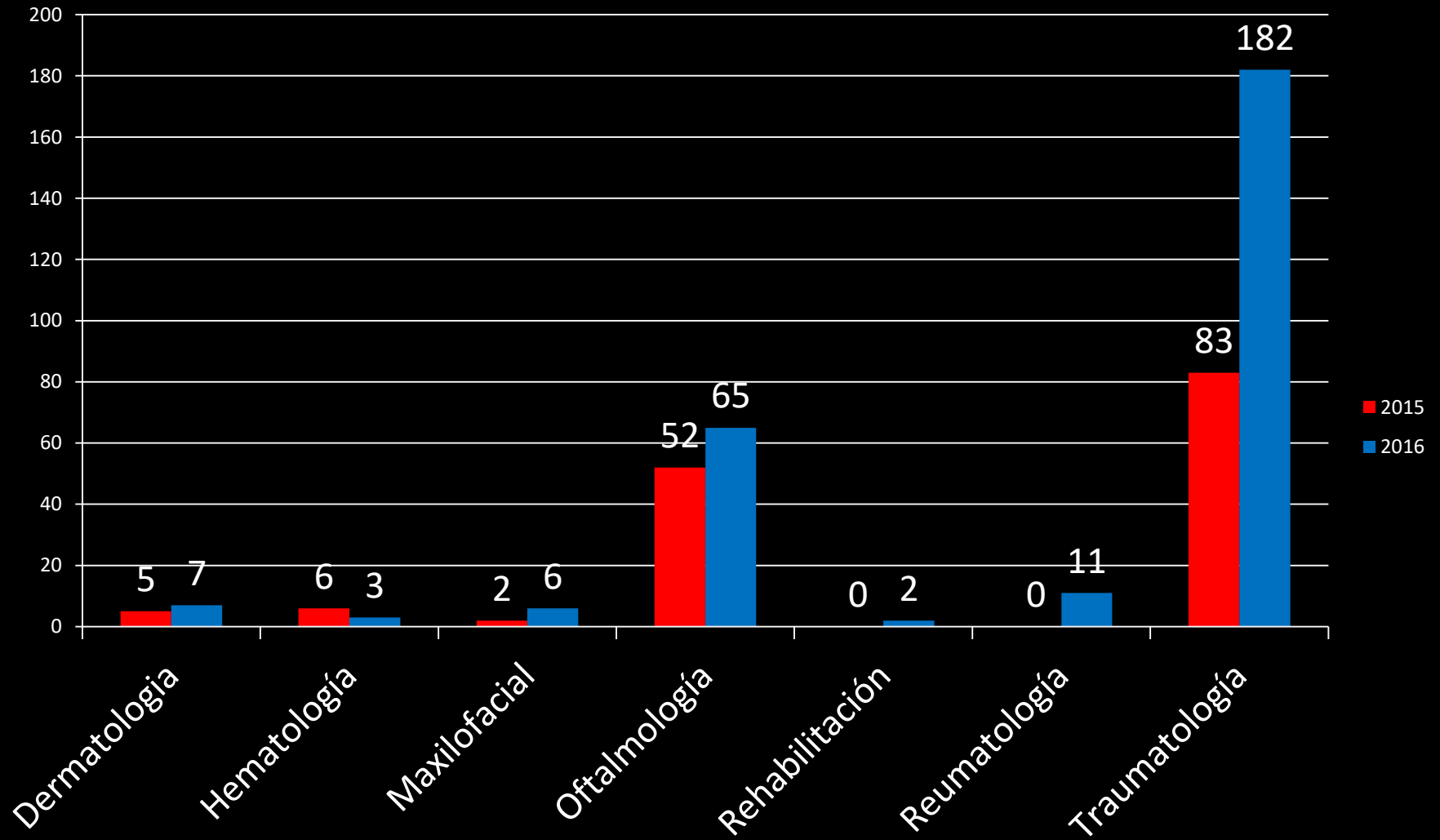
Nº Proceso	Nombre producto	Vol. (ml)	Plaq. (10 <sup>9</sup> /L)	Leuc. (10 <sup>9</sup> /L)	Hgb. (g/dL)	Hcto. (%)
123	Lisado plaquetar de ALTA concentración. (Alic. 0)	2	2300	4		
123	Lisado plaquetar de ALTA concentración. (Alic. 1)	5,9	2300	6,7	2,7	1,9
123	Lisado plaquetar de ALTA concentración. (Alic. 2)	6	2300	4	2	1
123	Plasma FC autólogo POBRE en plaquetas (PPP) (de 150ml)	12		30	0	1

Comentarios: MMM

# PRP procedures per months

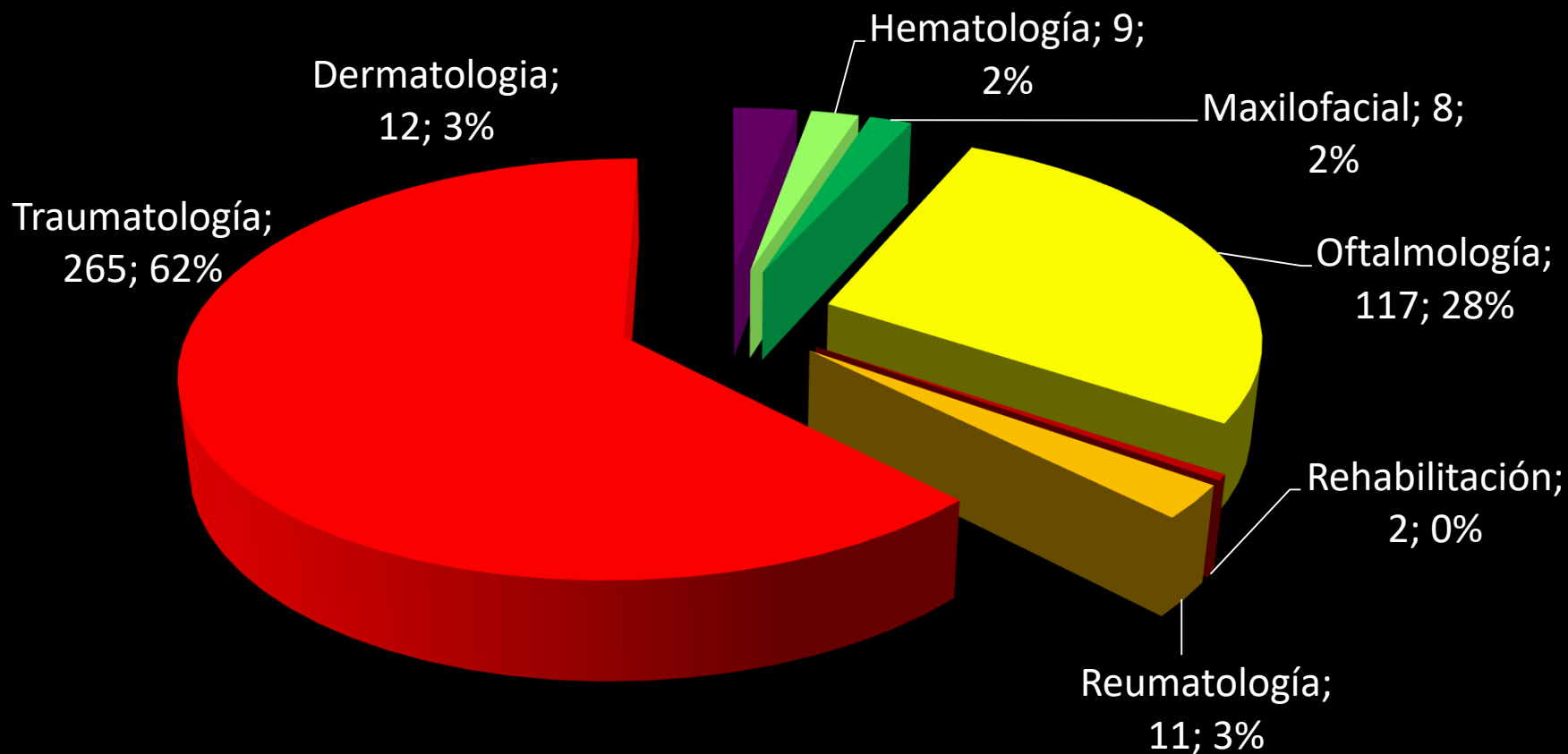
## Unidad de Hemoterapia no Transfusional PDH



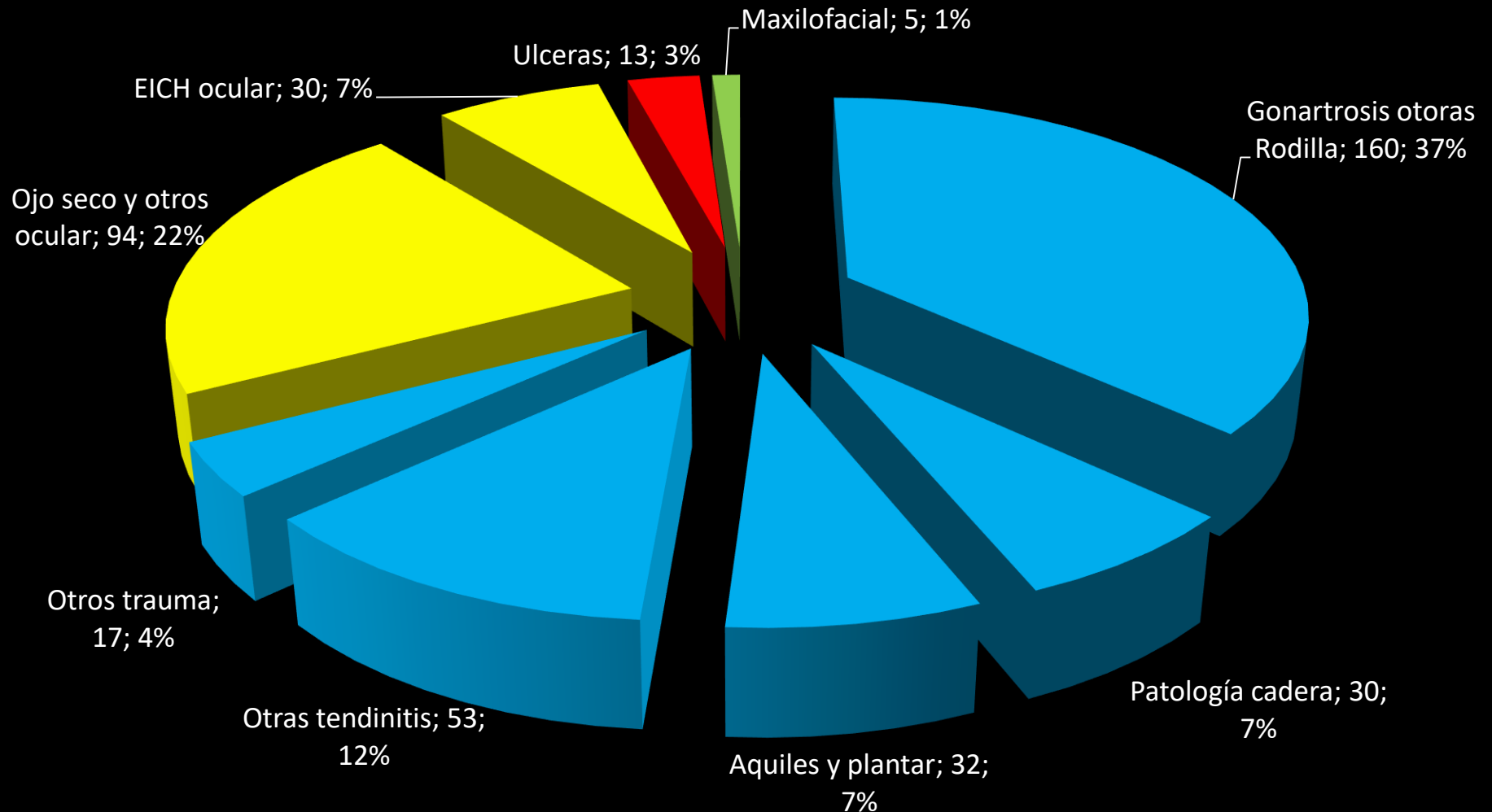


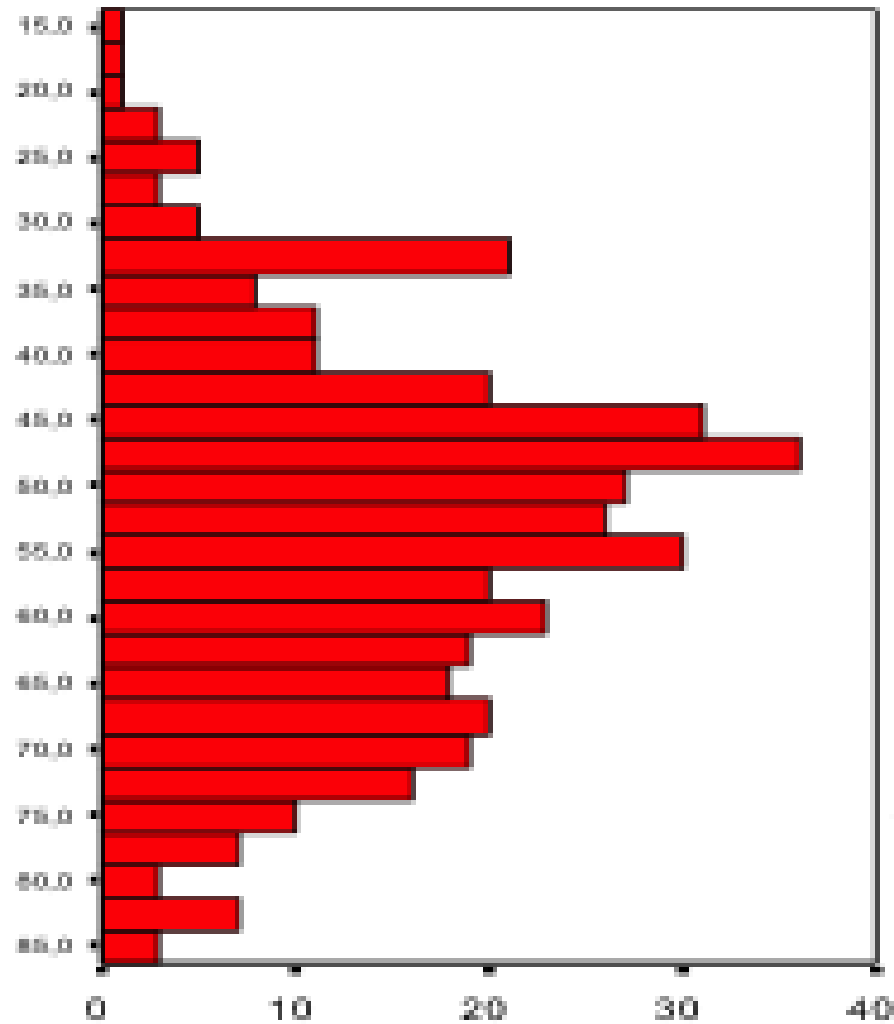


# Procesos PRP por Servicios Unidad de Hemoterapia no Transfusional PDH



# Procesos PRP por Procesos Unidad de Hemoterapia no Transfusional PDH





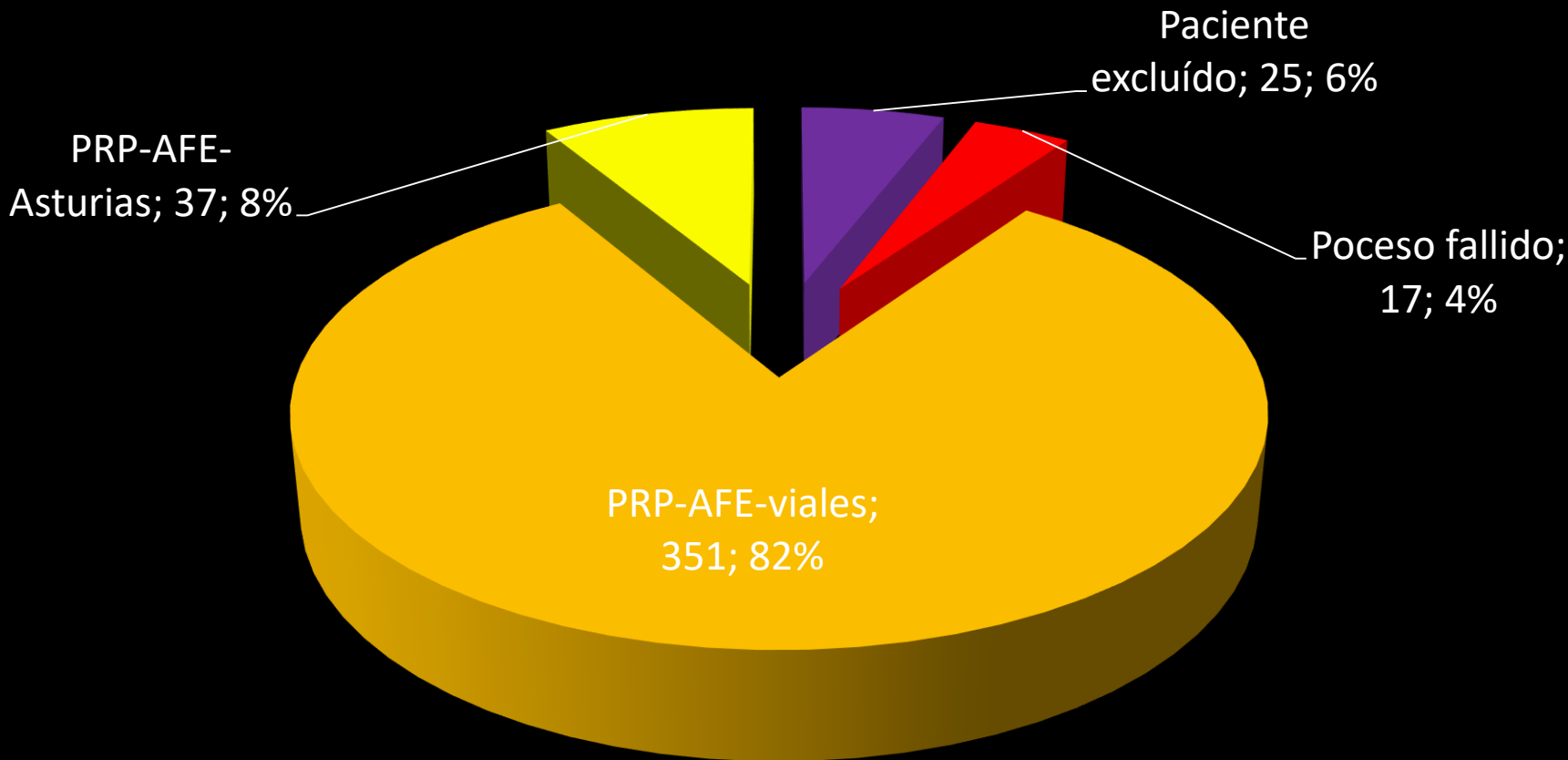
Std. Dev = 13,97

Mean = 53,6

N = 405,00

# Procesos PRP. Exclusiones y fallidos

## Unidad de Hemoterapia no Transfusional PDH



Hospital Universitario  
Puerta de Hierro  
Majadahonda

SaludMadrid

Comunidad de Madrid



# PRP UHNT-PDH feb 2015 a feb 2016.

	n	media	mediana	SD	Max	Min
Edad	193	54,88	54,01	15,34	94,44	14,82
Tiempo aféreis (min)	173	36,49	32,00	14,88	133,00	13,00
Vol PRP (ml)	175	130,13	121,00	38,04	308,00	44,00
Plq en PRP (x 10 <sup>9</sup> /L)	172	1221,03	1230,50	407,33	3155,00	250,00
Leucos en PRP (x 10 <sup>9</sup> /L)	170	0,18	0,00	1,23	10,70	0,00
Hto PRP (%)	171	0,36	0,10	3,14	41,20	0,00



Hospital  
Nuestra Señora  
del Rosario



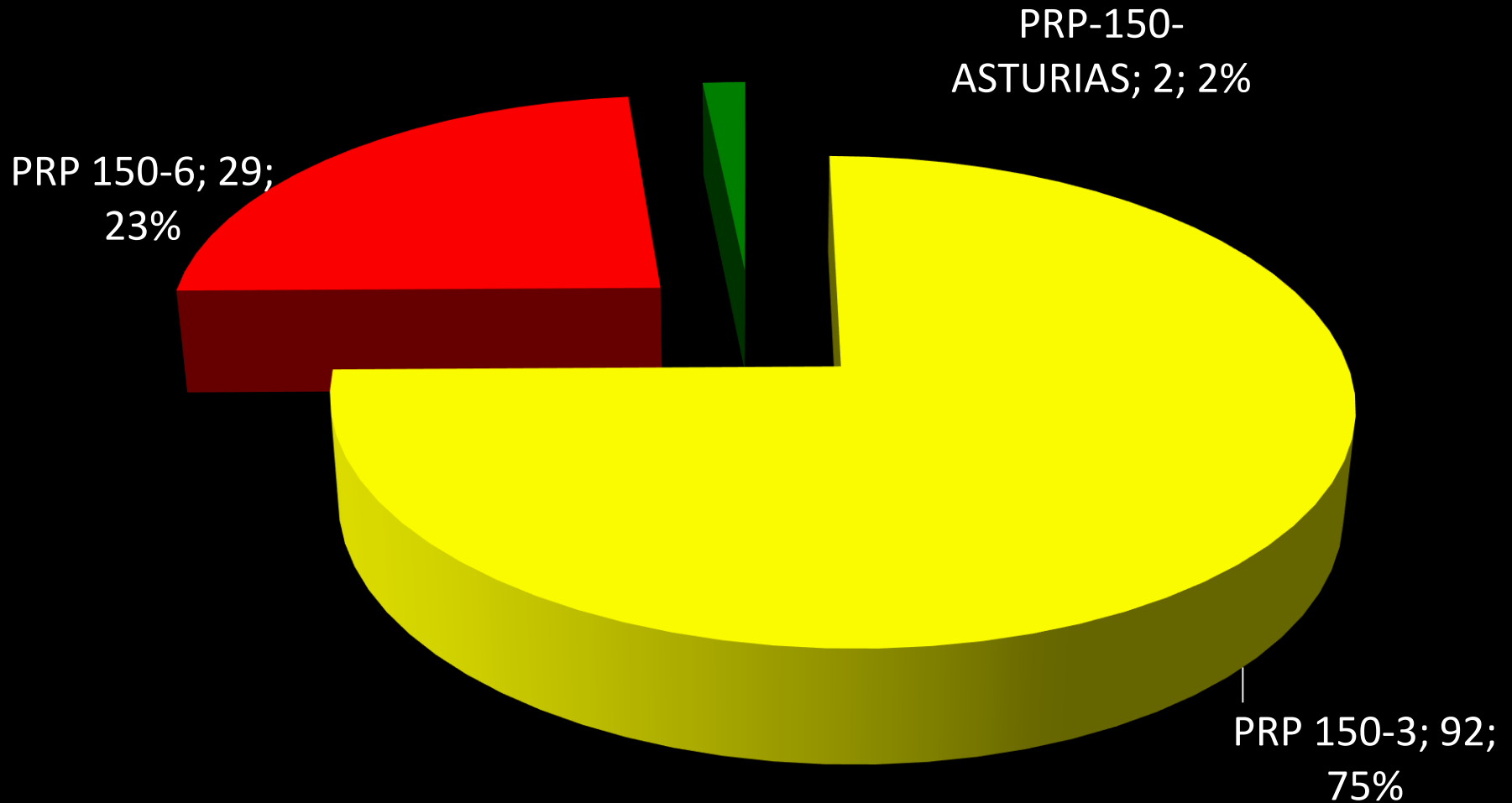
**PProPosit**

sapere aude



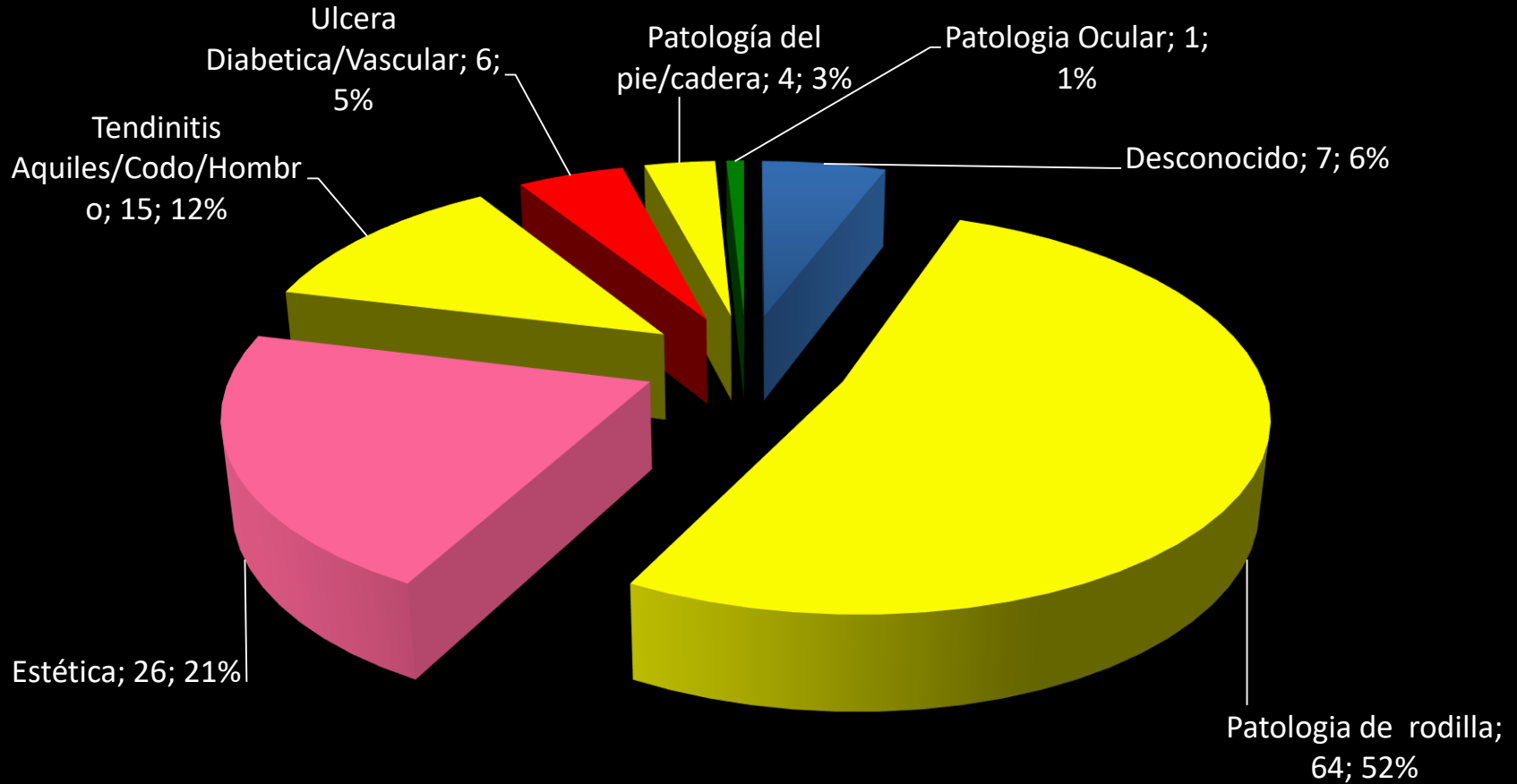
# Oct-2013-Feb 2016

## Tipo de proceso



# Oct-2013-Feb 2016

## Patología y especialidad







**PProPosit**

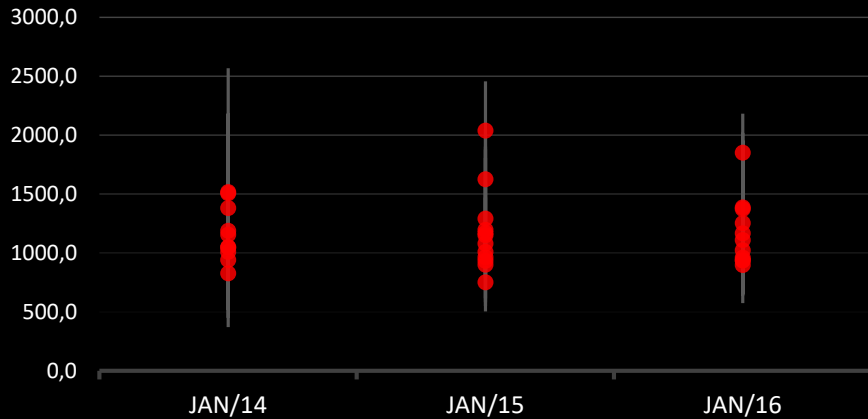
sapere aude

# Control de calidad de procesos de obtención de PRP con protocolo PRP-Bolsa-150. Marzo 2016

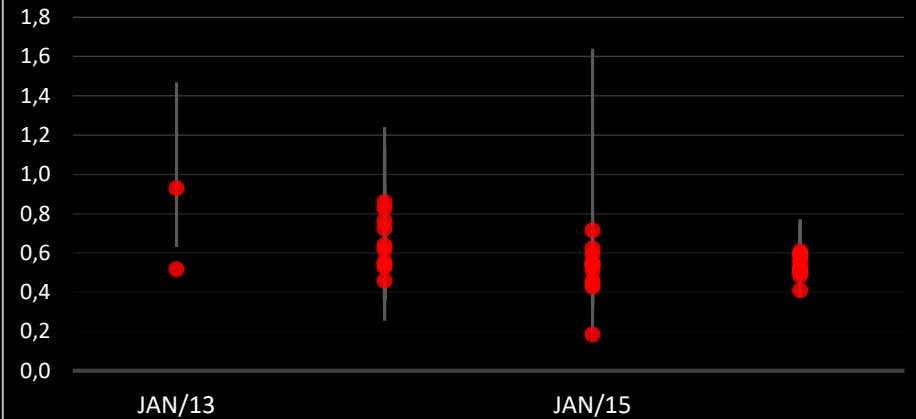
ID proceso/pulsera	contar	promedio	mediana	sd
Vol extracción (ml)	170	185,59	183,5	18,0
Volumen PRP (ml)	168	21,94	20,0	8,6
Nº Alicuotas	168	4,03	3,0	3,6
Volumen PPP (ml)	167	66,72	67,0	12,5
Plq (x 10 <sup>9</sup> /L)	167	1138,35	1098,0	425,4
Rend pre (x 10 <sup>11</sup> )	170	4,10	4,0	1,7
Rend pos (x 10 <sup>11</sup> )	167	2,31	2,2	0,9
Nº Concentraciones	167	5,53	5,0	2,3
Eficiencia (%)	167	0,59	0,6	0,2
Leucocitos PRP(x 10 <sup>9</sup> /L)	166	5,86	3,0	18,1
Hematíes PRP	166	0,12	0,1	0,1
Hematocrito PRP (%)	166	0,79	0,6	0,7
Hemoglobina PRP (g/dl)	167	0,30	0,2	0,5

# Oct-2013-Dic 2016. Tipo de proceso

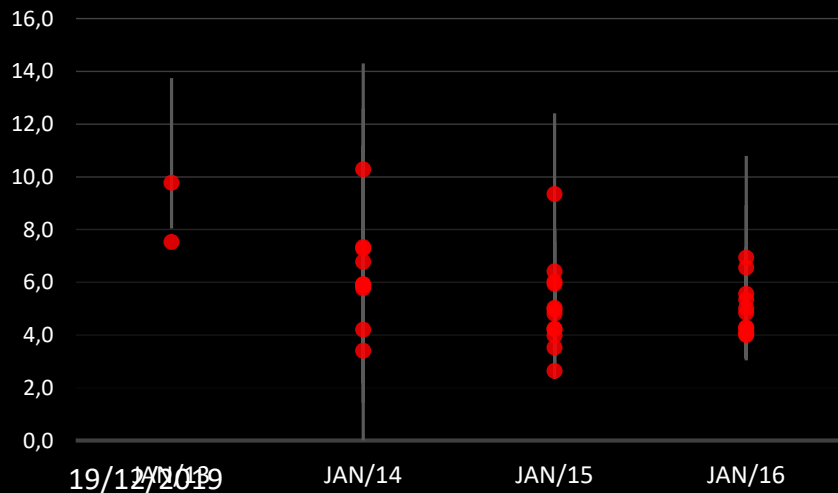
## Plaquetas (mm)



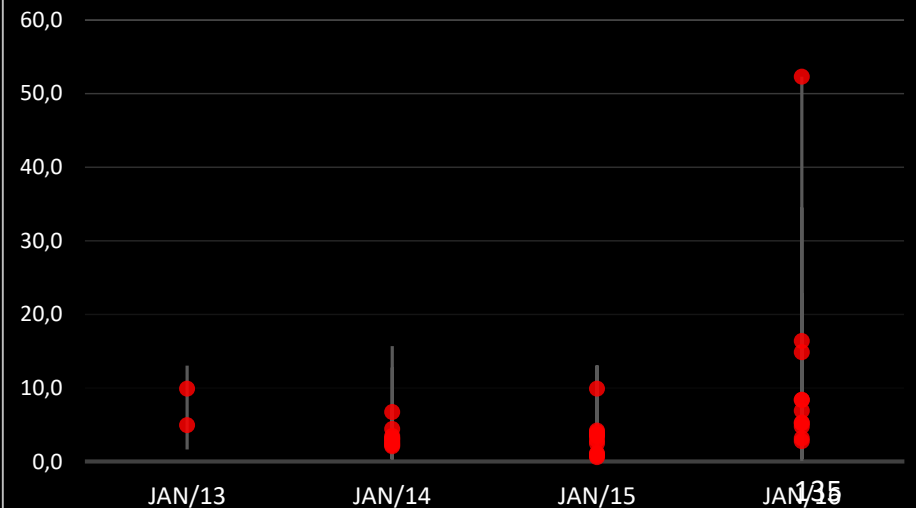
## Eficiencia



## Número de concentraciones



## Leucocitos

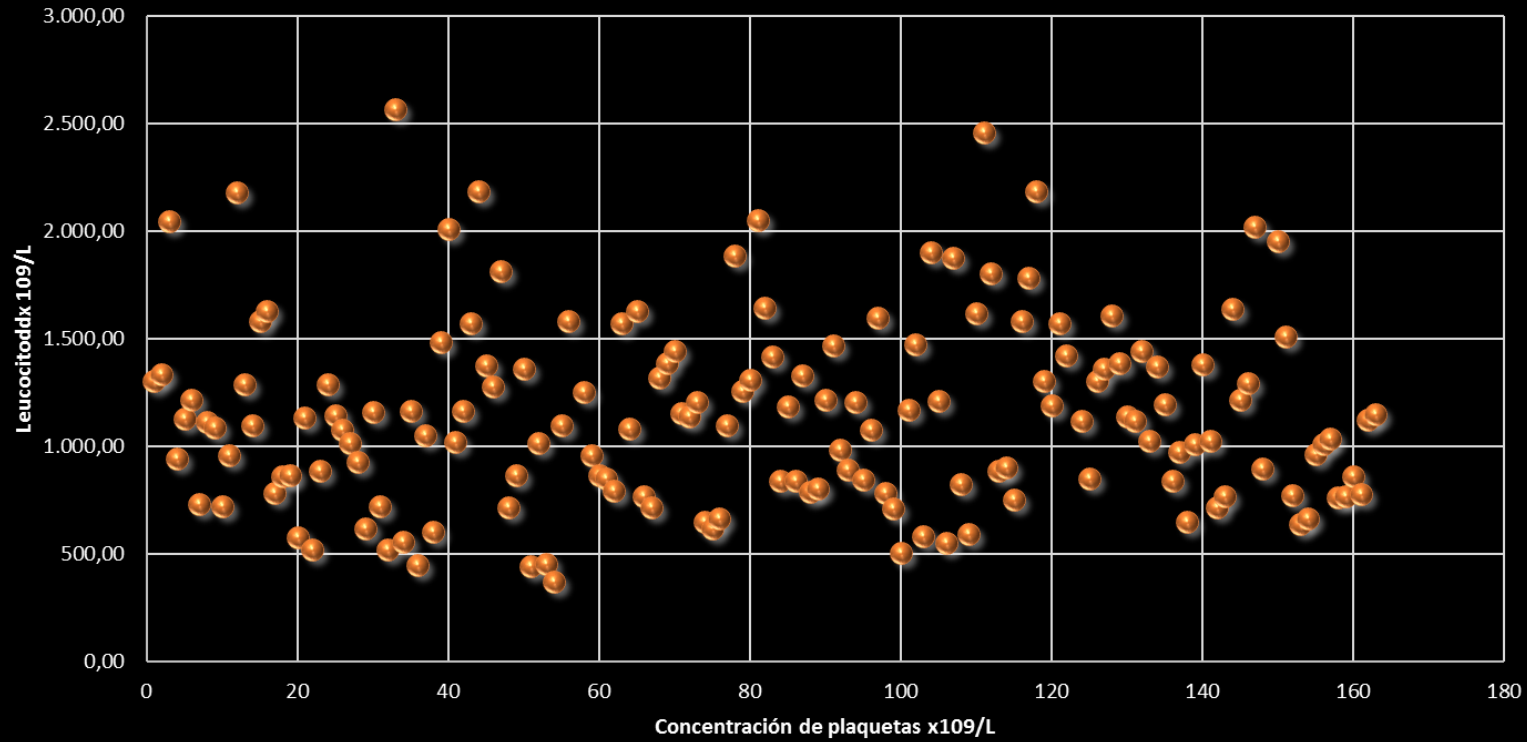




# Control de calidad de procesos de obtención de PRP con protocolo PRP-Bolsa-150. Dic 2016

**PRoPosit**  
sapere aude

Relación entre concentración de plaquetas y contenido en leucocitos



# Farmacovigilance.

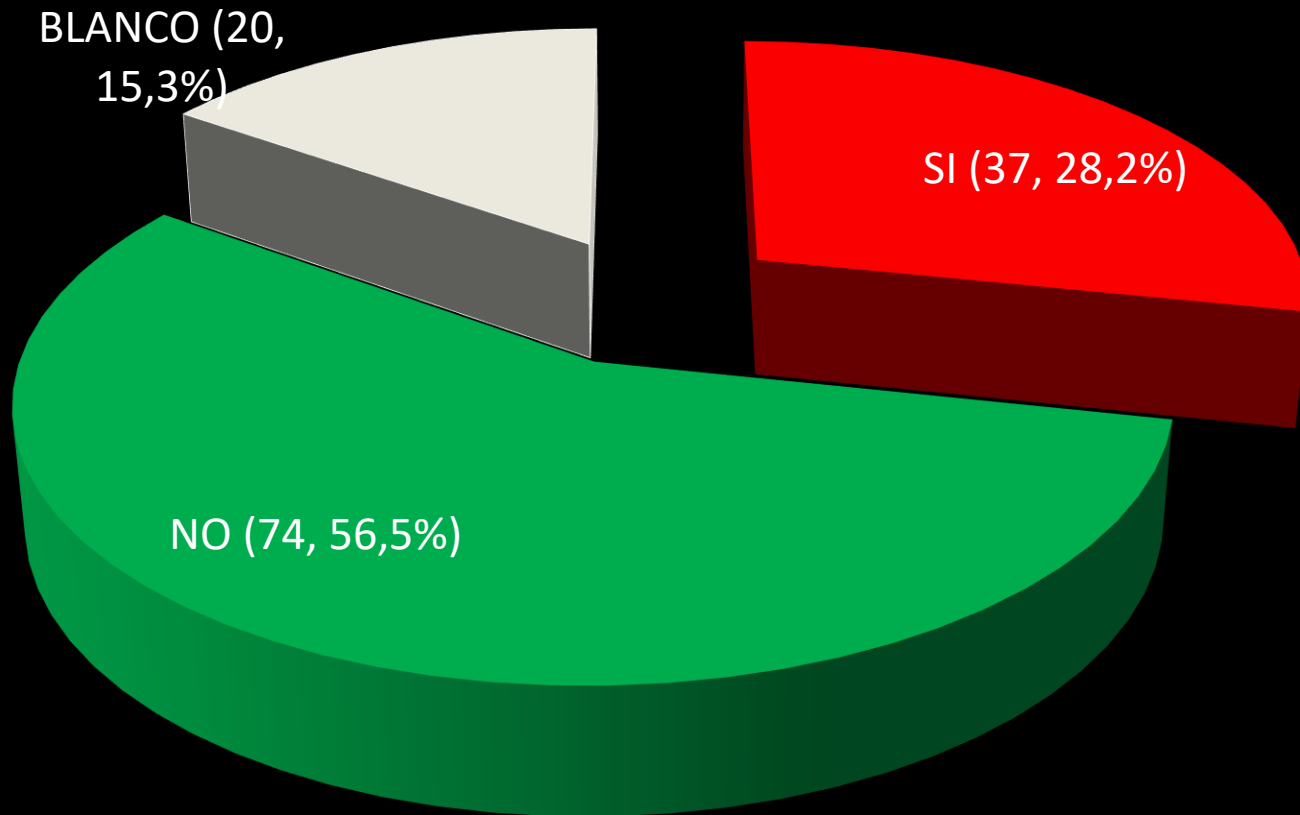
## Oct-2013-Dic 2016

- 156 patients
- 214 phone calls
- 131 answers(61.2%)
- Time from the blood collection
  - Median 7.2 months(0,3 - 31)



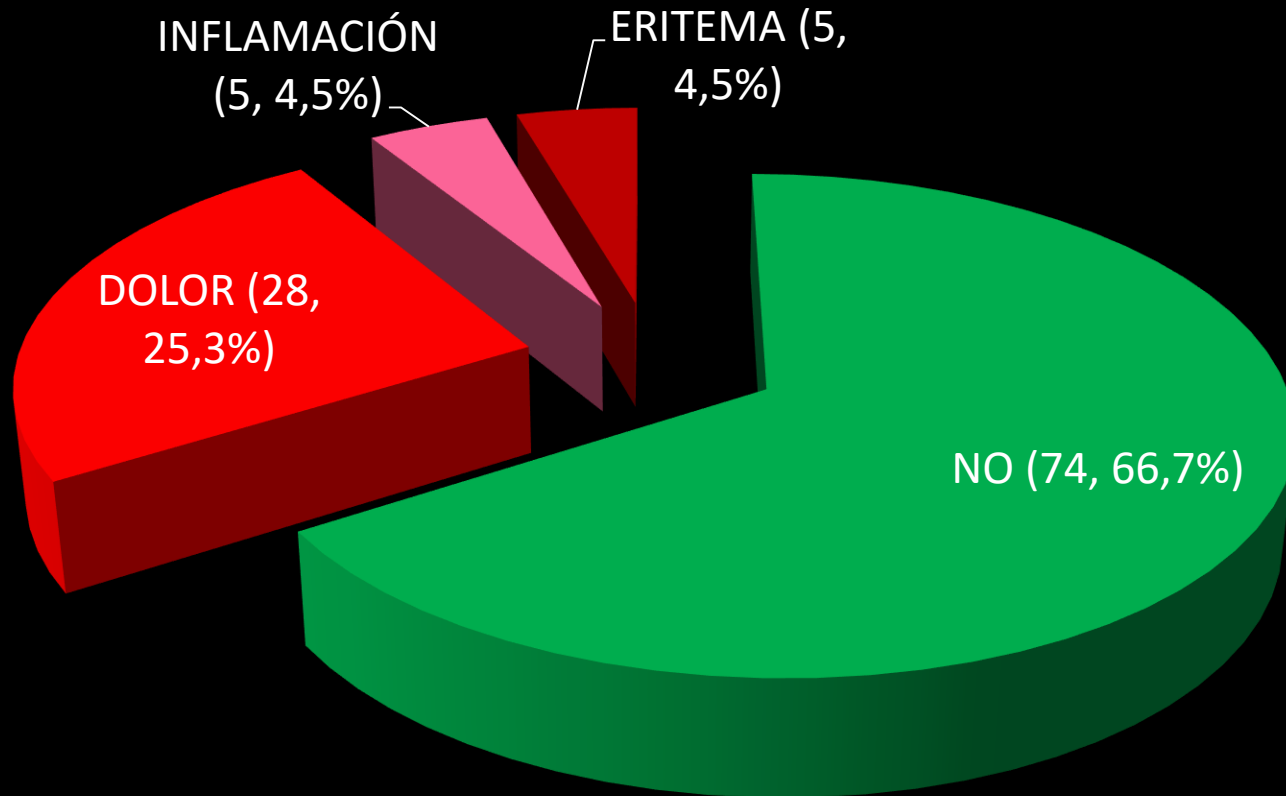
# Farmacovigilance. Oct 2013 - Dic 2016

## “Adverse events yes/no”



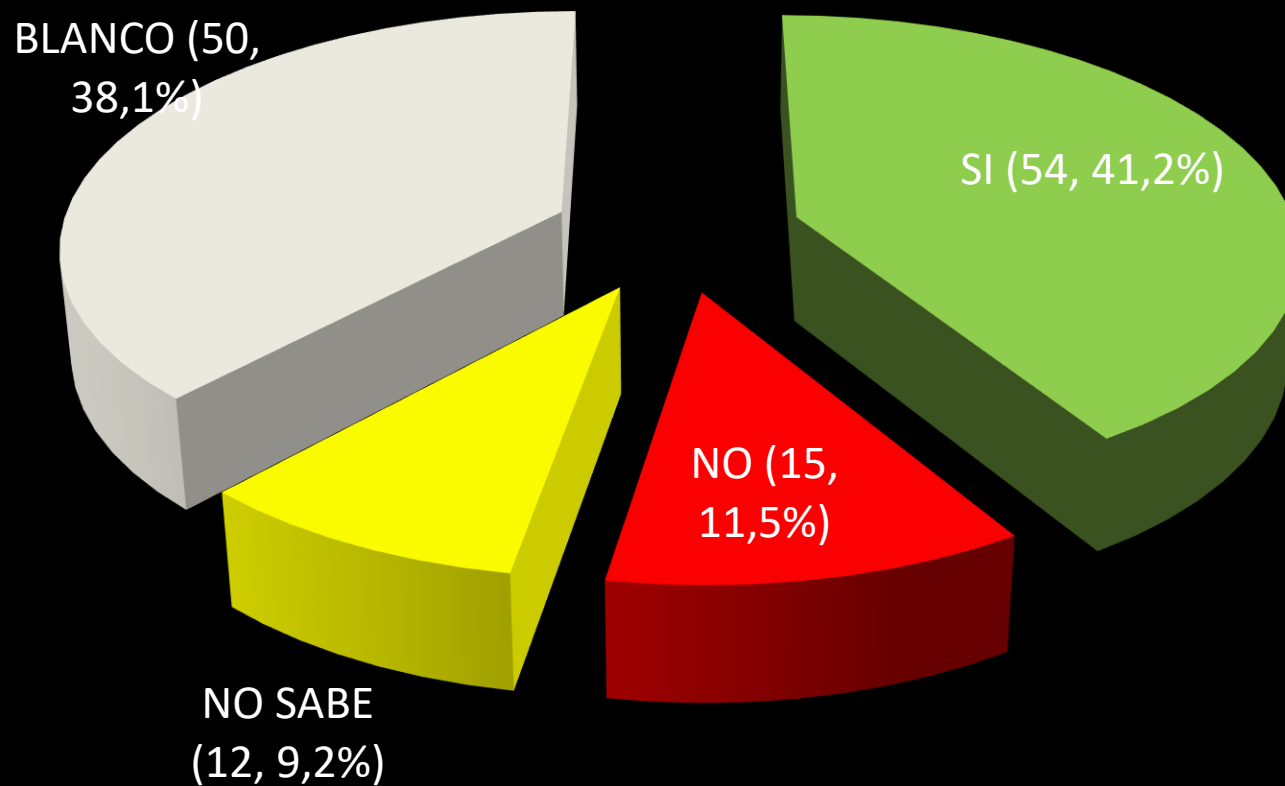
# Farmacovigilance. Oct-2013-Dic 2016

## Adverse events

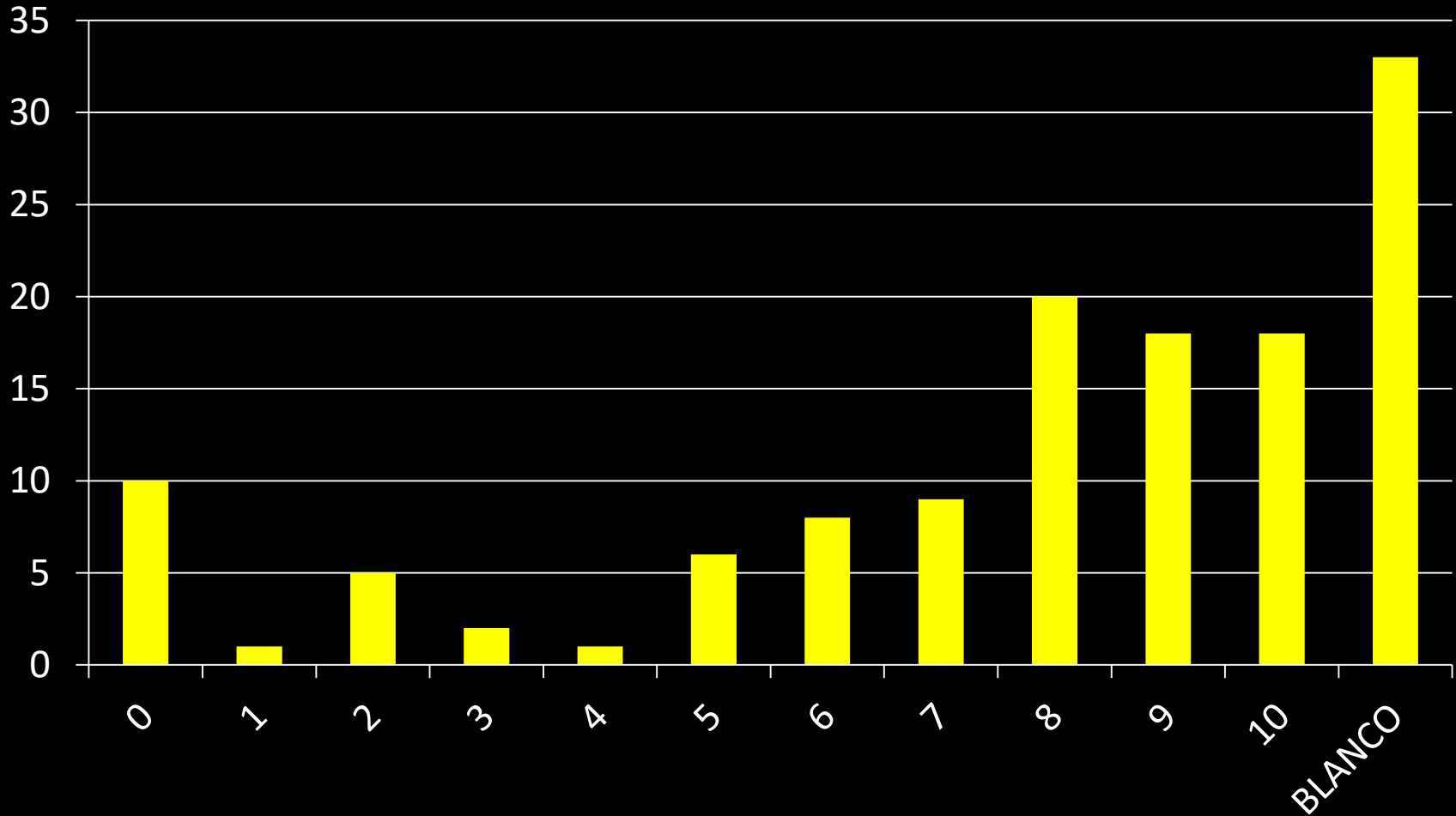


# Farmacovigilancia. Oct-2013-Dic 2016

“Was the treatment effective?”



# Satisfaction rating



MEDIANA

8

MAX

10

MIN

0



El Bálsamo de Fierabrás, n.º 6 Don Quijote de la Mancha

[www.todocoleccion.net](http://www.todocoleccion.net)



BRIEF REPORT

## Vision Loss after Intravitreal Injection of Autologous “Stem Cells” for AMD

Ajay E. Kuriyan, M.D., Thomas A. Albin, M.D., Justin H. Townsend, M.D.,  
Marianeli Rodriguez, M.D., Ph.D., Hemang K. Pandya, M.D.,  
Robert E. Leonard II, M.D., M. Brandon Parrott, M.D., Ph.D.,  
Philip J. Rosenfeld, M.D., Ph.D., Harry W. Flynn, Jr., M.D.,  
and Jeffrey L. Goldberg, M.D., Ph.D.

### SUMMARY

Adipose tissue–derived “stem cells” have been increasingly used by “stem-cell clinics” in the United States and elsewhere to treat a variety of disorders. We evaluated three patients in whom severe bilateral visual loss developed after they received intravitreal injections of autologous adipose tissue–derived “stem cells” at one such clinic in the United States. In these three patients, the last documented visual acuity on the Snellen eye chart before the injection ranged from 20/30 to 20/200. The patients’ severe visual loss after the injection was associated with ocular hypertension, hemorrhagic retinopathy, vitreous hemorrhage, combined traction and rhegmatogenous retinal detachment, or lens dislocation. After 1 year, the patients’ visual acuity ranged from 20/200 to no light perception.

### STEM-CELL PROCEDURE

According to the documentation that we obtained, the procedure was carried out in the patients as follows. An adipose-rich periumbilical area was injected subcutaneously with an anesthetic solution to prepare for tumescent liposuction. Fifteen to 20 minutes later, additional local anesthetic was injected, followed by a 60-ml liposuction aspiration, and the sample of adipose tissue was processed to isolate the putative stem cells.

In parallel, standard phlebotomy was performed to collect 35 ml of whole blood, which was centrifuged to separate a platelet-rich plasma fraction. The liposuction aspirate was washed in 60 ml of cell-wash solution with gentle agitation for 2 to 4 minutes, after which the aqueous fraction was removed and the cells underwent enzyme treatment for 12 minutes at 37°C, with 30 seconds of vigorous shaking every 6 minutes. After dissociation, the cells were centrifuged at 1800 rpm for 5 minutes, creating a pellet of stromal vascular cells. These cells were resuspended, washed in cell-wash solution, and centrifuged again.

The pelleted cells were resuspended in 1 to 6 ml of platelet-rich plasma and used immediately for intravitreal injection into both eyes as described





# PRP and cancer risk

## *Malignancy*

Therapeutic use of growth factor-rich preparations logically raises concerns on potential oncogenic side-effects [57]. Suspicions of an increased risk of cancer risks have been reported in a post-marketing retrospective cohort study in susceptible patients treated topically with three or more tubes (15 g; 0.01%) of recombinant human (rh-) PDGF-BB (Regranex) used for treating leg ulcers [58]. There is, however, no report of increased risk of malignancy associated with the use of PG. Several elements should be taken into consideration to assess the risk of malignancy from PG: the content of growth factors in PG (for instance PDGF-BB is present at mean of 1–10 ng/ml, corresponding to 10–100 ng/application when 10 ml of PG releasate is used per treatment) is much lower than that prescribed for rh-PDGF-BB (one tube contains 150 mg). In a worse case situation, 10 ml PG for three times a week over 1 month would lead to apply about 120 ml of PG, or 120–1200 ng of PDGF-BB. However, as PG contains other growth factors than PDGF-BB, caution should be in place when using PG in patients with malignancy.



**MSC** expanded in autologous **HPL**. Adverse event surveillance revealed a few cases most probably related to the re-implant procedure and three cases possibly related to stem cell applications. These few cases were either self-limited or cured by small therapeutic interventions. **Importantly, no neoplastic transformations were observed at the stem cell injection site.** Although in total two patients developed tumors, **the neoplasm rate was similar to the control population.** 53.1% of the patients reported symptom relief in the follow-up period of 11 months.

## **Platelet Lysate as Replacement for Fetal Bovine Serum in Mesenchymal Stromal Cell Cultures**

Karen Bieback

Institute of Transfusion Medicine and Immunology, Medical Faculty Mannheim, Heidelberg University,  
German Red Cross Blood Service Baden-Württemberg – Hessen, Mannheim, Germany



## PLASMA RICO EN PLAQUETAS PARA USO NO TRANSFUSIONAL: NECESIDAD DE UNA REGULACION PARA UN ENFOQUE ALOGÉNICO

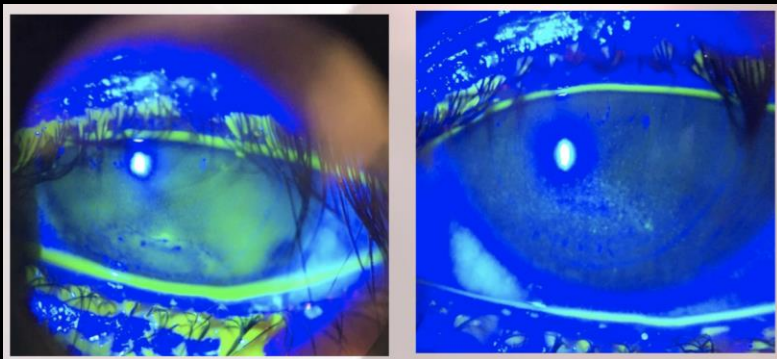
Autores: Alarcón Tomás, Ana(1); Naya Errea, Daniel (1); Salas, Angela (1), Romera Martínez, Irene(1); Valdés, Nuria (2); Alarcón Tomás, María (2) Ninamango, Luz (1) Cabrera Marín, Rafael(1); María Jesús Núñez; Bueno Cabrera, José Luis(1).

(1)Unidad de Hemoterapia No Transfusional. Servicio de Hematología. HU Puerta de Hierro-Majadahonda.

(2)Servicio de Oftalmología. HU Puerta de Hierro-Majadahonda.



Adicionalmente al procedimiento estándar utilizado para los procesos autólogos, estos productos fueron sometidos a irradiación con 25 Gy como prevención de EICH transfusional.



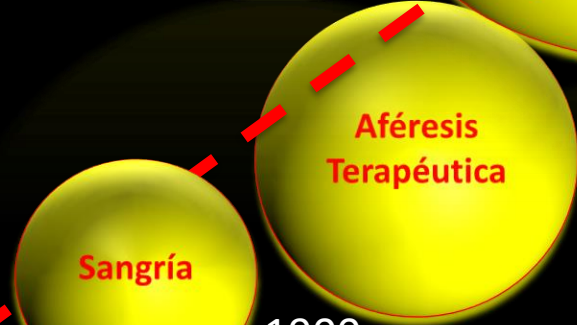
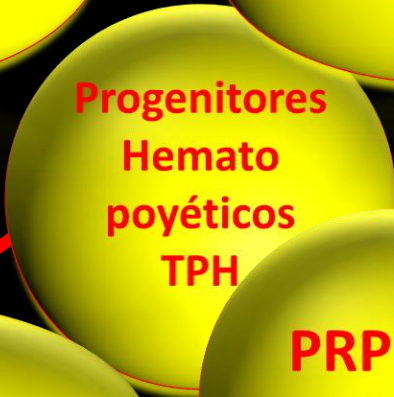
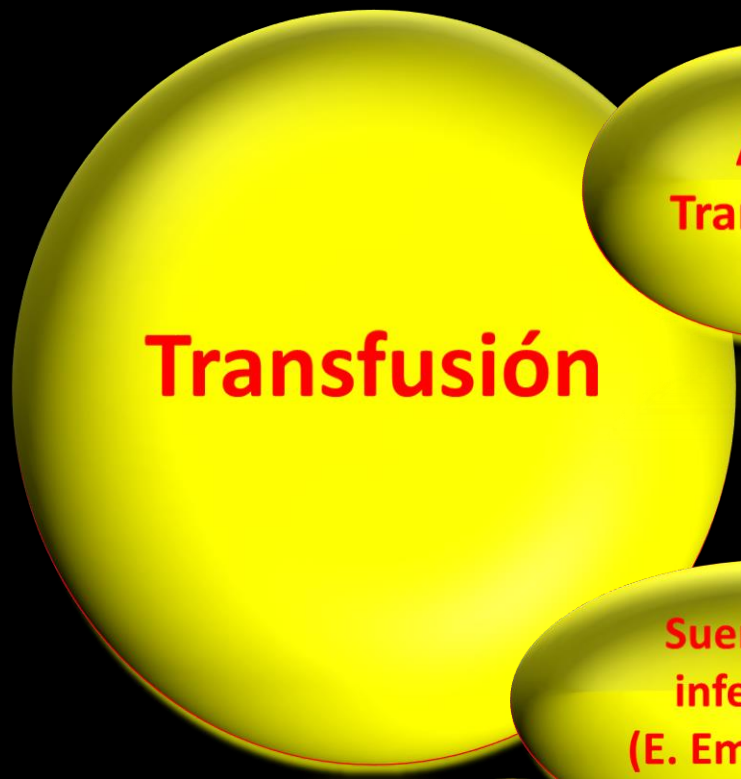
Paciente y patología	Causa de exclusión para obtención autóloga	Donante	Número de procesos
Varón 40 años, EICH ocular	Trombopenia grave	Donante altruista de plaquetas	1
Varón 30 años, EICH ocular	Trombopenia grave	Hermana.	7
Varón 33 años, EICH ocular	Mal acceso venoso	Hermana.	7
Niño 7 años, Queratopatía por exposición.	Peso inferior a 50 kg y mal acceso venoso	Madre	1
Niño 6 años, Queratopatía por exposición.	Peso inferior a 50 kg y mal acceso venoso	Madre	1

## Conclusiones

El PRP alogénico ofrece una eficacia similar al autólogo en el uso oftalmológico. Con una correcta evaluación previa del riesgo en relación al potencial beneficio terapéutico, el uso de PRP alogénico debe ser considerado una opción terapéutica en patologías graves en las que no es posible la disponibilidad de producto autólogo. En ausencia de una regulación específica para el PRP alogénico, consideramos este producto un componente sanguíneo, y como tal, nos amparamos en la normativa legal establecida en el RD 1088/2005.

*Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, por el que se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión no se contempla*

# Hemoterapia Transfusional



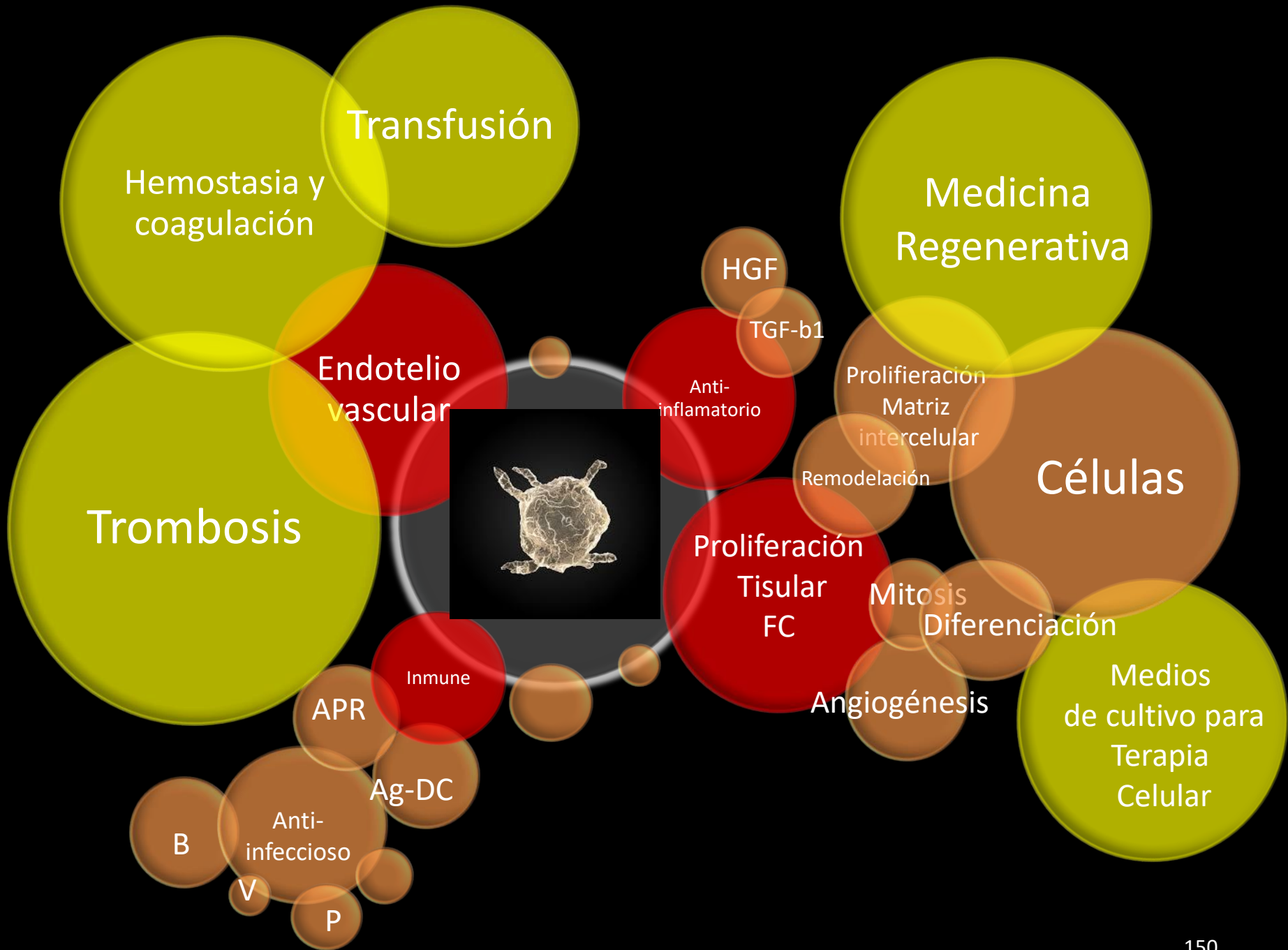
# Hemoterapia NO Transfusional



1900

2000

2015





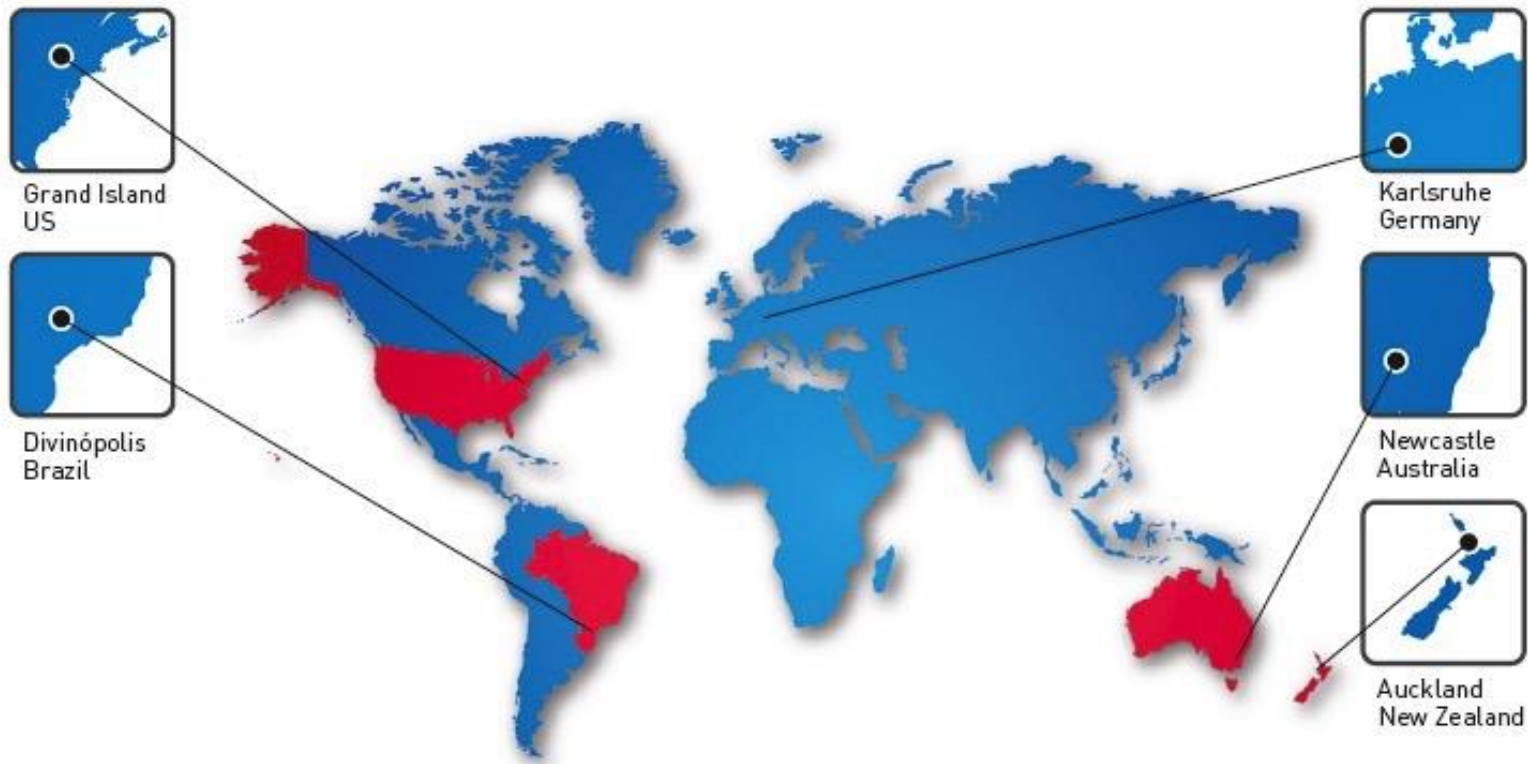




*"Fetal bovine serum"* (Suero Bovino fetal) procede de fetos bovinos.

- *"Newborn calf serum"*. Se obtiene de terneros de menos de 3 semanas.
- *"Calf serum"*. Suero de ternero. Procede de terneros de menos de 12 meses.
- *"Adult bovine serum"*. Suero de terneros adultos. Se obtiene de terneros de más de 12 meses.
- *"Donor bovine serum"*. Se obtiene de la sangre de terneros obtenida en un proceso de donación de sangre parecido al de los humanos.





Fetal bovine serum (FBS) is a by-product of the beef industry, which drives availability and cost for manufacturers of cell culture products such as Life Technologies.

Due to rising costs of the raw materials needed to produce fetal bovine serum, we will increase our FBS pricing in 2014. Specific causes for these increases include, but are not limited to:

- Reduction in supply due to climatic events and economic conditions
- Increased demand from life science and pharmaceutical customers (Figure 1)

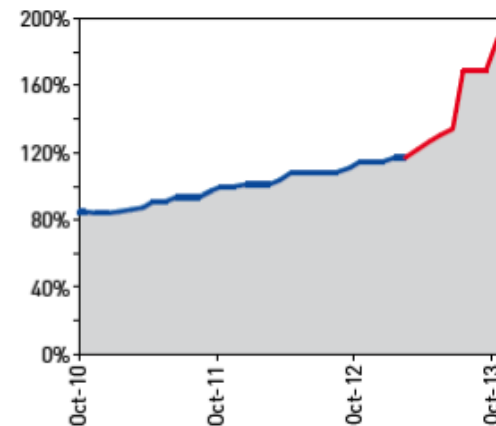
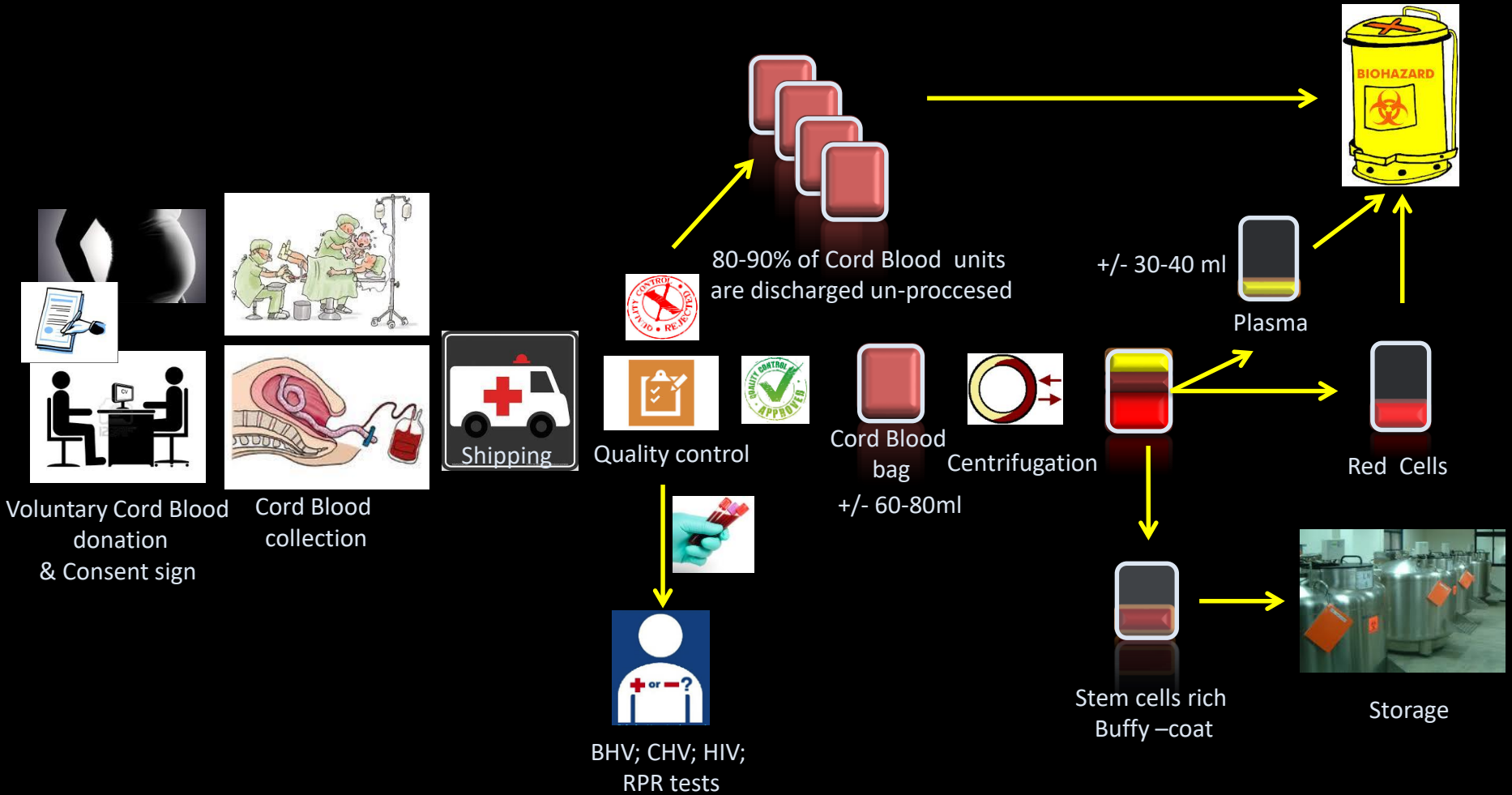


Figure 1. Global FBS cost index.

Sería de gran interés la disponibilidad de un producto alternativo al FBS que cumpliera las siguientes características.

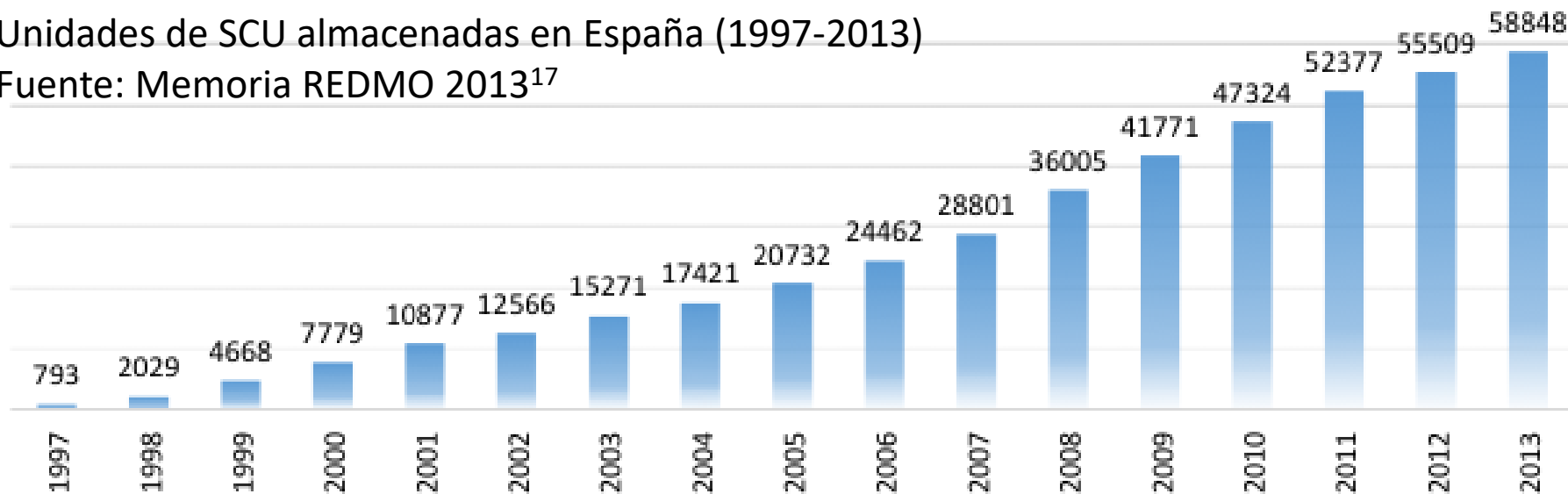
- Que fuese **más seguro** que el FBS; y preferiblemente de **origen no animal**.
- Que estuviese disponible en gran cantidad y **bajo coste**.
- Que fuese más **eficiente** que el FBS. (menos volumen y mayor tasa de crecimiento celular)
- Que ofreciera resultados más previsibles (**estandarización**).

# CORD BLOOD DONATION AND PROCESSING



## Unidades de SCU almacenadas en España (1997-2013)

Fuente: Memoria REDMO 2013<sup>17</sup>



### Unidades de sangre de Cordón Umbilical. España. Datos REDMO

Año	Almacenadas	Procesadas	Extraídas*
2013	58849	3770	18850
2012	55509	3132	15660
2011	52377	5053	25265
2010	47324	5184	25920
2009	42140	6338	31690
2008	35802	7001	35005
2007	28801	5173	25865
2006	23628	2896	14480
2005	20732	3311	16555
2004	17421	2150	10750
2003	15271	15271	76355

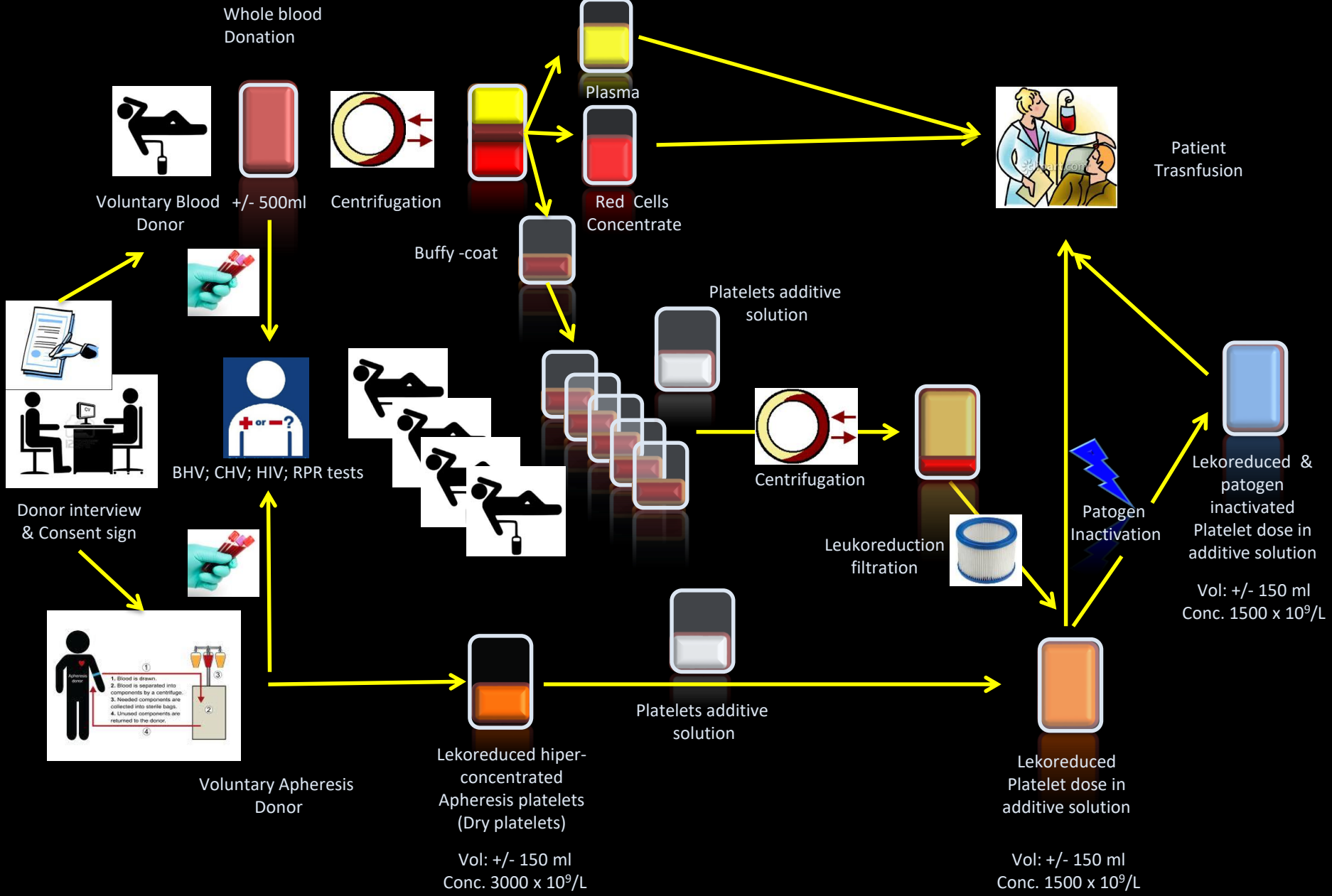
\* Datos calculados asumiendo que se procesan el 20% de las extraídas.





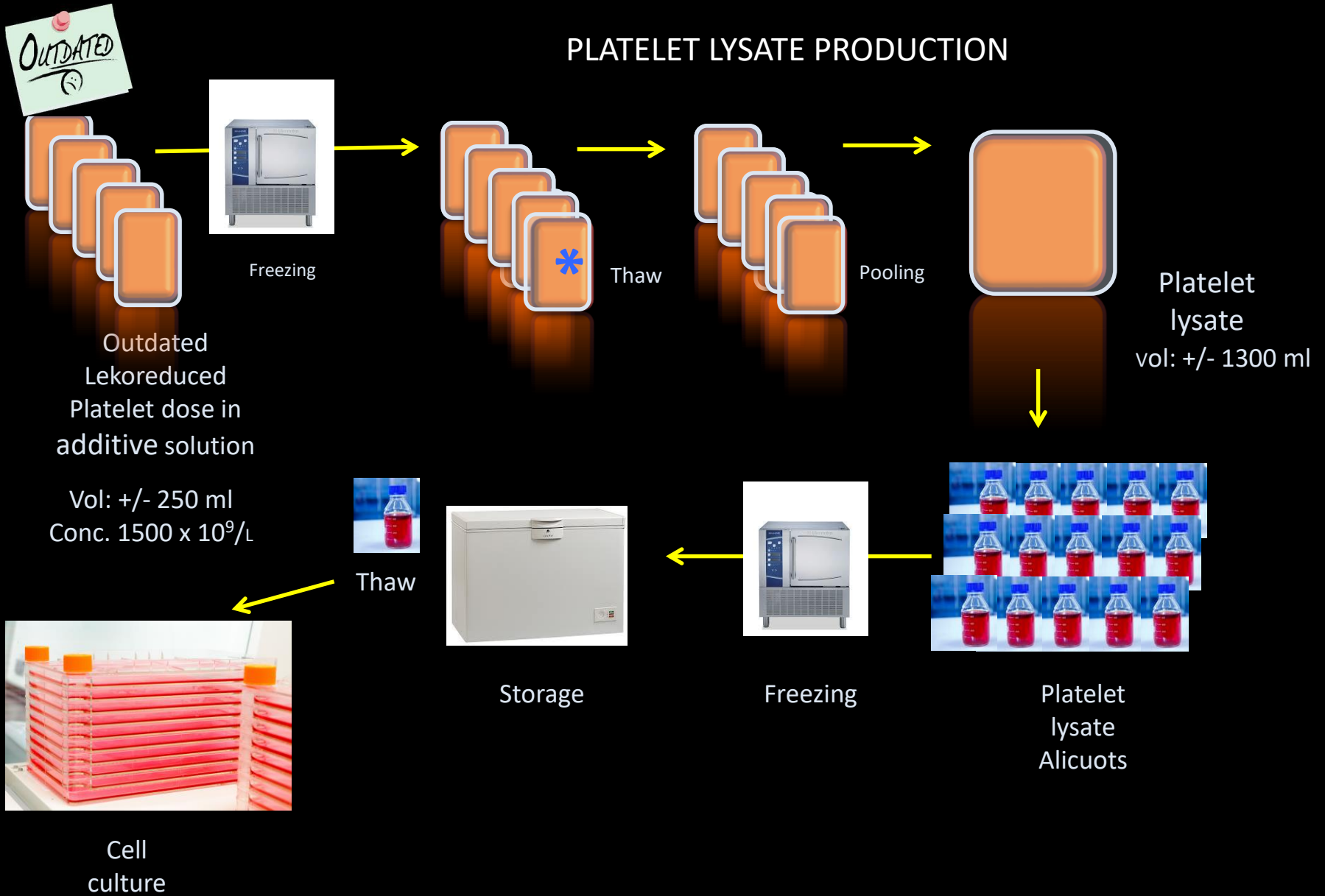


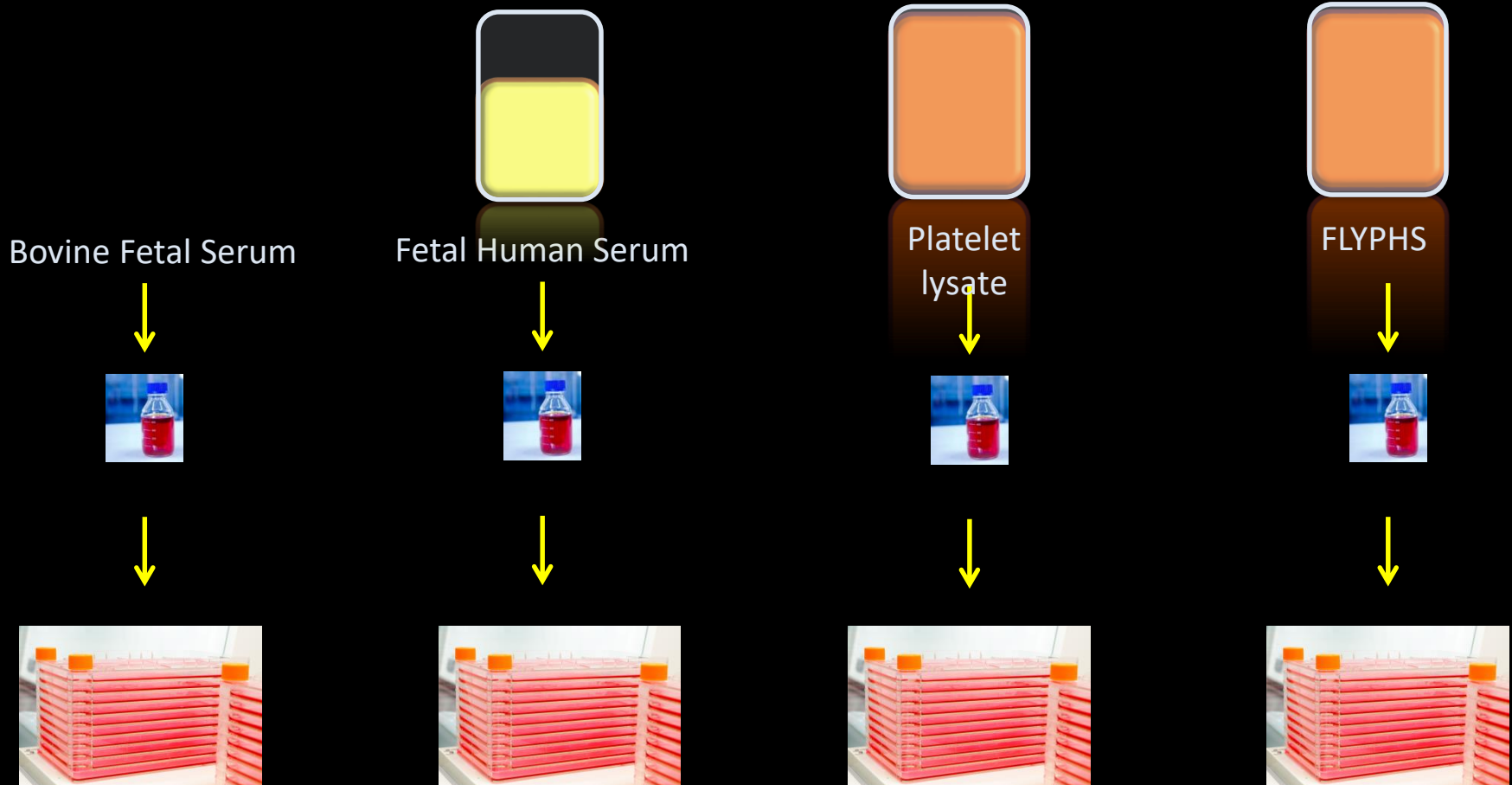
# TRANSFUSIONAL PLATELETS PRODUCTION





# PLATELET LYSATE PRODUCTION









①  
FHS  
3-9-14  
6-10-14  
20.2g

②  
FHS  
3-9-14  
6-10-14  
20.8g

③  
FHS  
3-9-14  
6-10-14  
20.6g

④  
FHS  
3-9-14  
6-10-14  
20.6g

⑤  
FHS  
3-9-14  
6-10-14  
20.6g

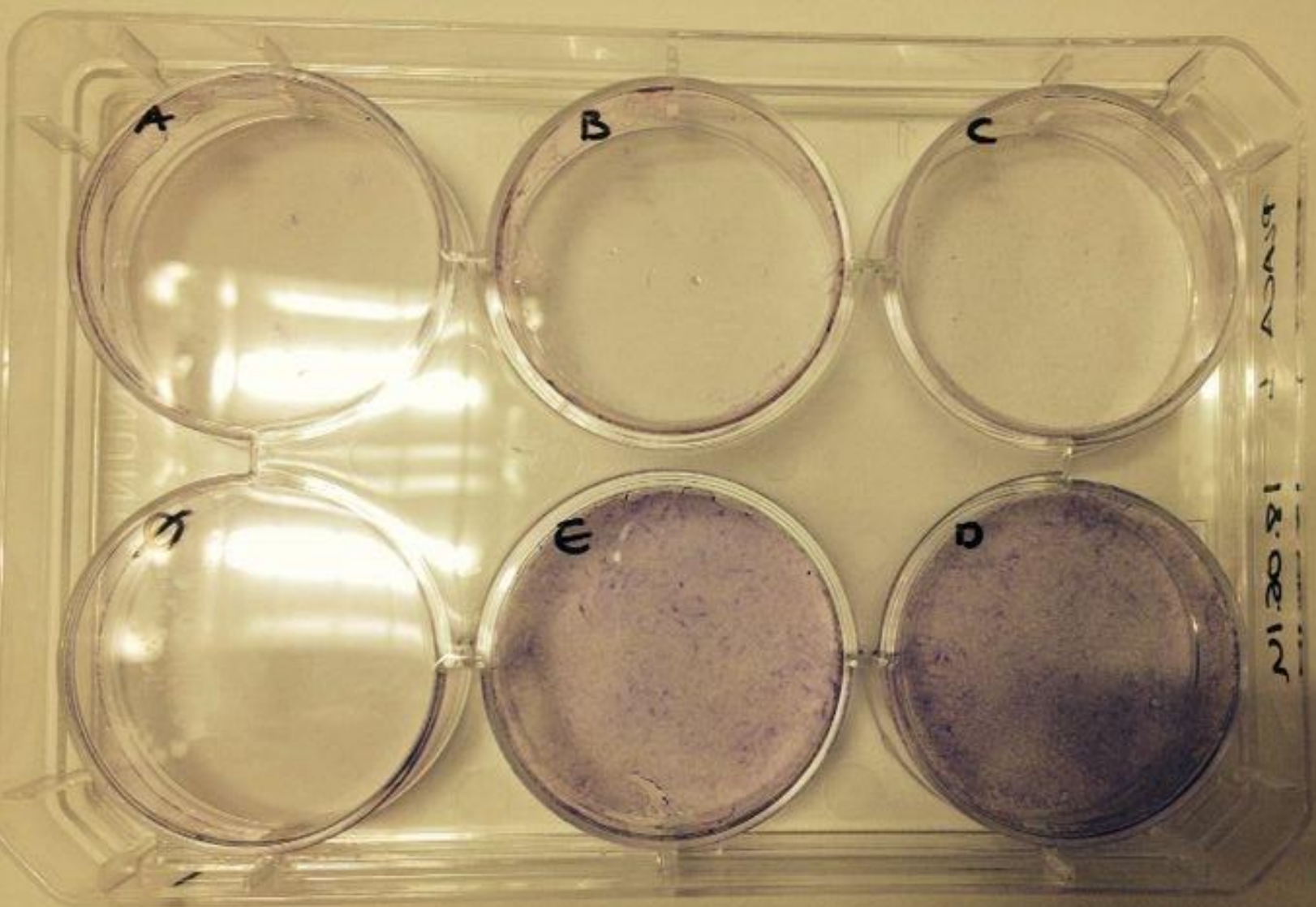
⑥  
FHS  
3-9-14  
21.8g

⑦  
3-9-14  
S-FHS  
21.3g

⑧  
3-9-14  
FHS-MS  
22.6g

⑨  
3-9-14  
S-FHS-MS  
18.6g





18.08.14

A

B

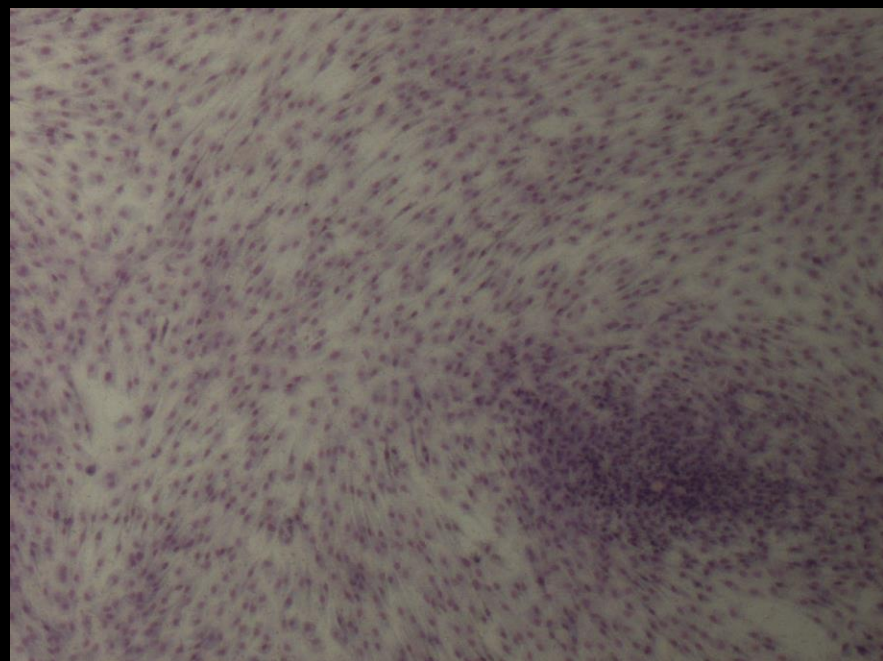
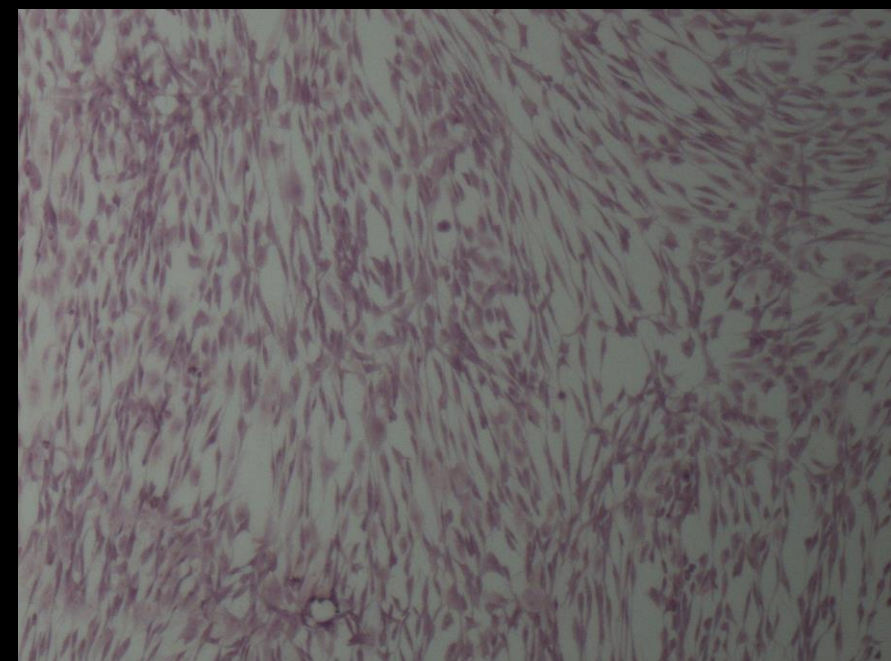
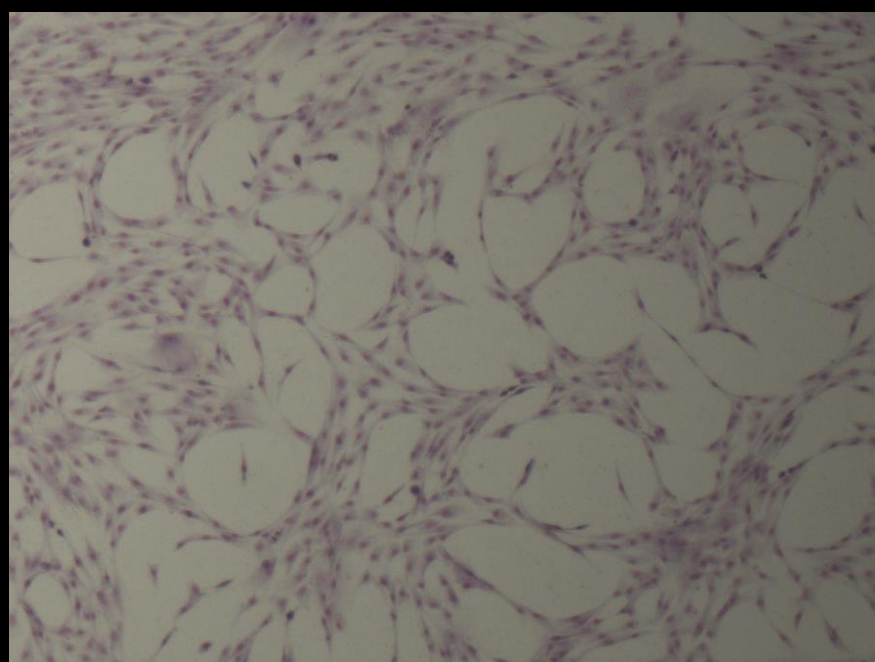
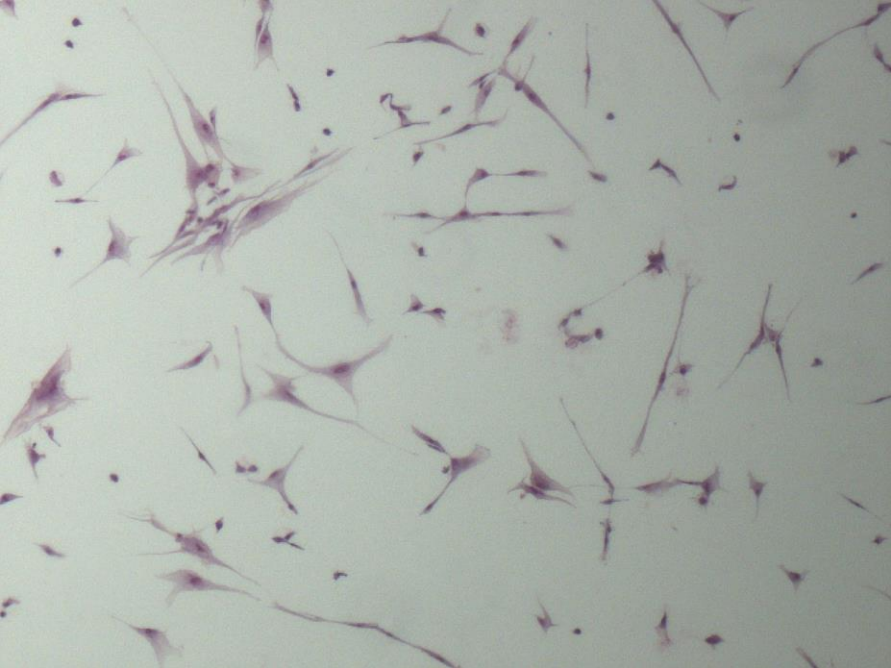
C

D

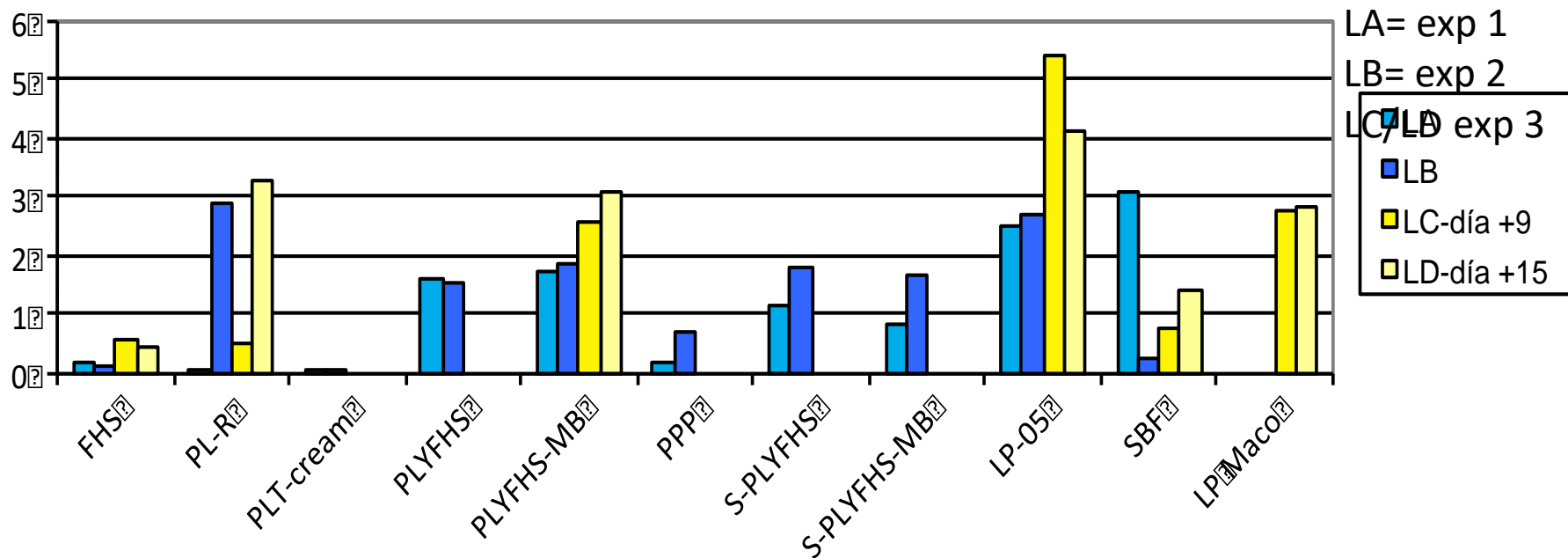
E

F





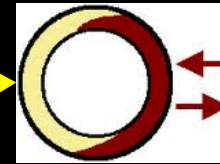
## Contaje celular (En Leucoc) en los experimentos Nov 2014



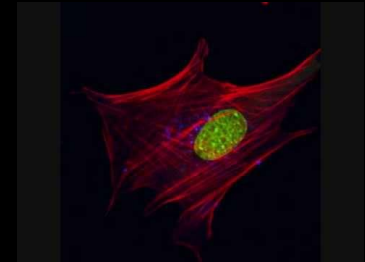
# Lisado de plaquetas autólogo para terapia celular

Preparación de cultivos celulares autólogos: CME; otras células...

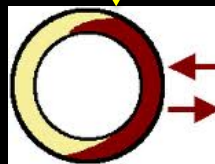
Consulta de Terapia Celular



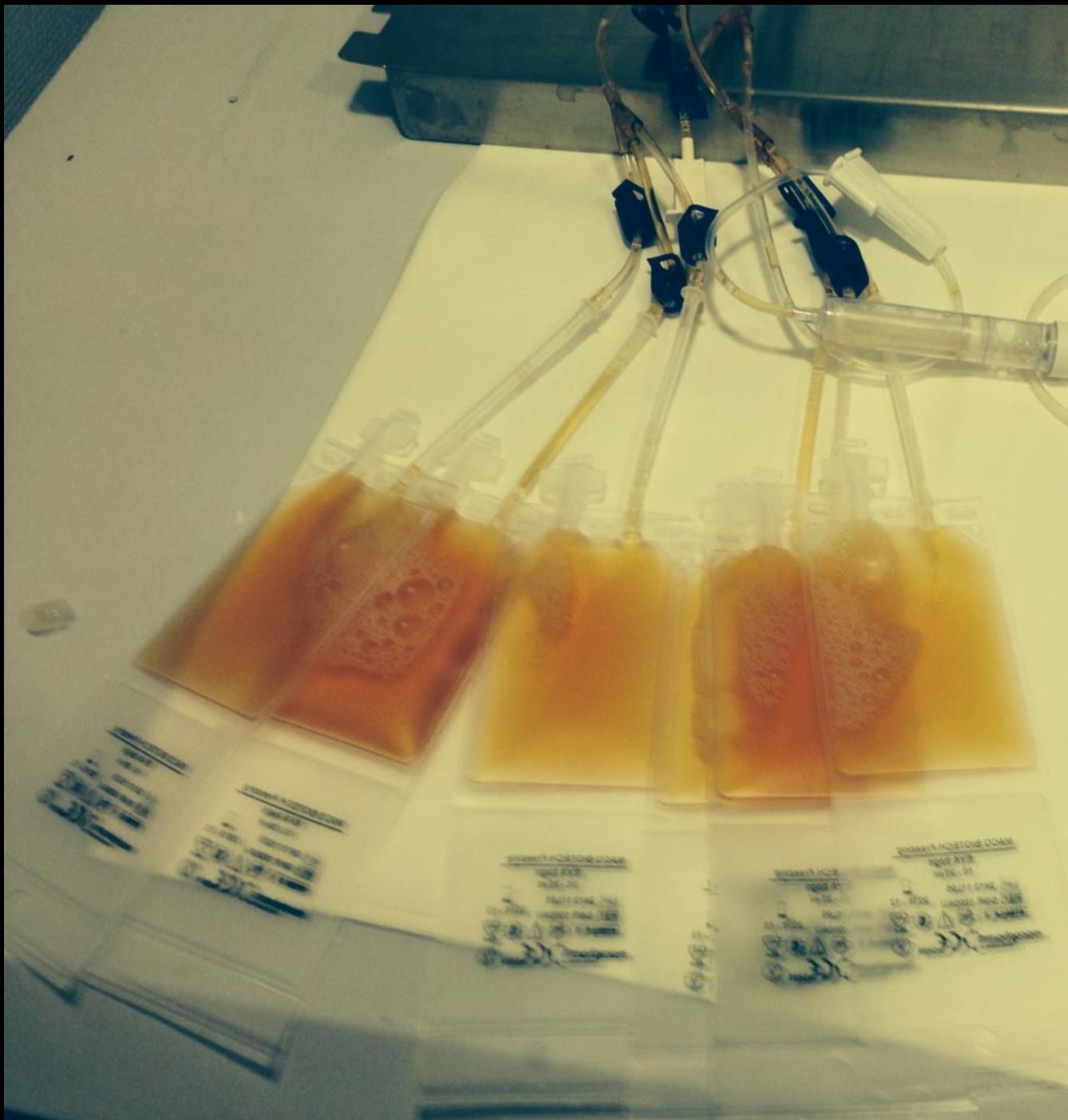
Infusion de CME autólogas cultivadas con LP autólogo



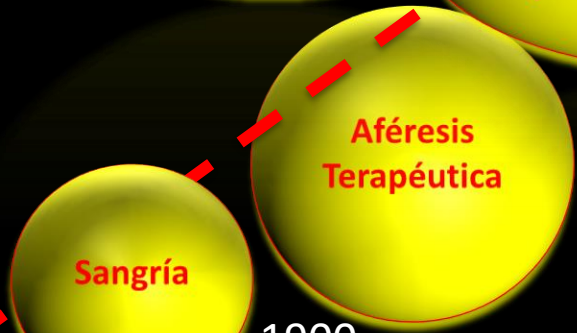
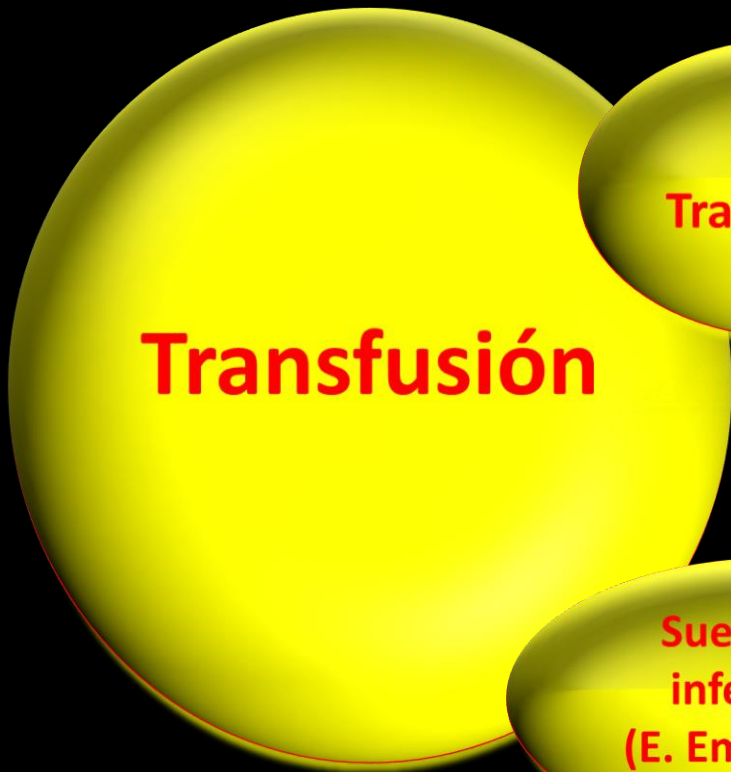
Preparación de lisado de plaquetas autólogo







# Hemoterapia Transfusional



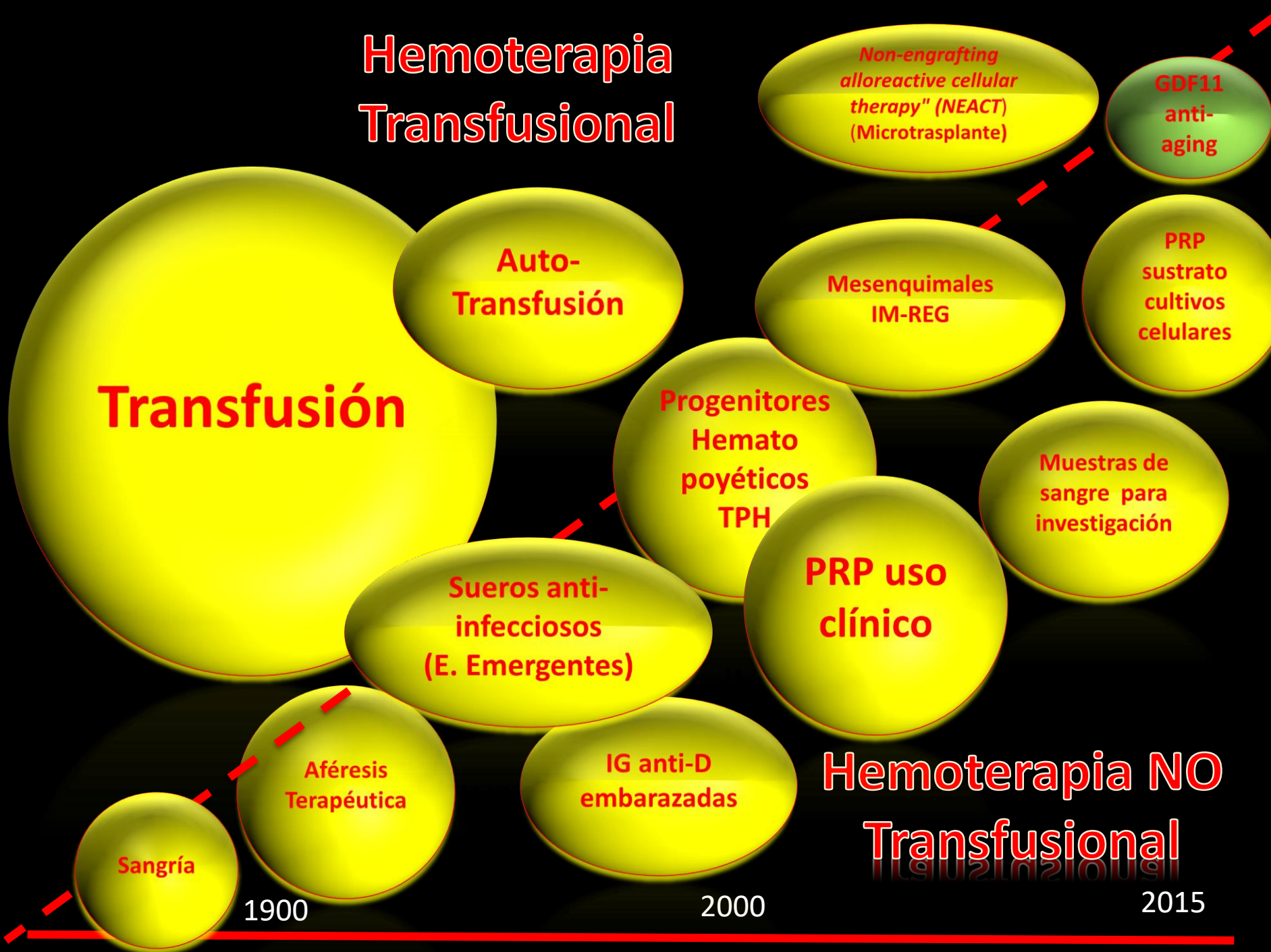
# Hemoterapia NO Transfusional



1900

2000

2015





# The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

VOL. 371 NO. 6

ESTABLISHED IN 1812

AUGUST 7, 2014

NEJM.ORG

*Tommasi*



496 THIS WEEK AT NEJM.ORG

## PERSPECTIVE

- 489 Instant Replay — A Quarterback's View of Care Coordination M.J. Press
- 491 Toward Increased Adoption of Complex Care Management C.S. Hong, M.K. Abrams, and T.G. Ferris
- 493 Time Off to Care for a Sick Child — Why Family-Leave Policies Matter M.A. Schuster and P.J. Chung

## ORIGINAL ARTICLES

- 497 Breast-Cancer Risk in Families with Mutations in PALB2  
A.C. Antoniou and Others
- 507 Activated STING in a Vascular and Pulmonary Syndrome  
Y. Liu and Others

519 A Test for Creutzfeldt-Jakob Disease Using Nasal Brushings  
C.D. Orrú and Others

530 Prions in the Urine of Patients with Variant Creutzfeldt-Jakob Disease  
F. Moda and Others

## SPECIAL ARTICLE

540 Long-Term Effect of Hospital Pay for Performance on Mortality in England  
S.R. Kristensen and Others



Owned & published by the MASSACHUSETTS MEDICAL SOCIETY  
© 2014. All rights reserved. Printed in the United Kingdom by Wyndeham  
Heron, Colchester Road, Maldon CM9 4NW, United Kingdom. ISSN  
0028-4793.

## REVIEW ARTICLE

549 Kidney Transplantation in Children  
V.R. Dharnidharka, P. Fiorina, and W.E. Harmon

## IMAGES IN CLINICAL MEDICINE

- 559 Phototoxic Dermatitis  
A. Zink and J. Ring
- e8 Barium Concretion Causing Obstipation  
N. Thosani and D.S. Wolf

## CLINICAL PROBLEM-SOLVING

560 A Gut Instinct  
C.L. Abad and Others

## EDITORIALS

- 566 PALB2 Mutations and Breast-Cancer Risk  
M.K. Evans and D.L. Longo
- 568 STING-Associated Vasculopathy with Onset in Infancy — A New Interferonopathy  
Y.J. Crow and J.-L. Casanova

571 Shaken, Not Sonicated?  
C.L. Masters

## CLINICAL IMPLICATIONS OF BASIC RESEARCH

573 Young Blood  
A. Laviano

## CORRESPONDENCE

- 576 CMV Prophylaxis in Hematopoietic-Cell Transplantation
- DNA Sequencing versus Standard Prenatal Aneuploidy Screening
- Fibrinolysis for Intermediate-Risk Pulmonary Embolism
- Breast-Cancer Predisposition in Multiple Endocrine Neoplasia Type 1

584 CORRECTIONS

585 NOTICES

587 CONTINUING MEDICAL EDUCATION

566 PALB2 Mutations and Breast Cancer Risk  
M.K. Evans and D.L. Longo

568 STING-Associated Vasculopathy with Onset  
in Infancy — A New Interferonopathy  
Y.J. Crow and J.-L. Casanova

571 Shaken, Not Sonicated?  
C.L. Masters

**CLINICAL IMPLICATIONS OF BASIC RESEARCH**

573 Young Blood  
A. Laviano

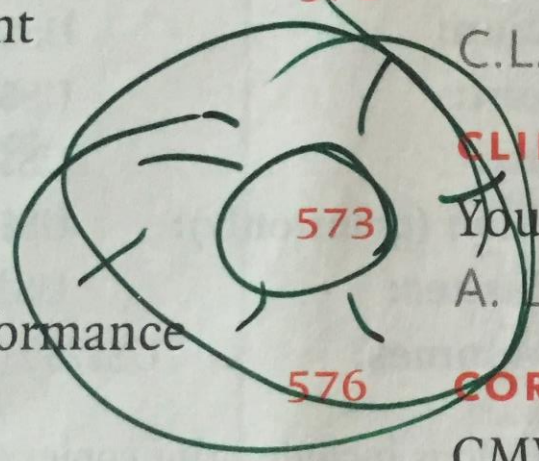
**576 CORRESPONDENCE**

CMV Prophylaxis in Hematopoietic-Cell  
Transplantation

DNA Sequencing versus Standard Prenatal  
Aneuploidy Screening

Fibrinolysis for Intermediate-Risk Pulmonary  
Embolism

CAL SOCIETY  
dom by Wyndeham  
ngdom. ISSN





# Growth Differentiation Factor 11 Is a Circulating Factor that Reverses Age-Related Cardiac Hypertrophy

Francesco S. Loffredo,<sup>1,2</sup> Matthew L. Steinhauser,<sup>2</sup> Steven M. Jay,<sup>1,2</sup> Joseph Gannon,<sup>2</sup> James R. Pancoast,<sup>2</sup> Pratyusha Yalamanchi,<sup>2</sup> Manisha Sinha,<sup>1,3</sup> Claudia Dall'Osso,<sup>1,3</sup> Danika Khong,<sup>1,3</sup> Jennifer L. Shadrach,<sup>1,3</sup> Christine M. Miller,<sup>1,4</sup> Britta S. Singer,<sup>5</sup> Alex Stewart,<sup>5</sup> Nikolaos Psychogios,<sup>6</sup> Robert E. Gerszten,<sup>6</sup> Adam J. Hartigan,<sup>1,4</sup> Mi-Jeong Kim,<sup>1,4</sup> Thomas Serwold,<sup>1,4</sup> Amy J. Wagers,<sup>1,3,4,7,\*</sup> and Richard T. Lee<sup>1,2,7,\*</sup>

<sup>1</sup>Harvard Stem Cell Institute

<sup>2</sup>Cardiovascular Division, Department of Medicine

Brigham and Women's Hospital, Boston, MA 02115, USA

<sup>3</sup>Howard Hughes Medical Institute and Department of Stem Cell and Regenerative Biology, Harvard University, Cambridge, MA 02138, USA

<sup>4</sup>Joslin Diabetes Center, Boston, MA 02215, USA

<sup>5</sup>SomaLogic, Inc., Boulder, CO 80301, USA

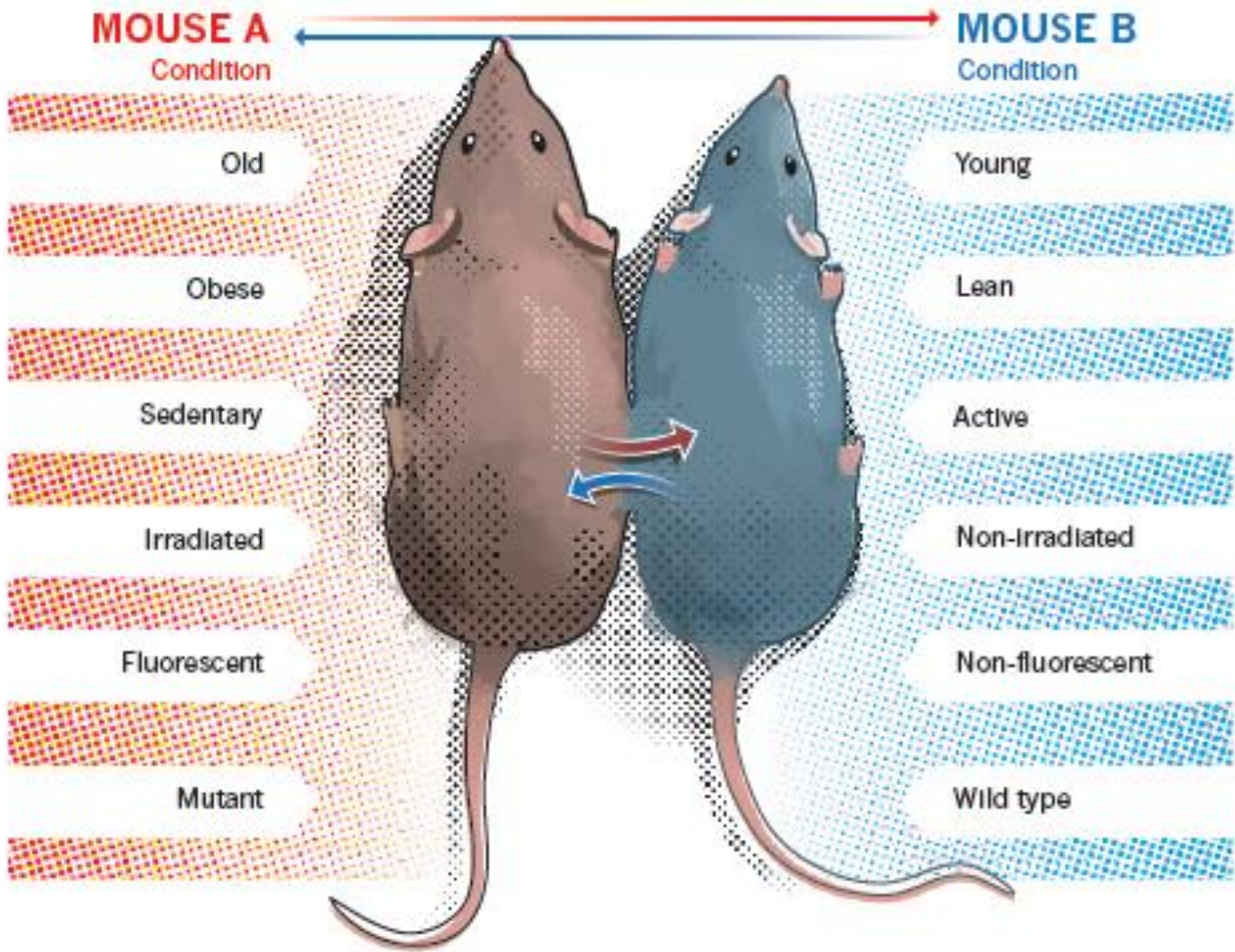
<sup>6</sup>Division of Cardiology, Department of Medicine, Massachusetts General Hospital, Charlestown, MA 02129, USA

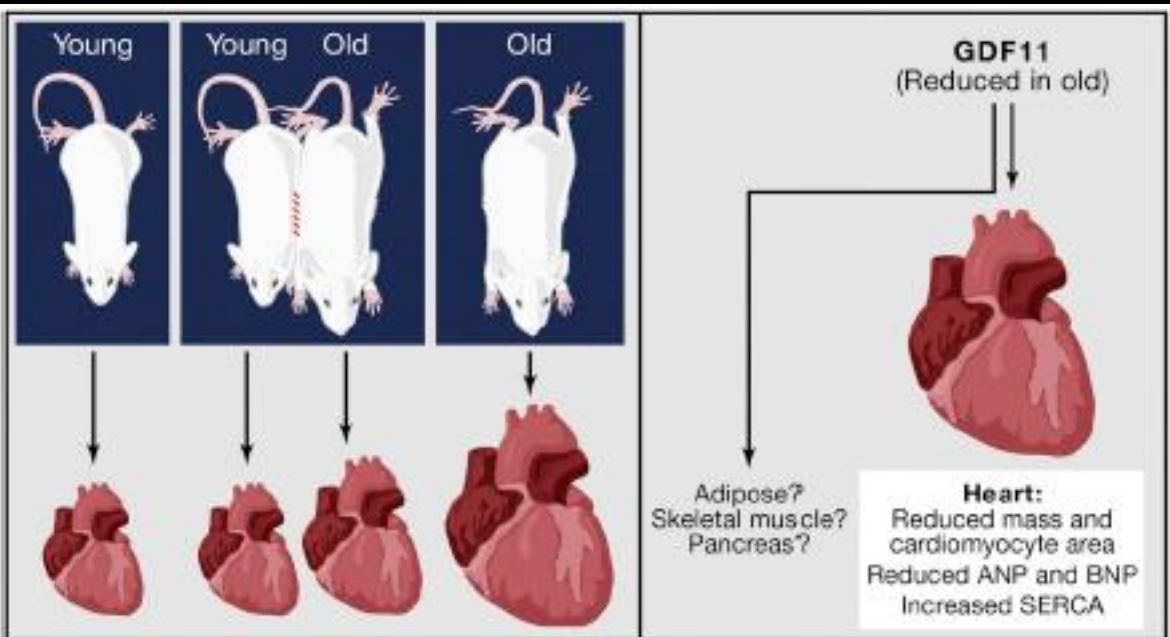
<sup>7</sup>These authors contributed equally to this work

\*Correspondence: amy\_wagers@harvard.edu (A.J.W.), rlee@partners.org (R.T.L.)

<http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2013.04.015>

828 Cell 153, 828–839, May 9, 2013 ©2013 Elsevier Inc.





### Figure 1. Systemic GDF11 Reduces Age-Related Cardiac Hypertrophy

(Inset) Heterochronic parabiosis reverses age-related cardiac hypertrophy in mice. Old (O) mice display increased cardiac mass and cardiomyocyte cross-sectional area compared to young (Y) mice. Heart mass and myocyte cross-sectional area are reduced in old mice subjected to heterochronic parabiosis with young mice (YO). Circulating levels of GDF11, possibly from the spleen and other tissues, are reduced in old mice. Supplementing old mice with recombinant GDF11 reverses age-related cardiac hypertrophy and promotes beneficial patterns of gene expression. The effects of circulating GDF11 (and associated age-related changes) on pancreatic insulin production, skeletal muscle, adipose tissue, and other tissues are unknown.

## Young at Heart

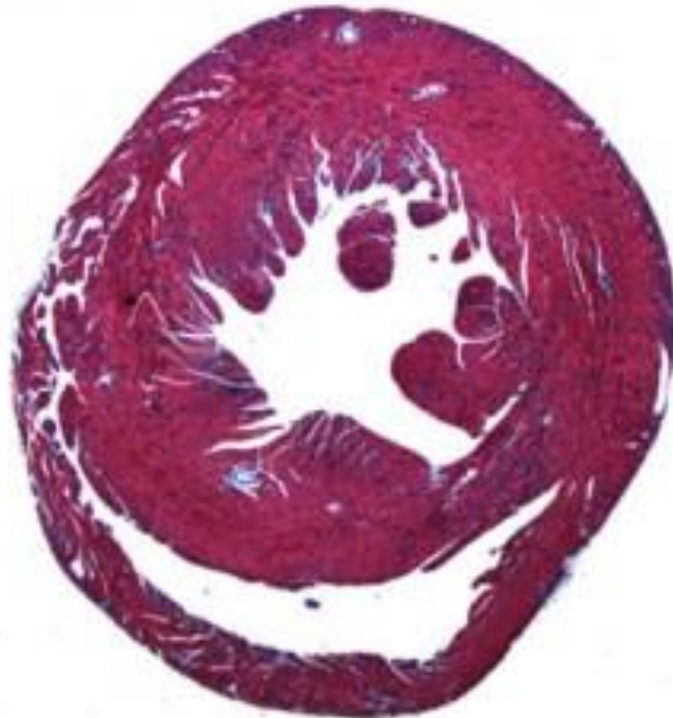
Leslie A. Leinwand<sup>1,\*</sup> and Brooke C. Harrison<sup>1</sup>

744 Cell 153, May 9, 2013

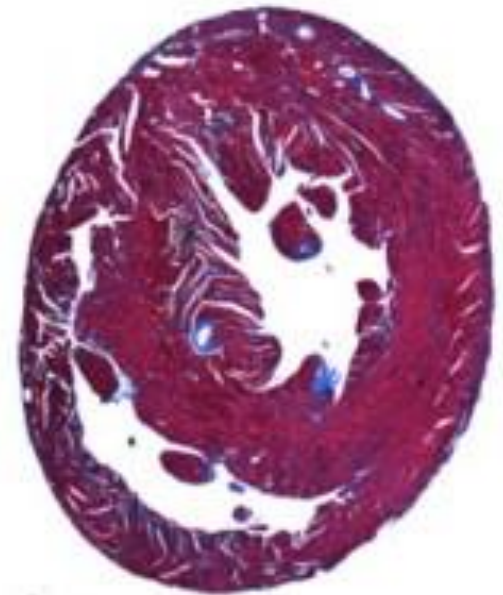




**YOUNG**



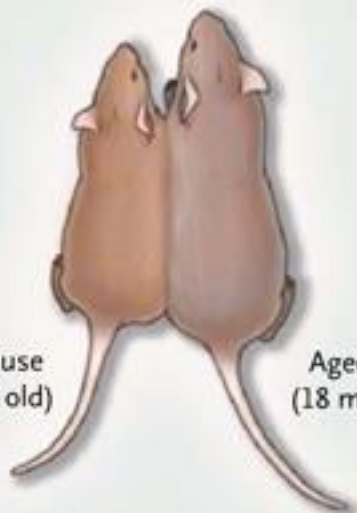
**OLD**



**OLD**  
(exposed to young blood)



### Parabiosis



Young mouse  
(3 months old)

Aged mouse  
(18 months old)

### Transfusion of young blood plasma



### Direct administration of GDF11



### Morphologic changes

- ↑ Neurogenesis
- ↑ Synaptic plasticity
- ↑ Mitochondrial patterning  
in muscle satellite cells
- ↑ Macroautophagy
- ↓ Cardiac hypertrophy

### Functional changes

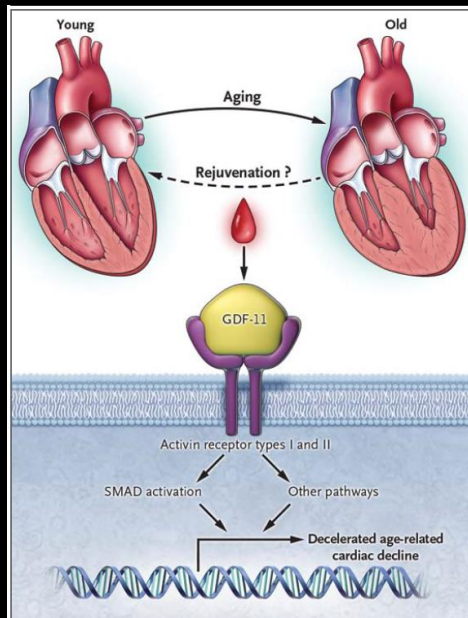
- ↑ Olfaction
- ↑ Cognitive function
- ↑ Exercise endurance
- ↑ Grip strength

## CLINICAL IMPLICATIONS OF BASIC RESEARCH

Elizabeth G. Phimister, Ph.D., *Editor*

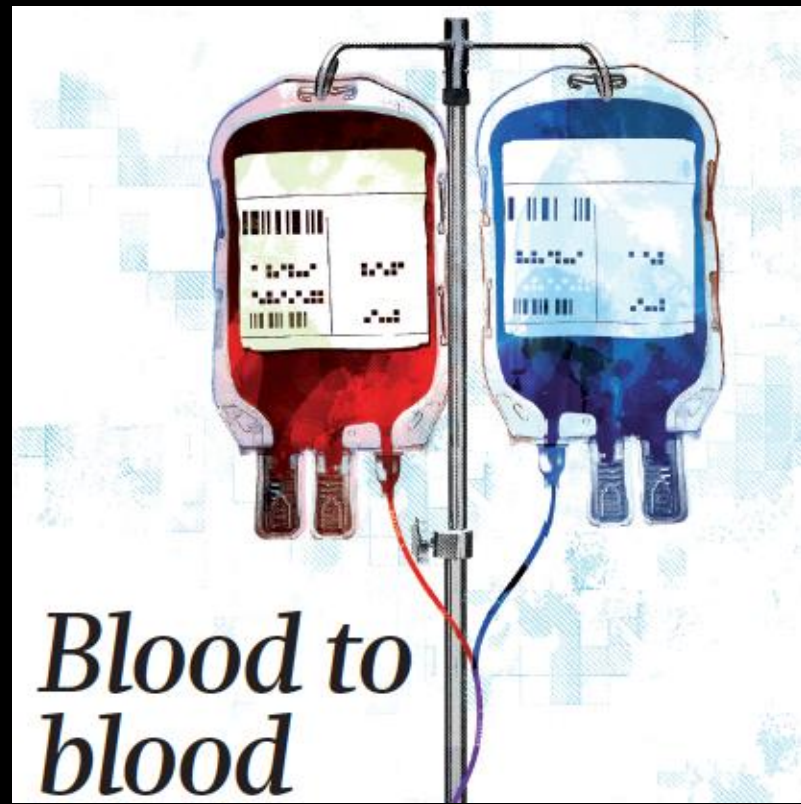
# Cardiac Aging and Rejuvenation — A Sense of Humors?

Thomas A. Rando, M.D., Ph.D., and Toren Finkel, M.D., Ph.D.



**Figure 1. A Hearty Finding for Growth Differentiation Factor 11 (GDF-11).** The blood of young animals contains circulating proteins in concentrations that differ from those of proteins circulating in the blood of old animals. Loffredo et al. recently found that one of these proteins, GDF-11, appears to reverse age-associated cardiac hypertrophy when injected into old animals.<sup>3</sup> GDF-11 is a member of the transforming growth factor  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) superfamily of ligands that bind activin receptor types I and II, ultimately resulting in changes to nuclear-gene expression.

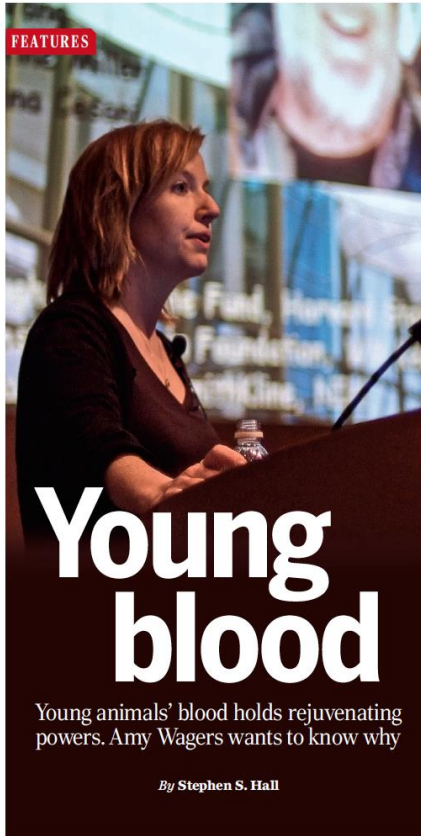
scure. One clue, however, may be the observation that the incidence of heart failure with preserved ejection fraction rises dramatically as we age, with roughly 5% of men and 8 to 10% of



426 | NATURE | VOL 517 | 22 JANUARY 2015

NEWS

FEATURES



# Young blood

Young animals' blood holds rejuvenating powers. Amy Wagers wants to know why

By Stephen S. Hall

**A**my Wagers was about halfway through a 90-minute talk to a group of Boston-area science teachers last July when she showed her Arnold Schwarzenegger slides. One picture depicted the former governor of California as a buff young bodybuilder; the other showed a more recent, fatter, and stooped version of the Terminator playing tennis. If a picture is worth a thousand words, the slide served as a two-volume treatise illustrating the point that Wagers, a Harvard University stem cell scientist, wanted to make: As humans age, our muscles fail to maintain and regenerate as they once did.

"I'm not saying aging is a disease," Wagers hastened to add, once her audience had stopped laughing. "But it is associated with increased incidence of particular types of diseases."

Wagers's quiet voice barely carried over an aspiring aquarium at the side of the science lab at Doves-Sherborn High School. But the 30 or so educators gathered at the Summer Science Institute avidly followed the narrative of her recent work—especially when Wagers moved on to her "fountain of youth" slides.

In a series of experiments that have captivated both the field of regenerative medicine and its many lay spectators, Wagers and a diverse army of collaborators have shown that when the blood of a young mouse circulates through the murine equivalent of an old geezer, startling physiological changes occur. Many of the trademark depredations of old age—withering muscles; stiff, oversized hearts; cognitive decline; and even the fraying of the myelin coating that insulates nerve fibers—are slowed, repaired, or even reversed.

"We became convinced that there was something in the blood," responsible for the dramatic effects, Wagers told the teachers. Indeed, after a difficult search, she and colleagues have recently isolated a molecule from "young blood," growth differentiation factor 11 (GDF11), that appears to rejuvenate the architecture of the heart, the vasculature of the brain, and the bulk of skeletal muscle—at least in animals. As Wagers told the group, "GDF11, which is this 'fountain of youth' kind of factor for the heart, is also a fountain-of-youth factor for the skeletal muscle and for the brain. It is generally a good protein for rejuvenation."

"Rejuvenation" has always been a loaded crossover term in biology. Quickly raising her hand, one young high school science teacher from Walpole could barely spit out the question on everyone's mind. "You have to wonder, given what you're seeing ... I mean,

PHOTO: JONATHAN OLSON

1234 10 SEPTEMBER 2014 • VOL 515 ISSUE 6202

Published by AAAS

sciencemag.org SCIENCE

RESEARCH HIGHLIGHT

## An ingredient for the elixir of youth

*Cell Research* (2014) 24:1381-1382. doi:10.1038/cr.2014.107; published online 12 August 2014

*Cell Research* (2014) 24:1381-1382.

© 2014 IBCB, SIBS, CAS All rights reserved

www.nature.com/cr



**Isabel Báthory** de Ecsed ( Hungría 1560-1614) fue una aristócrata húngara perteneciente a una de las familias más poderosas de su país. Ha pasado a la historia por haber sido acusada y condenada de ser responsable de una serie de crímenes motivados por su obsesión por la belleza que le han valido el sobrenombre de «**la Condesa Sangrienta**». Erzsébet tiene el récord Guinness de la mujer que más ha asesinado en la historia de la humanidad con 630 muertes



[Find Studies](#) ▾

[About Clinical Studies](#) ▾

[Submit Studies](#) ▾

[Resources](#) ▾

[About This Site](#) ▾

[Home](#) > [Find Studies](#) > [Search Results](#) > [Study Record Detail](#)

Trial record **1 of 17** for: plasma young alzheimer

[Previous Study](#) | [Return to List](#) | [Next Study](#) ▶

## The PLasma for Alzheimer Symptom Amelioration (PLASMA) Study

**This study is currently recruiting participants.** (see [Contacts and Locations](#))

*Verified May 2015 by Stanford University*

**Sponsor:**

Stanford University

**Collaborator:**

Alkahest

**ClinicalTrials.gov Identifier:**

NCT02256306

First received: September 25, 2014

Last updated: May 13, 2015

Last verified: May 2015

[History of Changes](#)

### ▶ Purpose

The **PLasma** for **Alzheimer** Symptom Amelioration (**PLASMA**) Study: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled, Cross-Over Trial of Intravenously-Administered **Plasma** From **Young** Donors for Treatment of Mild-To-Moderate **Alzheimer's** Disease

# GDF11. Conclusiones de Loffredo

- Es una proteína que tiene efecto antienvjecimiento celular
- Pertenece estructuralmente a la familia de TGF- $\beta$
- Su concentración en sangre disminuye con la edad
- Se desconoce cual es el tejido donde se produce o almacena
  - Alta expresión en bazo de ratones

**Tab. 1: Growth factor contents in platelet lysates of different donor batches**

Lysates were prepared from platelet concentrates containing  $\sim 1.5 \times 10^{10}$  platelets/ml. For comparison, two human serum samples were analysed. n.d., not determined.

Lysate Samples	Growth Factors [ng/ml]							Protein [mg/ml]
	EGF	PDGF-AB	TGF- $\beta$ 1	HGF	IGF-1	bFGF	VEGF	
# 56	11.63	57.28	1,179.7	1.17	12.81	0.96	8.46	7.93
# 69	15.34	76.48	533.2	1.38	16.70	1.04	3.47	5.88
# 70	20.55	53.60	1,462.6	1.46	8.90	1.05	10.63	9.03
# 71	13.45	58.26	503.7	2.48	16.13	0.90	19.65	7.10
# 72	16.69	46.34	1,272.5	0.68	9.32	0.81	5.17	7.16
# 73	14.27	51.88	1,084.3	1.22	16.66	0.98	19.99	6.94
# 108	13.44	89.26	518.1	1.65	25.89	1.33	1.27	9.34
# 134	16.40	96.08	669.2	1.39	n.d.	2.55	1.36	12.34
# 162	22.58	118.79	692.9	2.57	n.d.	2.97	1.12	10.55
# 173	37.11	162.75	350.1	1.78	n.d.	4.52	1.01	15.63
# 194	20.27	115.32	191.2	1.28	n.d.	4.41	5.32	14.15
Mean	18.34	84.19	768.9	1.55	15.20	1.96	7.04	9.64
$\pm$ SD	$\pm 6.76$	$\pm 34.86$	$\pm 395.0$	$\pm 0.53$	$\pm 5.34$	$\pm 1.36$	$\pm 6.72$	$\pm 3.04$
Human Serum	1.52	4.64	46.87	0.80	75.96	0.0019	0.063	70.00
	0.02	5.20	33.85	0.62	83.98	0.018	n.d.	70.00

12X 18X 16X 2X 1/5X 111X  
1000X

Received July 6, 2011; accepted in revised form October 18, 2011.

## natives to the Use of Fetal Bovine Serum: an Platelet Lysates as a Serum Substitute in Cell Culture Media

Caroline Rauch<sup>1</sup>, Elisabeth Feifel<sup>1</sup>, Eva-Maria Amann<sup>2</sup>, Hans Peter Spötl<sup>2</sup>, Harald Schennach<sup>2</sup>, Walter Pfaller<sup>1</sup>, and Gerhard Gstraunthaler<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Division of Physiology, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria; <sup>2</sup>Central Institute of Blood Transfusion and Immunology, University Hospital, Innsbruck, Austria

# Nuestras hipótesis

GDF11 podría estar muy concentrado en plasma fetal

GDF11 podría estar concentrado en las plaquetas

Los resultados de determinación de GDF11 en **suero** pueden estar sesgados





*“Nadie es mas joven que  
alguien que no ha nacido”*

*Perogrullo*



A smaller, faster, cheaper  
route to fusion energy

Sport, sex, and testosterone  
go to court

Making C-N bonds from  
nitro groups

# Science

\$10  
22 MAY 2015  
sciencemag.org

AAAS

## *A world of plankton*

Marine biodiversity  
surveyed by the schooner Tara  
pp. 865 & 873



REGENERATIVE MEDICINE

# 'Rejuvenating' protein doubted

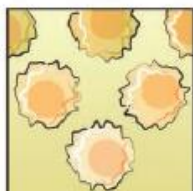
Factor reported to explain how young blood restores muscle has opposite effect in another lab

## Young blood conundrum

The GDF11 protein may not explain how linking the blood of old and young mice renews tissues.



Greater blood flow



Neural stem cell proliferation



Enhanced olfaction



Skeletal muscle rejuvenation



A smaller, faster, cheaper route to fusion energy p. 458

Sport, sex, and testosterone go to court p. 456

Making C-N bonds from nitro groups pp. 607 & 608

# Science

\$10  
22 MAY 2015  
sciencemag.org

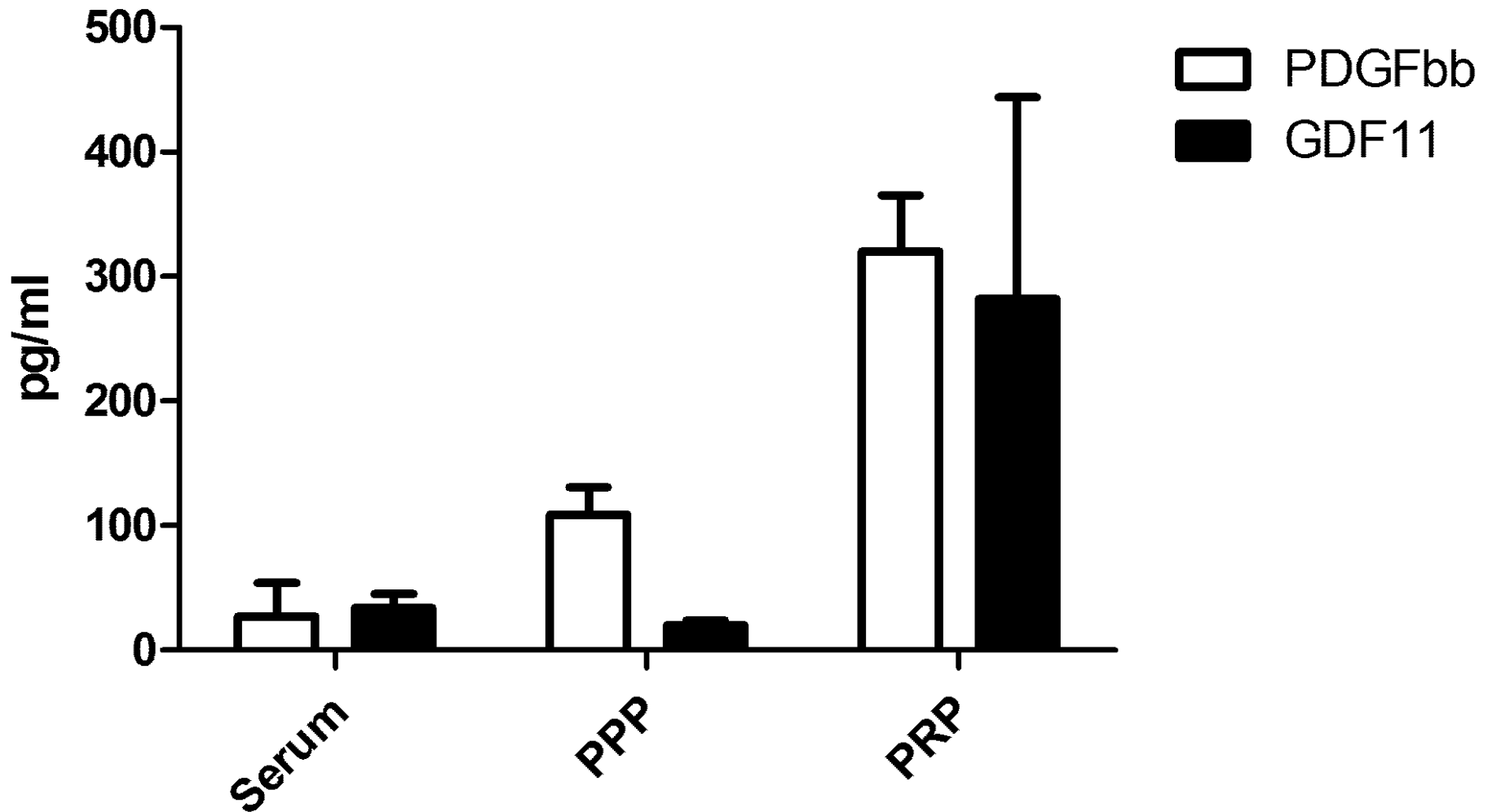
AAAS

## A world of plankton

Marine biodiversity surveyed by the schooner Tara pp. 865 & 873

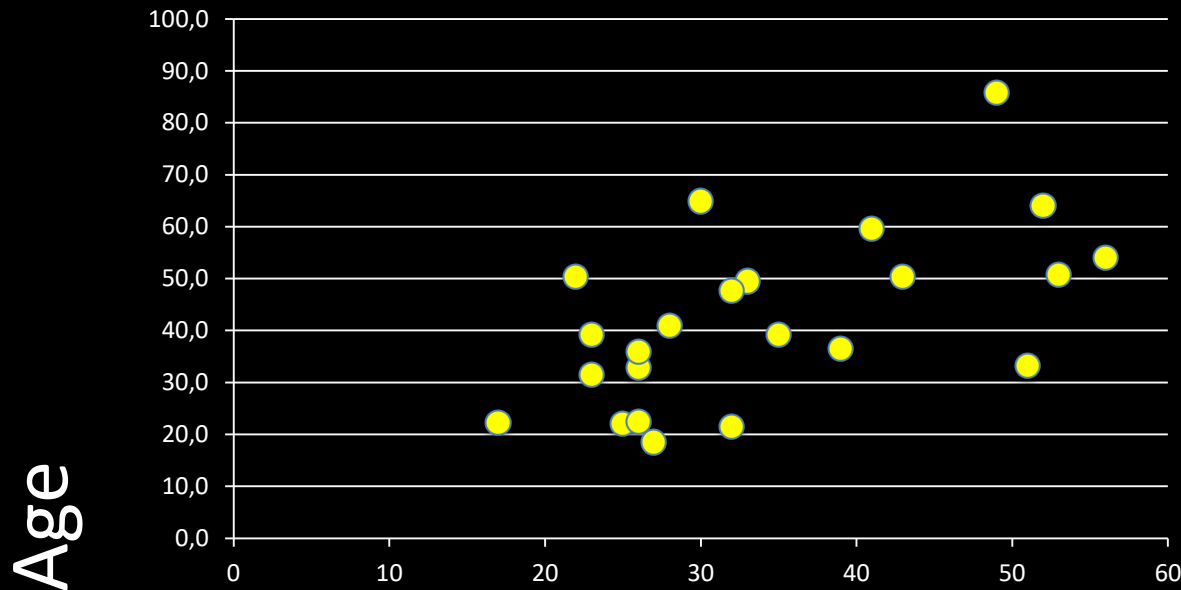


# GDF11 & PDGF-bb concentrations. Experiment 3

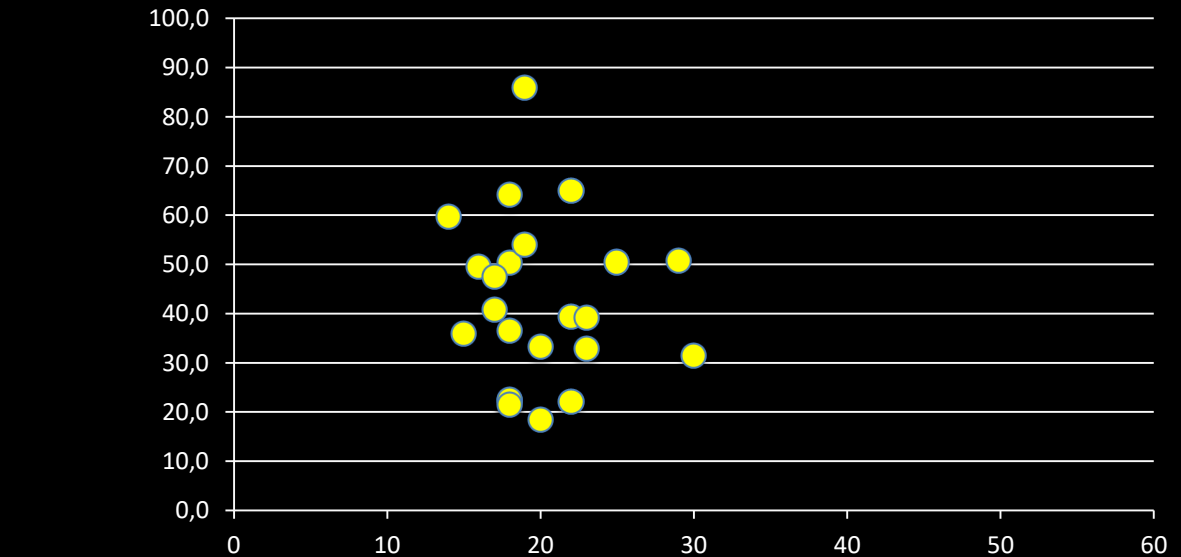




# Relation between donor age and GDF11 concentration in serum or plasma



Serum



Plasma

GDF11 conc. (pg/ml)

## SHORT REPORT

© 2016 International Society of Blood Transfusion  
DOI: 10.1111/vox.12438

# Growth differentiation factor 11 (GDF11) – a promising anti-ageing factor – is highly concentrated in platelets

J. L. Bueno,<sup>1</sup> M. Ynigo,<sup>2</sup> C. de Miguel,<sup>1</sup> R. M. Gonzalo-Daganzo,<sup>1</sup> A. Richart,<sup>3</sup> C. Vilches,<sup>4</sup> C. Regidor,<sup>1</sup>  
J. A. García-Marco,<sup>1</sup> E. Flores-Ballester<sup>3</sup> & J. R. Cabrera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Haematology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Spain

<sup>2</sup>Immunology Department, Hospital Universitario Puerta de Hierro-Majadahonda, Majadahonda, Spain

<sup>3</sup>Centro de Transfusión, Madrid, Spain

<sup>4</sup>Immunogenetics & Histocompatibility, Instituto de Investigación Sanitaria Puerta de Hierro.

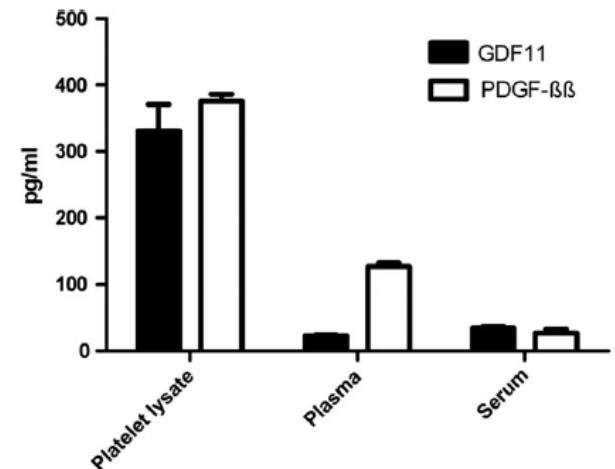


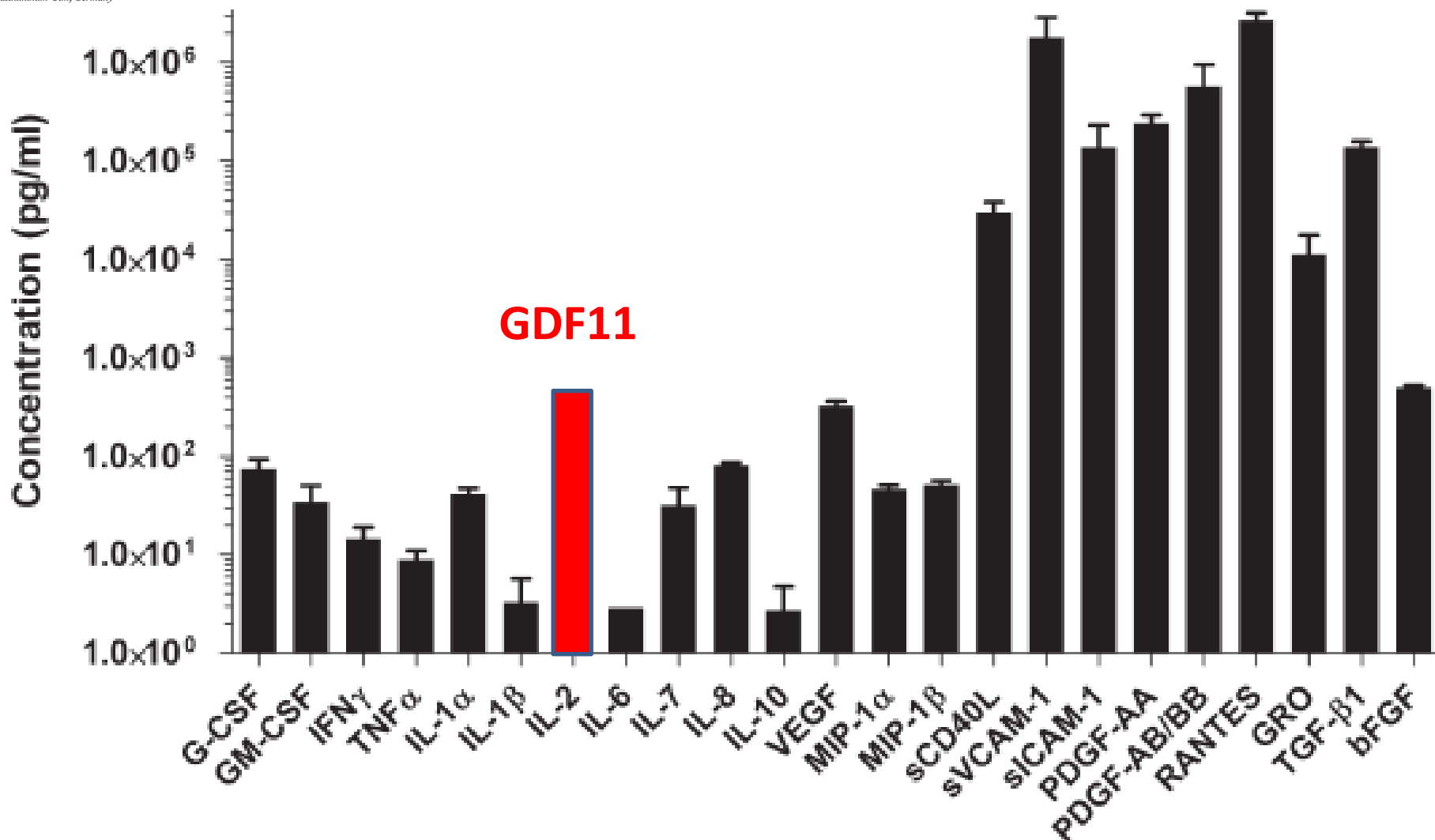
Fig. 1 GDF11 and PDGF-ββ concentrations in platelet lysate (PL), serum and plasma (PPP). The graphs show GDF11 and PDGF-ββ concentrations measured by ELISA. PL contained significantly more GDF11 than serum or plasma ( $P < 0.0001$  in both analyses). Data are displayed as mean  $\pm$  SEM.

Platelet lysate from whole blood-derived pooled platelet concentrates and apheresis-derived platelet concentrates for the isolation and expansion of human bone marrow mesenchymal stromal cells: production process, content and identification of active components

NATALIE FEKETE<sup>1</sup>, MÉLANIE GADELORGE<sup>2</sup>, DANIEL FÜRST<sup>1</sup>, CAROLINE MAURER<sup>1</sup>, JULIA DAUSEND<sup>1</sup>, SANDRINE FLEURY-CAPPELLESO<sup>2</sup>, VOLKER MAILÄNDER<sup>1</sup>, RAMIN LOTFI<sup>1</sup>, ANITA IGNATIUS<sup>2</sup>, LUC SENSEBÉ<sup>2</sup>, PHILIPPE BOURIN<sup>2</sup>, HUBERT SCHREZENMEIER<sup>1</sup> & MARKUS THOMAS ROJEWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Transfusionsmedizin, Universität Ulm und Institut für Klinische Transfusionsmedizin und Immunogenetik Ulm, DRK-Blutspendedienst Baden-Württemberg-Hessen, Germany, <sup>2</sup>Laboratoire de Thérapie Cellulaire, Etablissement Français du Sang-Pyrénées-Méditerranée Toulouse, France, and <sup>3</sup>Institut für Unfallchirurgische Forschung und Biomechanik, Universitätsklinikum Ulm, Germany

# Contenido en factores



¿Para qué hace falta una regulación  
productos sanguíneos usados fuera del  
ámbito transfusional?

**SEGURIDAD**

**EFICACIA**



¿Para qué hace falta una regulación  
productos sanguíneos usados fuera del  
ámbito transfusional?

**SEGURIDAD**

**EFICACIA**

# Legislación Española 2013 a 2018

- Legislación española **pionera** en la regulación de PRP (mayo 2013)
- Clasificación de PRP como “**medicamento de producción no industrial**” por la agencia española del medicamento
- Normativa **confusa** y en conflicto con otras normativas nacionales y europeas
- Artículos **muy estrictos** frente a **laxitud** en otros
  - Pruebas microbiológicas vs controles de calidad
- **Cesión de competencias** de Inspección a Consejerías de Sanidad Regionales
- Escasa dotación y **formación** a Inspectores
- Normativa **poco efectiva** para mejorar la calidad y seguridad de los pacientes



DIRECCIÓN

Madrid, 23 de mayo de 2013

ASUNTO: RESOLUCIÓN POR LA QUE SE ESTABLECE LA CLASIFICACIÓN DEL USO TERAPÉUTICO NO SUSTITUTIVO DEL PLASMA AUTÓLOGO Y SUS FRACCIONES, COMPONENTES O DERIVADOS, COMO MEDICAMENTO DE USO HUMANO PARA ATENDER NECESIDADES ESPECIALES.

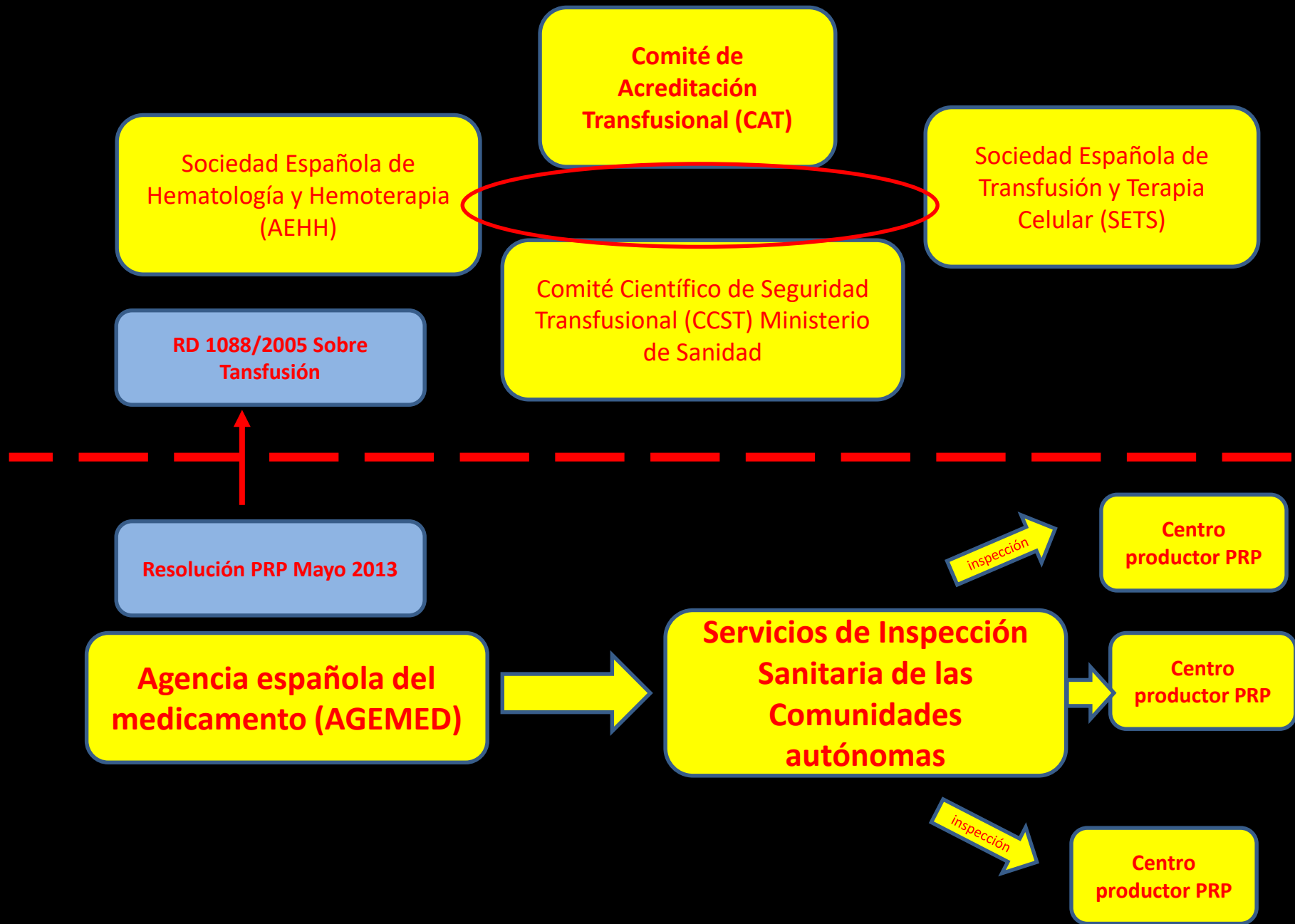


**INFORME/V1/23052013**

## **Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas**

Fecha de publicación: 23 de mayo de 2013

Sin embargo, siendo un medicamento de uso humano, no cabe considerarlo como un medicamento de producción industrial. Tampoco cabe considerarlo como un medicamento de terapia avanzada de acuerdo con la definición dada por el





# Regulación española PRP mayo 2013

## PROS

- Pioneros en regular PRP

## CONS

- Definición como medicamento
- Solo aplicable a PRP autólogo
- No aplica a otros productos sanguíneos usados en HNT
- No define criterios de calidad
- Criterios microbiológicos y analíticos no justificados (PCR VHC)
- No define almacenamiento ni métodos de activación
- Programa de Inspección no efectiva
- Conflicto con otras Normativas nacionales y europeas

# Normativas legales de aplicación

1- INFORME/V1/23052013 .Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas. AEMPS 23 de-Mayo de 2013.

2-Resolución por la que se establece la clasificación del uso terapéutico no sustitutivo del plasma autólogo y sus fracciones, componentes o derivados, como medicamento de uso humano para atender necesidades especiales. AEMPS 23 de Mayo de 2013.

3- Directiva 2001/83/CE, de 6 de noviembre, por la que se establece un código comunitario sobre medicamentos de uso humano. (ver artículo 5; por el que se excluye el PRP como medicamento de producción industrial).

4- Ley 29/2006, de 26 de julio, de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.

5-Reglamento (CE) nº 1394/2007 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 13 de noviembre de 2007, sobre medicamentos de terapia avanzada.

6- Real Decreto 1088/2005, de 16 de septiembre, se establecen los requisitos técnicos y condiciones mínimas de la hemodonación y de los centros y servicios de transfusión.

7-Guide to the quality and safety of Tissues and Cells for human application. European Committee (Partial Agreement) on Organ Transplantation (CD-P-TO). EDQM 3rd Edition 2017.

# Conclusiones

- El PRP es un componente sanguíneo que se usa en múltiples indicaciones médicas y quirúrgicas
- Como cualquier producto sanguíneo, los pacientes se exponen a riesgos específicos
- Los datos de eficacia del PRP son controvertidos, a pesar de usarse desde hace más de 20 años
- Demostrar eficacia terapéutica dependerá de asegurar una buena calidad del producto
  - Estandarización en el procesamiento
  - Sistemas cerrado
- El PRP no es inocuo. Son frecuentes los efectos adversos leves
- El PRP para uso alogénico es útil en pacientes seleccionados

# Mi opinión sobre una futura regulación sobre PRP. (1)

- Los productos sanguíneos utilizados en el ámbito de la Hemoterapia no Transfusional ( **no solo el PRP!!** ) merecen una Normativa Legal específica
- El PRP autólogo debe considerarse legalmente un componente sanguíneo; **NO un medicamento**
- La Regulación e Inspección debería realizarse por **profesionales sanitarios con experiencia** en el procesamiento de componentes sanguíneos o Terapia celular
- La Normativa debería incluir **capítulos claros** en relación a:
  - **Definición de PRP según criterios de calidad** (concentración de plaquetas, contaminación de leucocitos...)
  - Titulación requerida para la producción de PRP para uso en HNT
  - Definición clara de qué se considera un *sistema cerrado* de procesamiento
  - Pruebas **microbiológicas y de control de calidad**
  - Condiciones de almacenamiento
  - Condiciones de activación



# Mi opinión sobre una futura regulación sobre PRP. (2)

- Cualquier **componente sanguíneo alogénico** usado en el ámbito de la Hemoterapia No Transfusional, debería considerarse a efectos legales como **una transfusión**; aplicándole la Normativa específica en esta materia
- Los productos procedentes de **múltiples donantes alogénicos** (más de 5??) se deberían considerar un medicamento o hemoderivado

# Propuesta de Regulación

Productos sanguíneos **anucleados** para uso no transfusional clínico o en terapia celular (NO SÓLO PRP) para uso **autólogo**

Normativa específica sobre productos sanguíneos para uso no transfusional (en ausencia de ella Normativa sobre Transfusión)

Productos sanguíneos **anucleados** para uso no transfusional clínico o en terapia celular (NO SÓLO PRP) para uso **allogénico** (procedente de **menos** de 5 donantes)

Normativa de Transfusión

Productos sanguíneos **anucleados** para uso transfusional, o no transfusional; clínico o en terapia celular para uso **allogénico** (procedente de **más** de 5 donantes)

Normativa de Medicamentos de Producción Industrial (Hemoderivados)

Productos sanguíneos o celulares **con capacidad proliferativa in vitro** para uso transfusional, o no transfusional; clínico o en terapia celular para uso **autólogo** ó **allogénico**

Normativa sobre Medicamentos de Terapia avanzada

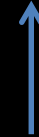
# Método cerrado alogénico , por aféresis; con doble sistema de seguridad microbiológica; para obtener hasta 190 viales de PRP por extracción para uso clínico en caballos



**Laboratorio**

- ✓ Recuento celular
- ✓ Plaquetas
- ✓ Eritrocitos
- ✓ Leucocitos
- ✓ Pruebas microbiológicas

**Sistema cerrado**



Inactivación patógenos





