

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA



**Evaluación de dos métodos de obtención de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en
caninos (*Canis lupus familiaris*)**

T E S I S

Para optar el Título Profesional de:

MÉDICO VETERINARIO

Presentada por el Bachiller:

CARLOMAGNO ZAMORA ESCALANTE

Asesor:

Dr. GIUSSEPE MARTÍN REYNA COTRINA

Cajamarca - Perú

2025

CONSTANCIA DE INFORME DE ORIGINALIDAD

1. **Investigador:** Carlomagno Zamora Escalante
DNI: 72120777
Escuela Profesional: Medicina Veterinaria
2. **Asesor:** Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina
3. **Facultad:** Ciencias Veterinarias
4. **Grado académico o título profesional:** Título Profesional
5. **Tipo de Investigación:** Tesis
6. **Título de Trabajo de Investigación:** "Evaluación de dos métodos de obtención de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en caninos (*Canis lupus familiaris*)"
7. **Fecha de Evaluación:** 09 de junio del 2025
8. **Software Anti plagio:** Turnitin
9. **Porcentaje de Informe de Similitud:** 14%
10. **Código Documento:** oid: 3117:465869768
11. **Resultado de la Evaluación de Similitud:** Aprobado

Fecha Emisión: 10 de junio del 2025





UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
NORTE DE LA UNIVERSIDAD PERUANA
Fundada Por Ley N°14015 Del 13 De Febrero De 1962
UNIVERSIDAD LICENCIADA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DECANATO

Av. Atahualpa 1050 – Ciudad Universitaria Edificio 2F – 205 Fono 076 365852



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En Cajamarca, siendo las diez horas del día nueve de junio del dos mil veinticinco, se reunieron en el Auditorio de la Facultad de Ciencias Veterinarias “César Bazán Vásquez” de la Universidad Nacional de Cajamarca los integrantes del jurado calificador, designados por el Consejo de Facultad, con el objeto de evaluar la sustentación de Tesis titulada: “EVALUACIÓN DE DOS MÉTODOS DE OBTENCIÓN DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*)”, asesorada por el docente, Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina y presentada por el Bachiller en Medicina Veterinaria: Carlomagno Zamora Escalante.

Acto seguido el presidente del jurado procedió a dar por iniciada la sustentación y para los efectos del caso se invitó al sustentante a exponer su trabajo.

Concluida la exposición de la Tesis, los miembros del jurado calificador formularon las preguntas que consideraron convenientes relacionadas con el trabajo presentado; asimismo, el presidente invitó al público asistente a formular preguntas concernientes al tema.

Después de realizar la calificación de acuerdo a las pautas de evaluación señaladas en el Reglamento de Tesis, el jurado calificador acordó: **APROBAR** la sustentación de Tesis para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO**, con el calificativo final obtenido de **DIECIOCHO (18)**.

Siendo las once horas y treinta minutos del mismo día, el presidente del jurado calificador dio por concluido el proceso de sustentación.

Dr. JORGE EDUARDO BURGA LEÓN

PRESIDENTE

Dr. JORGE LUIS PORTAL TORRES

VOCAL

Dra. CECILIA ELIZABETH PAJARES ACOSTA

SECRETARIA

Dr. GIUSEPPE MARTÍN REYNA COTRINA

ASESOR

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía y fortaleza en cada paso de mi vida, por darme la sabiduría y el valor para superar los desafíos y seguir adelante.

A mi madre, Yrma Escalante Ortiz por su amor incondicional, su apoyo incansable y su ejemplo de esfuerzo y perseverancia. Gracias por creer en mí incluso cuando yo dudaba.

A mi padre, Isidro Zamora Novoa quien, aunque ya no está físicamente conmigo, sé que desde el cielo me acompaña y me guía con su amor. Este logro también es tuyo, porque tus enseñanzas y recuerdos han sido mi motor para seguir adelante.

A mi hermano Pelayo Zamora Escalante y mi cuñada Fiorela Abanto Vera, por su apoyo incondicional, por estar siempre a mi lado y brindarme su compañía en los momentos más importantes de mi vida.

A mi querido sobrino Mathew Isidro Zamora Abanto, quien con su inocencia y alegría ilumina cada día. Aunque aún eres muy pequeño para comprenderlo, este logro también es para ti. Quiero ser un ejemplo para ti, demostrarte que con esfuerzo, dedicación y amor por lo que hacemos, los sueños se pueden alcanzar.

A todos los que, de una u otra forma, han sido parte de este camino, con todo mi cariño y gratitud.

Carlomagno Zamora Escalante

AGRADECIMIENTO

A la Facultad de Ciencias Veterinarias, por brindarme la formación académica y profesional que ha sido clave en mi desarrollo. Gracias por ser un espacio de aprendizaje, crecimiento y descubrimiento.

A la Universidad Nacional de Cajamarca, mi alma máter, por abrirme las puertas al conocimiento y por ser el pilar fundamental en mi educación superior. Esta institución ha sido el escenario donde he forjado mi vocación y compromiso con la ciencia y la investigación.

A mi asesor, el Dr. Giuseppe Martín Reyna Cotrina por su apoyo incondicional, su guía desinteresada y su paciencia en cada etapa de este trabajo. Su orientación ha sido invaluable en la construcción de este estudio.

A la profesora Sonia Zegarra, por su apoyo y enseñanzas, por su confianza y por inspirarme a seguir adelante en el camino de mi desarrollo personal y emocional.

A los docentes de mi facultad, por compartir su sabiduría, por su esfuerzo y compromiso con la formación de futuros profesionales. Cada uno de ellos ha dejado una huella en mi formación y en mi forma de ver la profesión.

A todos los que, de una manera u otra, han contribuido en mi camino académico, mi más sincero agradecimiento.

Carlomagno Zamora Escalante

ÍNDICE

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
 INTRODUCCIÓN	 1
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	3
1.1. Antecedentes de la investigación	3
Internacionales	3
Nacionales	5
1.2. Bases teóricas	6
1.2.1. Plasma Rico en Plaquetas (PRP)	6
1.2.2. Tipos de plasma y sus características	7
1.2.3. Plaquetas	8
1.2.4. Factores de crecimiento plaquetario	10
1.2.5. Activación plaquetaria	11
1.2.6. Métodos de obtención de PRP	13
1.2.6.1. Método de doble centrifugación	13
1.2.6.2. Método de una sola centrifugación	14
1.2.6.3. Método con gradiente de densidad	14
1.2.6.4. Método de centrifugación con control de temperatura	14
1.2.6.5. Método automatizado con kits de sistema cerrado	14
1.2.7. Factores que influyen en la obtención de PRP	14
1.2.8. Aplicaciones clínicas del PRP en caninos	16
1.3. Definición de términos básicos	17
 CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO	 21
2.1. Ubicación geográfica	21
2.2. Diseño de la investigación	22
2.2.1. Obtención de la muestra sanguínea	22
2.2.2. Métodos de centrifugación	23

2.2.2.1. Método de centrifugación única	23
2.2.2.2. Método de centrifugación doble	23
2.3. Métodos de investigación	24
2.4. Población, muestra y unidad de análisis	24
2.4.1. Población	24
2.4.2. Muestra	25
2.4.3. Unidad de análisis	25
2.5. Técnicas e instrumentos de recopilación de la información	25
2.6. Técnicas para el procesamiento y análisis de la información	25
2.7. Equipos y materiales	26
 CAPÍTULO III: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	 28
3.1. Presentación de resultados	28
3.1.1. Concentración plaquetaria	28
3.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados	30
 CAPÍTULO IV: CONCLUSIONES	 33
CAPÍTULO V: SUGERENCIAS	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35
ANEXOS	48
APÉNDICE	51

RESUMEN

El objetivo principal de este estudio fue evaluar si existe una diferencia significativa entre los métodos de centrifugación simple y doble en la obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) en perros (*Canis lupus familiaris*). Se trabajó con muestras de sangre de diez caninos que presentaban valores hematológicos dentro de parámetros normales. Se cuantificó la concentración de plaquetas obtenida con cada técnica, y se compararon los resultados estadísticamente. Para el análisis se aplicó la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk y la prueba *t* de Student para muestras relacionadas. Los datos mostraron que la centrifugación doble generó una media de 552,900 plaquetas/ μ L ($\pm 136,165.30$), en contraste con 255,700 plaquetas/ μ L ($\pm 112,741.64$) alcanzadas mediante la centrifugación única. La diferencia media observada fue de 297,200 plaquetas/ μ L, con un valor *t* de 6.188 (gl = 9) y un valor de $p \leq 0.001$. El intervalo de confianza al 95% para esta diferencia estuvo entre 188,558.45 y 405,841.55 plaquetas/ μ L. Estos resultados indican una diferencia estadísticamente significativa entre los métodos evaluados, concluyéndose que la técnica de doble centrifugación es notablemente más eficiente para obtener PRP con alta concentración plaquetaria en caninos.

Palabras clave: Plasma rico en plaquetas (PRP), centrifugación única, centrifugación doble, caninos.

ABSTRACT

The main objective of this study was to assess whether there is a significant difference between single and double centrifugation methods in obtaining platelet-rich plasma (PRP) in domestic dogs (*Canis lupus familiaris*). Blood samples were collected from ten dogs with haematological values within normal ranges. Platelet concentrations obtained through each method were quantified and compared statistically. The Shapiro-Wilk test was used to assess normality, followed by the paired Student's t-test for statistical comparison. The results showed that double centrifugation yielded a mean platelet count of 552,900/ μ L ($\pm$ 136,165.30), whereas single centrifugation produced a mean of 255,700/ μ L ($\pm$ 112,741.64). The mean difference observed was 297,200 platelets/ μ L, with a t-value of 6.188 (df = 9) and a significance level of $p < 0.001$. The 95% confidence interval for the difference ranged from 188,558.45 to 405,841.55 platelets/ μ L. These findings indicate a statistically significant difference between the two methods, leading to the conclusion that the double centrifugation technique is considerably more effective in producing PRP with a higher platelet concentration in dogs.

Keywords: Platelet-rich plasma (PRP), single centrifugation, double centrifugation, canines.

INTRODUCCIÓN

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) es un derivado autólogo obtenido a partir de la sangre del propio paciente. Se caracteriza por contener una elevada concentración de proteínas bioactivas y factores de crecimiento, los cuales intervienen de manera crucial en procesos como la regeneración y reparación de tejidos, así como en mecanismos celulares como la quimiotaxis, la angiogénesis, el metabolismo, la proliferación y la diferenciación celular (1,2,3,4) por ello, su uso va creciendo en disciplinas médicas como la ortopedia (5), la reumatología, la cirugía plástica, la odontología, la cirugía facial (3),etc. Sin embargo, los métodos aplicados para la obtención del PRP aún son muy heterogéneos y no garantiza al médico veterinario un producto de calidad y con consistencia para la atención médica (23). Los diferentes procesos de obtención de PRP va desde formas manuales a automáticas, con centrifugación simple o filtración selectiva de sangre y en todos los casos la concentración de plaquetas es variable, sin embargo, el método más común de obtención de PRP sigue siendo la centrifugación (7,24). Actualmente, también existen innumerables métodos casero de preparación del PRP, pero carecen de características definidas, lo que conlleva a riesgos en la salud, por carecer de parámetros de calidad y seguridad del proceso de obtención (8).

Las plaquetas derivan de los megacariocitos, son de forma discoide y carentes de núcleo, importantes en la coagulación y la hemostasia (28,29). Poseen la propiedad de liberar factores de crecimiento importantes en la regeneración y cicatrización de tejidos (30). Tanto la técnica de centrifugación como la velocidad aplicada y la adición de activadores plaquetarios influyen directamente en la cantidad de plaquetas y en la eficiencia con la que se liberan los factores de crecimiento. Estos parámetros resultan determinantes para obtener un producto final biológicamente funcional y con alto

potencial terapéutico (31). La fuerza de centrifugación aumenta la sedimentación plaquetaria lo que resulta en una mejor separación de los componentes en el plasma (31,32). Por lo tanto, una preparación adecuada permitirá obtener una mayor concentración de plaquetas con la consiguiente liberación de mayor cantidad de factores de crecimiento. Según lo reportado por Yin y colaboradores (2017), al aplicar un protocolo que combina dos fases de centrifugación —la primera a 160g durante 10 minutos, seguida por una segunda etapa a 250g por 15 minutos— se logra una mayor concentración de plaquetas, así como una liberación más eficiente de los factores de crecimiento en aplicaciones clínicas humanas (34). En el ámbito de la medicina veterinaria aún no hay muchos reportes en relación al uso y obtención del PRP en caninos, mayoritariamente existe literatura sobre su uso en medicina equina; en tal sentido, se desarrolló esta investigación con la finalidad de evaluar dos métodos de obtención de PRP, utilizando centrifugación única y doble; además de, contribuir a mejorar la práctica clínica en la medicina veterinaria regenerativa, brindando evidencia científica que permita al profesional médico seleccionar el método que garantice una mayor concentración de plaquetas y, por ende, una mayor eficacia terapéutica en el tratamiento de diversas patologías en caninos.

La presente investigación tuvo como objetivo principal, determinar si existe diferencia significativa entre los métodos de centrifugación única y doble para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en caninos (*Canis lupus familiaris*) considerando la concentración plaquetaria para determinar cuál método es el más efectivo.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes de la investigación

1.1.1. Internacionales

En el año 2012, se hizo una investigación para determinar si el PRP varía según el método de preparación y la variabilidad humana. Se cuantificaron plaquetas, factores de crecimiento, glóbulos rojos y blancos en sistemas de separación de un paso y de dos pasos, y se evaluó el impacto de tres extracciones de sangre separadas. Los hallazgos evidenciaron variaciones estadísticamente significativas tanto en la cantidad como en la concentración de plaquetas, glóbulos blancos y factores de crecimiento entre los métodos. Todas las metodologías empleadas lograron incrementar de manera significativa la concentración plaquetaria en relación con los niveles presentes en la sangre sin procesar, concluyendo que los procedimientos de un solo paso producen cantidades suficientes de plaquetas para uso clínico (8).

Pazzini *et al.* (2016) llevaron a cabo una investigación en conejos para evaluar un protocolo de obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) utilizando el método de doble centrifugación. El propósito del estudio fue analizar el incremento en la concentración plaquetaria, así como estandarizar la formación del gel de PRP y mejorar la eficiencia del procedimiento en términos de tiempo. Los resultados indicaron que la doble centrifugación permite una mayor concentración de plaquetas en comparación con la sangre entera, permitiendo su uso en procedimientos

quirúrgicos. Además, el proceso se completa en 40 minutos y el gluconato cálcico favorece la activación de las plaquetas (9)

En 2017, se realizó un estudio de correlación sobre la obtención de plasma puro rico en plaquetas, con el fin de comparar su obtención utilizando diferentes condiciones de centrifugación en un modelo de donante único. El análisis mostró que, al maximizar la concentración plaquetaria y la eficiencia de captura, se incrementaron los factores de crecimiento en P-PRP ($P < 0,05$). Además, el P-PRP obtenido en condiciones óptimas promovió la proliferación y migración celular ($P < 0,05$) sin afectar la supervivencia celular ($P > 0,05$). La centrifugación a 160g durante 10 min y 250 g durante 15 min, con eliminación de la capa leucocítica, es el método óptimo para preparar P-PRP para aplicaciones clínicas (34).

Moreno *et al.* (2015) desarrollaron un estudio enfocado en los distintos métodos de obtención del plasma rico en plaquetas (PRP) y su aplicación en tratamientos con capacidad osteoinductora. El PRP puede ser obtenido mediante procedimientos manuales —conocidos como técnica abierta— o a través de sistemas desechables —técnica cerrada—, estos últimos considerados dispositivos médicos de clase IIa. Gracias a su elevada concentración de factores de crecimiento, el PRP posee propiedades que favorecen la consolidación ósea y la osteointegración de implantes. Aunque la mayoría de los pacientes presenta buena tolerancia a las infiltraciones, se debe tener precaución por su elevado potencial para estimular la angiogénesis. Los autores concluyen que el uso del PRP debe regularse como un fármaco sujeto a prescripción médica, bajo la

supervisión de los servicios de farmacia hospitalaria durante su preparación y administración (11).

En 2019, Silva et al. presentaron un método sencillo y de bajo costo para obtener plasma rico en plaquetas (PRP) titulado "Bajar-subir". El objetivo era describir y analizar este protocolo en comparación con métodos previamente utilizados. Realizaron cuatro protocolos de centrifugación con diferentes giros y fuerzas, obteniendo concentraciones de plaquetas que eran 1,15, 2,07, 2,18 y 3,19 veces mayores que la concentración inicial, respectivamente. Con la técnica "bajar-subir", el recuento de plaquetas fue 4,17 veces mayor que el inicial (IC 95%: 3,09 a 5,25), con un costo total de menos de US\$10 por individuo (10).

En 2020, Fariña *et al.* evaluaron cinco protocolos estándar para la obtención de PRP en caninos, comparando su rendimiento. Utilizando sangre de 5 caninos con hemograma normal, los resultados mostraron que el protocolo C obtuvo un 163% de PRP, seguido por los protocolos B (96%), E (8,62%), D (6,38%) y A (4,47%). Se concluyó que el protocolo C requería menos revoluciones y tiempo para obtener PRP de mejor rendimiento (26).

1.1.2. Nacionales

En 2022, en el Hospital de Alta Complejidad Virgen de la Puerta, se evaluó dos métodos para la obtención de plaquetas a partir del PRP; método A (450 g por 8 minutos) y el método B (método A, seguido de una segunda centrifugación a 600g por 15 minutos) basados en el tiempo y fuerza gravitacional, obteniendo como resultado que el mayor porcentaje de plaquetas obtenidas a partir del PRP, fue con el método B.

En 2024, se realizó una revisión bibliográfica sobre Protocolos de elaboración de Plasma Rico en Plaquetas en especies domésticas y silvestres. El objetivo de esta revisión fue identificar las principales diferencias en los protocolos de preparación de PRP para animales domésticos y silvestres. Se analizaron 49 procedimientos, de los cuales 31 utilizaron citrato de sodio como anticoagulante. La mayoría de los estudios se realizaron en equinos (21 estudios). Las concentraciones plaquetarias en bovinos mostraron mayor variabilidad entre individuos, mientras que en equinos la dispersión fue menor. El 67% de los protocolos emplearon un doble centrifugado, con la segunda centrifugación a mayor velocidad, mientras que el tiempo de centrifugación no varió significativamente entre las dos etapas (36).

1.2. Bases Teóricas

1.2.1. Plasma Rico en Plaquetas (PRP)

El plasma rico en plaquetas constituye un componente sanguíneo procesado que presenta una concentración plaquetaria superior a la del plasma basal, que se obtiene mediante centrifugaciones sucesivas o aféresis. Para que sea efectivo, debe tener entre 2,500 y 100,000 plaquetas por microlitro, alcanzando niveles que superan entre dos y siete veces las concentraciones plaquetarias habituales en sangre periférica (37). El concentrado plaquetario puede activarse mediante agentes como la trombina o el gluconato de calcio, lo cual induce la liberación de una mezcla compleja de factores de crecimiento, citoquinas y otras biomoléculas. Una vez activado, el PRP puede ser administrado en forma líquida o, tras un reposo aproximado de 10 minutos, adquirir una

consistencia de hidrogel. Esta forma gelatinosa permite su aplicación directa sobre tejidos lesionados o su combinación con células para potenciar los procesos regenerativos (38). Inicialmente, el uso del PRP se centraba en el ámbito quirúrgico, principalmente para favorecer la cicatrización de heridas complejas o inducidas por procedimientos médicos. Con el tiempo, su uso se ha expandido hacia múltiples disciplinas médicas, superando su rol inicial en la reparación tisular quirúrgica (39). Cabe resaltar que, al ser un derivado plasmático, el PRP presenta una marcada variabilidad en su composición, especialmente en cuanto al tipo y concentración de factores bioactivos presentes. Esta variabilidad depende de factores como el donante, su estado de salud, y las técnicas utilizadas para su obtención y procesamiento (40,41). Además, el PRP puede contener diferentes cantidades de leucocitos y plaquetas. A pesar de su popularidad, aún no existe un protocolo estandarizado para su preparación, ya que las prácticas varían en aspectos como la inclusión de leucocitos y glóbulos rojos, la velocidad y el tiempo de centrifugación, y los métodos de activación (41).

1.2.2. Tipos de plasma y sus características

Existen diferentes tipos de plasma rico en plaquetas (PRP), cada uno con características y aplicaciones específicas. El Puro (P-PRP) contiene pocos o ningún leucocito y es rico en factores de crecimiento, lo que lo hace ideal para la regeneración celular y la cicatrización (44). El Leucocitario (L-PRP), por su parte, incluye una capa residual de células rojas y contiene metaloproteinasas de matriz y hierro, que pueden dañar las plaquetas por oxidación. Aunque tiene más factores quimiotácticos que el PRP puro, su

presencia no asegura un efecto terapéutico superior (45). El tipo Fibrina (P-PRF o PRFM) es el más estudiado en la actualidad, ya que se activa y se incuba, lo que permite obtener plaquetas suspendidas en una malla de fibrina. Ha demostrado buenos resultados en el tratamiento de la alopecia androgénica y el rejuvenecimiento de los pliegues naso labiales. Finalmente, el Fibrina-leucocitos (L-PRF) no utiliza anticoagulantes en su procesamiento, lo que da como resultado un coágulo o membrana estable, siendo útil en la cicatrización de úlceras y heridas crónicas. Cada tipo de PRP tiene aplicaciones específicas, adaptándose a las necesidades particulares de cada tratamiento (44). El uso del PRP se ha extendido en diversas áreas médicas, incluyendo odontología, cirugía estética y otras especialidades. Su aplicación se ha ampliado a patologías como la hemofilia A y B, úlceras en extremidades de pacientes con diabetes, artrosis y otras enfermedades (47).

1.2.3. Plaquetas

Las plaquetas son pequeños fragmentos celulares sin núcleo derivadas de los megacariocitos, con una forma de disco biconvexo y un diámetro aproximado de 3 μm . Aproximadamente dos tercios de ellas circulan en la sangre, mientras que el resto se almacena en el bazo. Aunque antes se consideraban inertes, hoy se reconoce su compleja estructura y función, e incluso se han comparado con las neuronas debido a su capacidad de liberar y captar neurotransmisores como la serotonina. Su función principal es participar en la hemostasia, evitando la pérdida excesiva de sangre tras una lesión vascular, especialmente en las arterias. Normalmente, no se adhieren entre sí ni al endotelio, gracias al equilibrio

entre factores pro y anti trombóticos. Sin embargo, cuando ocurre una lesión, se adhieren a las estructuras expuestas, se activan y se agrupan, formando el tampón hemostático primario (47). Contienen diversos orgánulos citoplasmáticos que liberan su contenido al activarse, entre ellos los cuerpos densos, gránulos α y lisosomas. Los más abundantes son los gránulos α , que almacenan proteínas como la β -tromboglobulina y el factor plaquetario 4 (PF-4), además de otros compuestos como fibronectina, trombospondina, inhibidores de la fibrinólisis, fibrinógeno y factor von Willebrand. También secretan mediadores solubles, incluyendo citocinas y factores de crecimiento (FCs), que pueden ser tanto pro- como antiangiogénicos. Entre ellos se encuentran el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), el factor de crecimiento epidérmico (EGF), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento del hepatocito (HGF), el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), entre otros (47,48).

Los descubrimientos de Bizzozero fueron fundamentales para identificar el papel de las plaquetas en la hemostasia, sentando las bases de los conocimientos actuales. Además de su función principal en la coagulación, también participan en procesos como la inflamación, la cicatrización, la trombosis, la aterosclerosis y la diseminación de células tumorales (46).

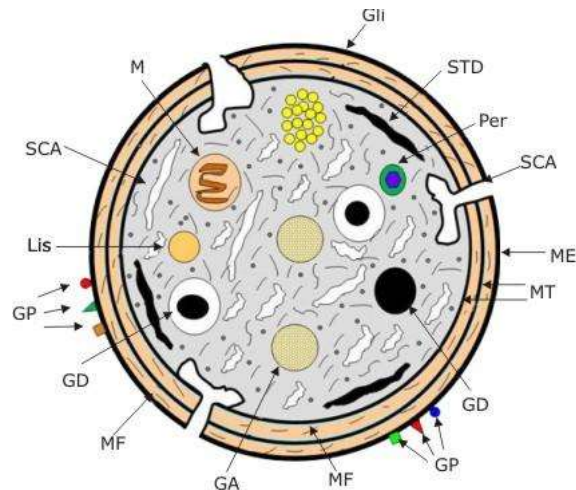


Fig. 1. Esquema de las principales características de la ultraestructura plaquetaria (49).

GA: gránulo alfa; **GD:** gránulo denso; **Glu:** glucógeno; **GP:** glicoproteínas; **Lis:** lisosoma; **M:** mitocondria; **MF:** microfilamento; **MT:** microtúbulos; **ME:** membrana externa; **Per:** peroxisoma; **SCA:** sistema canalicular abierto; **STD:** sistema tubular denso (49).

1.2.4. Factores de Crecimiento Plaquetario

Los factores de crecimiento (FC) son sustancias peptídicas que facilitan la comunicación entre las células a nivel molecular. Juegan un papel clave al regular varias funciones celulares, como la migración, proliferación, diferenciación, metabolismo y hasta la apoptosis. Su principal función es controlar el ciclo celular, ayudando a que las células pasen de un estado de reposo (G0) a una fase activa (G1). Además, estimulan el aumento del tamaño celular al promover la síntesis de proteínas en las células que afectan (42). Los factores de crecimiento (FC) y las citoquinas se almacenan principalmente en los gránulos α de las plaquetas y son fundamentales para activar respuestas biológicas en procesos como la hemostasia y la regeneración. Entre los factores más importantes se

incluyen el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), el factor de crecimiento fibroblástico (b-FGF), varios tipos del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), el factor de crecimiento epidermal (EGF) y el factor de crecimiento hepático (HGF). Además, las plaquetas contienen altos niveles de ARN pequeño (siARN) y ARN mensajero (ARNm) que codifican estos factores (43).

Las plaquetas contienen diversos orgánulos, entre ellos la membrana plasmática, el citoesqueleto, el sistema canalicular abierto, el sistema tubular denso y los gránulos. También poseen mitocondrias y gránulos de glucógeno (48). Además, tienen la capacidad de cambiar de forma, pasando de una estructura discoide a una esférica, lo que les permite desarrollar pseudópodos para adherirse al endotelio, interactuar con otras células y liberar el contenido de sus gránulos. Su activación se produce en respuesta a diversos estímulos, como trombina, tripsina, colágeno, ADP, epinefrina, metabolitos del ácido araquidónico y el factor activador de plaquetas, desencadenando una serie de eventos funcionales (46, 47) (Ver apéndice 1).

1.2.5. Activación plaquetaria

Los agonistas fisiológicos involucrados en la activación plaquetaria incluyen macromoléculas de la matriz subendotelial, como colágeno y factor de von Willebrand (vWF), hormonas circulantes como adrenalina y vasopresina, y sustancias liberadas en el sitio de la lesión, como trombina. También participan compuestos generados por plaquetas activadas, como tromboxano A₂, ADP y serotonina, además de factores de activación

plaquetaria producidos por otras células (46). La activación se inicia cuando las plaquetas entran en contacto con el colágeno expuesto en la matriz subendotelial, lo que permite su adhesión mediante la interacción con el factor de von Willebrand (vWF) y receptores de colágeno como GPVI e integrinas. Posteriormente, agonistas como la trombina, el ADP, el tromboxano A2 y la serotonina amplifican la activación a través de receptores acoplados a proteínas G, como P2Y₁₂ para ADP y TP para tromboxano A2 (50,51). La unión de estos agonistas a sus receptores desencadena una cascada de señalización intracelular que incluye la activación de fosfolipasas, la generación de segundos mensajeros como inositol trifosfato (IP₃) y diacilglicerol (DAG), la movilización de calcio intracelular y la activación de proteínas quinasa, como la PKC. Estos eventos provocan cambios en la morfología plaquetaria, reorganización del citoesqueleto y la exocitosis de los gránulos plaquetarios, liberando mediadores como ADP y tromboxano A2, que refuerzan la activación y amplifican la respuesta (52,53).

Una vez activadas, las plaquetas expresan en su superficie integrinas como $\alpha\text{IIb}\beta_3$, esenciales para la adhesión al fibrinógeno y la formación de agregados plaquetarios. Esto estabiliza el tapón hemostático primario y facilita la generación de trombina, que convierte el fibrinógeno en fibrina, consolidando el coágulo (54).

1.2.6. Métodos de Obtención de PRP

La obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) puede realizarse mediante dos enfoques principales: uno manual o abierto, y otro cerrado, basado en el uso de kits desechables. La técnica seleccionada influye

significativamente en los niveles de plaquetas, leucocitos, eritrocitos y factores de crecimiento presentes en la muestra, generando distintas formulaciones con aplicaciones específicas. Entre estas variantes se encuentran el Preparado Rico en Factores de Crecimiento (PRGF), el Plasma Rico en Plaquetas con Factores de Crecimiento (PRPGF), el PRP convencional, el Plasma Pobre en Plaquetas (PPP), así como el PRP enriquecido con leucocitos (LRPRP) y el PRP con bajo contenido leucocitario (LPPRP). Cada tipo posee propiedades particulares que lo hacen adecuado para diversas intervenciones terapéuticas (55, 7, 24).

1.2.6.1. Método de doble centrifugación

Este procedimiento consiste en una primera centrifugación a baja velocidad para separar la fracción plasmática de los hematíes. A continuación, se lleva a cabo una segunda centrifugación de mayor intensidad con el fin de concentrar las plaquetas en la porción más densa del componente plasmático. Este método permite obtener un PRP con una alta concentración plaquetaria y se considera uno de los más efectivos para terapias regenerativas (56)

1.2.6.2. Método de una sola centrifugación

En este método, la sangre entera se centrifuga a una velocidad intermedia, logrando una separación directa del PRP sin necesidad de una segunda centrifugación. Si bien es un procedimiento más rápido, la concentración de plaquetas puede ser inferior a la obtenida con la doble centrifugación. Se usa comúnmente en aplicaciones clínicas donde la rapidez del proceso es un factor importante (56,57).

1.2.6.3. Método con gradiente de densidad

Este método utiliza medios de separación con gradientes de densidad, como Ficoll o geles especiales, para aislar la fracción rica en plaquetas. Se basa en la diferencia de peso entre las células sanguíneas y permite una separación más precisa de las plaquetas, evitando la contaminación con glóbulos rojos y leucocitos. Se ha utilizado ampliamente en investigaciones biomédicas (57).

1.2.6.4. Método de centrifugación con control de temperatura

Algunas técnicas de centrifugación incorporan un control de temperatura para preservar la viabilidad plaquetaria y la integridad de los factores de crecimiento. Se ha demostrado que el mantenimiento de una temperatura adecuada durante el proceso evita la activación prematura de las plaquetas y mejora la calidad del PRP obtenido (57,58,60).

1.2.6.5. Método automatizado con kits de sistema cerrado

Los dispositivos comerciales de sistema cerrado, como el SmartPReP® o el Arthrex Angel®, emplean algoritmos programados que ajustan la velocidad y duración de la centrifugación para optimizar la concentración plaquetaria. Este método minimiza la variabilidad entre muestras y reduce el riesgo de contaminación, siendo ideal para aplicaciones clínicas donde se requiere un PRP estandarizado (57,59).

1.2.7. Factores determinantes en la generación de PRP

La obtención del plasma rico en plaquetas (PRP) depende de varios factores que influyen en su calidad y concentración de factores de

crecimiento. Uno de los aspectos clave es la velocidad y tiempo de centrifugación, que determinan la separación eficiente de los componentes sanguíneos. La velocidad se mide en revoluciones por minuto (RPM) o en fuerza relativa centrífuga (g), y tiempos de centrifugación entre 5 y 15 minutos suelen ser óptimos. Una baja velocidad (~100–800 g) preserva las plaquetas intactas, evitando su activación prematura, mientras que una alta velocidad (>1000 g) puede aumentar la concentración plaquetaria, pero con riesgo de lisis celular (61). Otro factor crucial es el tipo de anticoagulante utilizado para prevenir la coagulación de la sangre antes de la centrifugación. Los más empleados son el citrato de sodio, que conserva la viabilidad plaquetaria sin activación prematura; el EDTA, que puede desestabilizar la membrana plaquetaria; y la heparina, que puede alterar la activación plaquetaria (62).

La activación del PRP es otro elemento determinante para la liberación de factores de crecimiento. Se utilizan activadores como el cloruro de calcio (CaCl_2), que induce la degranulación plaquetaria; la trombina autóloga, que convierte el fibrinógeno en fibrina formando un gel; y el colágeno tipo I, que favorece la agregación plaquetaria de manera fisiológica (63). En cuanto a los métodos de centrifugación, existen dos enfoques principales: la centrifugación simple, que es rápida y sencilla pero menos eficiente en la concentración plaquetaria, y la doble centrifugación, que mejora la pureza del PRP pero requiere más tiempo y control (64). Por último, la variabilidad biológica del paciente también afecta la calidad del PRP.

Factores como la edad, género, estado de salud y consumo de medicamentos pueden influir en la cantidad y calidad de factores de crecimiento. Pacientes con enfermedades crónicas pueden presentar menor concentración plaquetaria, mientras que la dieta y la hidratación afectan la viscosidad de la sangre y la eficiencia de la separación de los componentes (63,64).

1.2.8. Aplicaciones clínicas del PRP en caninos

El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) se ha convertido en una herramienta terapéutica prometedora en la medicina veterinaria, especialmente en el tratamiento de diversas afecciones en caninos. Su capacidad para promover la regeneración tisular, modular la inflamación y acelerar la cicatrización lo ha posicionado como una opción valiosa en múltiples especialidades. En el tratamiento de lesiones musculoesqueléticas, el PRP ha sido utilizado con éxito en la regeneración de tendones, ligamentos y músculos en perros con lesiones deportivas o degenerativas. Su aplicación intraarticular en caninos con artrosis ha demostrado reducir la inflamación y mejorar la movilidad articular, favoreciendo la síntesis de colágeno y proteoglicanos en el cartílago (65). En el ámbito quirúrgico, el PRP se emplea para acelerar la consolidación ósea en fracturas, osteotomías y defectos óseos. Su combinación con injertos óseos favorece la proliferación de osteoblastos y la formación de tejido óseo nuevo, mejorando los tiempos de recuperación postoperatoria en caninos con patologías ortopédicas (66). En la medicina regenerativa y el tratamiento de úlceras y heridas, el PRP ha mostrado gran efectividad en la regeneración de heridas crónicas y úlceras cutáneas, especialmente en

aquellas asociadas con enfermedades metabólicas como la diabetes. Su aplicación tópica o en forma de gel acelera la re epitelización, angiogénesis y formación de tejido de granulación, mejorando la calidad de la cicatrización (67). En la odontología veterinaria, el PRP se ha utilizado en procedimientos como extracciones dentales, cirugía periodontal y defectos óseos maxilofaciales. Su uso promueve la regeneración de hueso alveolar y tejidos blandos, reduciendo el tiempo de recuperación y el riesgo de infecciones postquirúrgicas (68). En el ámbito de la dermatología y cicatrización de quemaduras, el PRP ha demostrado ser una terapia eficaz en caninos con dermatitis crónica, alopecia y quemaduras, ya que estimula la proliferación celular y la regeneración de la piel. Su aplicación mejora la calidad del pelo, reduce la inflamación y acelera la recuperación de lesiones cutáneas graves (69). Las aplicaciones del PRP en caninos continúan expandiéndose a diversas áreas de la medicina veterinaria, ofreciendo una alternativa terapéutica innovadora y eficaz para mejorar la calidad de vida de los animales. Para lograr mayor eficacia y confiabilidad del PRP, es necesario establecer protocolos uniformes tanto en su obtención como en su aplicación.

1.3. Definición de términos básicos

1.3.1. Plasma

Definición según el diccionario médico TEIDE (12):

Se trata de un líquido de tonalidad amarillenta donde se encuentran suspendidas las células sanguíneas. Su composición incluye una mezcla de sales inorgánicas —como sodio, potasio y calcio— disueltas en agua,

junto con una alta concentración de proteínas (cerca de 70 g/l) y una variedad de compuestos en menor proporción.

Tortora y Derrickson – 13ª edición (2006) (13):

Fluido amarillento que carece de los elementos formes de la sangre, constituido principalmente por agua (alrededor del 91.5%) y por una fracción de solutos (8.5%), entre los cuales predominan las proteínas plasmáticas.

1.3.2. Plasma Rico en Plaquetas (PRP)

Tortora y Derrickson – 13ª edición (2006) (13):

Derivado de la sangre, donde se concentran trombocitos, obtenidos por variedad de métodos como la centrifugación.

1.3.3. Plaqueta (trombocito)

Definición según el diccionario médico TEIDE (12):

Estructura en forma de disco, de 1-2 micras de diámetro, presente en la sangre, aparecen como fragmentos de citoplasma, existen normalmente de $150-400 \times 10^9$ plaquetas/litro de sangre.

Instituto Nacional del Cáncer (NIH) – EE. UU (14):

Son fragmentos celulares de forma discoide presentes en la sangre y el bazo. Su función principal es participar en la formación del coágulo, contribuyendo a detener o reducir el sangrado y promoviendo el proceso de cicatrización. Estas estructuras también se conocen como trombocitos.

1.3.4. Regeneración

Real Academia Nacional de Medicina de España (15):

Serie de mecanismos biológicos encargados de restaurar la estructura y función de células, tejidos u órganos que han sufrido daño o lesión.

Instituto Nacional del Cáncer (NIH) – EE. UU (14):

En el ámbito biológico, se refiere a la capacidad de un organismo para regenerar un tejido o una estructura corporal que ha sido dañada o eliminada.

1.3.5. Quimiotaxis

Diccionario médico – Biológico, histórico y etimológico de España (16):

Es la inclinación que presentan ciertas células u órganos a desplazarse siguiendo una dirección específica, guiada por la presencia de señales químicas en su entorno.

1.3.6. Proliferación

Real Academia Nacional de Medicina de España (15):

Aumentar el número de células o de microbios en un tejido, un órgano, un cultivo o un tumor, por métodos reproductivos.

Diccionario de la RAE (Real Academia Española) (17):

Reproducirse en formas similares.

1.3.7. Angiogénesis

Instituto Nacional del Cáncer (NIH) – EE. UU (14):

Formación de vasos sanguíneos.

Real Academia Nacional de Medicina de España (15):

Proceso mediante el cual se generan vasos sanguíneos o linfáticos, ya sea durante el desarrollo embrionario o como parte de los mecanismos de reparación y regeneración tisular. También se le conoce como vascularización o vasculogénesis.

1.3.8. Centrifugación

Diccionario médico – Biológico, histórico y etimológico de España (16):

Es un procedimiento que utiliza la fuerza centrífuga con el fin de separar los componentes de una mezcla o sustancia, basándose en las diferencias de densidad entre ellos; también puede emplearse para secar materiales específicos.

Real Academia Nacional de Medicina de España (15):

Es una técnica mecánica que permite separar los componentes de una mezcla con densidades distintas mediante el uso de una centrifugadora. Se utiliza comúnmente para sedimentar los elementos celulares presentes en líquidos orgánicos, ya sean fisiológicos o patológicos.

CAPÍTULO II

MARCO METODOLÓGICO

2.1. Ubicación geográfica

El estudio se realizó en el Laboratorio de Ciencias Naturales ubicado en las instalaciones del Centro de Educación Particular Albert Einstein, en Celendín, Cajamarca. La provincia limita con San Marcos, Cajamarca, Chota, Amazonas y Hualgayoc, y ocupa 2,658.52 km² (8.06 % de Cajamarca). Su capital es Celendín y tiene 79,084 habitantes, con una densidad de 33.48 Hab/km² (INEI 2022) (18).

2.1.1. Características geográficas y meteorológicas de la provincia de Celendín¹

- Altitud	: 2 650 m s. n. m.
- Latitud	: 6°51'00" S
- Longitud	: 78°14'00" O
- Temperatura máxima promedio	: 22 °C
- Temperatura mínima promedio	: 8 °C
- Precipitación pluvial anual	: 800 – 1200 mm

- **Clima:** El clima de Celendín es templado de montaña. En zonas altas (+3,000 m s. n. m.), es frío con temperaturas de hasta 0 °C; en la zona media (2,000-3,000 m s. n. m.), templado entre 8 °C y 22 °C; y en zonas bajas (-2,000 m s. n. m.), cálido con más de 25 °C.

¹ FUENTE: DATOS CONVENIO SENAMHI CAJAMARCA – 2024

2.2. Diseño de la Investigación

Se empleó un diseño cuasi experimental descriptivo para alcanzar los objetivos planteados, dado su mínimo grado de control sobre las variables.

Se implementó el procedimiento según la siguiente metodología:

2.2.1. Obtención de la muestra sanguínea

Cada canino fue sedado con xilazina (0.5 – 1 mg/kg de peso vivo, vía intramuscular), siguiendo las directrices del *Plumb's Veterinary Drug Handbook* (70) para facilitar su manipulación y dependiendo del grado de sedación deseado. Posteriormente, se realizó la tricotomía en la región cráneo-medial del antebrazo utilizando una cortadora eléctrica (Oster A5 Golden®), seguida de la antisepsia con gluconato de clorhexidina al 4% (Hibiclen®).

La extracción sanguínea se llevó a cabo mediante punción en la vena cefálica, recolectando 10 ml de sangre en una jeringa de 10 ml con aguja N° 21G x ½ (America Farma®). La muestra se distribuyó en tres tubos al vacío; dos con citrato de sodio al 3.2% (Golden Vac®) y uno con EDTA K2 (ALMED®) debidamente rotulados, depositando 3 ml de sangre en cada uno. Los tubos con citrato de sodio fueron sometidos a centrifugación, mientras que el tubo con EDTA K2 se destinó al análisis hematológico con el propósito de evaluar la idoneidad de los caninos para ser incluidos en el estudio (Apéndice 2).

2.2.2. Métodos de centrifugación

2.2.2.1. Método de Centrifugación única

Una vez recolectada la muestra sanguínea, se realizó de forma inmediata el proceso de centrifugación utilizando una centrífuga de seis tubos (Boeco Germany 800 D®), conforme al protocolo descrito por Sáez *et al.* (2007) (26). El primer tubo al vacío con citrato de sodio al 3.2 % conteniendo 3 ml de sangre fue sometida a centrifugación a 1200 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, se colectó exclusivamente el plasma rico en plaquetas (PRP), descartando el plasma pobre en plaquetas. El PRP obtenido fue transferido a viales para plasma (Green Med®) en un volumen de 1 ml, utilizando una jeringa tuberculina. La muestra fue trasladada al laboratorio de hematología para la determinación de la concentración plaquetaria. El recuento celular de las muestras de sangre total y de PRP se llevó a cabo de forma automática usando el Analizador Hematológico Beckman Coulter AC. T5 (Ver apéndice 3). El tiempo total transcurrido desde la extracción de la muestra hasta la lectura de los resultados fue de 20 a 25 minutos. Los valores obtenidos fueron registrados en la hoja de control del laboratorio.

2.2.2.2. Método de Centrifugación doble

El procedimiento de centrifugación doble se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Sáez *et al.* (2007) (26). Los 3 ml de sangre contenida en el segundo tubo al vacío con citrato de sodio al 3.2% (Almer®) fue sometida a una primera

centrifugación a 1200 rpm durante 10 minutos. Posteriormente, terminada la primera centrifugación, inmediatamente, se realizó una segunda a 3000 rpm durante 15 minutos, lo que permitió la separación de la fracción de plasma pobre en plaquetas (PPP). El plasma rico en plaquetas (PRP) obtenido fue transferido a viales para plasma (Green Med®) en la cantidad de 1 ml para su posterior análisis de recuento plaquetario. Por último, los datos obtenidos fueron anotados en la hoja de control correspondiente del laboratorio (Ver apéndice 4).

2.3. Métodos de Investigación

- Cuasi experimental
- Descriptivo

2.4. Población, muestra y unidad de análisis

2.4.1. Población

La unidad de análisis en esta investigación fue el plasma sanguíneo extraído de los caninos seleccionados para el muestreo.

Criterios de Inclusión:

- Caninos domésticos clínicamente sanos.
- Edad entre 1 y 8 años.
- Peso superior a 5 kg.
- Caninos procedentes de la zona urbana de Celendín con previa autorización (Apéndice 5).

Criterios de Exclusión:

- Caninos con enfermedades hematológicas o infecciosas.

- Tratamiento reciente con AINEs, corticosteroides o anticoagulantes.
- Hembras en gestación o lactancia.

2.4.2. Muestra

La elección de 10 caninos en este estudio se justificó por la necesidad de un tamaño muestral que permitiera obtener datos estadísticamente representativos, sin comprometer el bienestar animal. Según Cochran (1977), un tamaño muestral de este orden es suficiente cuando la variabilidad es baja y las condiciones experimentales son homogéneas (71). Además, se siguió el principio de las "3R" (Russell y Burch, 1959) (72), que busca minimizar el número de sujetos experimentales. Estudios previos en veterinaria utilizaron tamaños muestrales similares, demostrando la fiabilidad de este enfoque.

2.4.3. Unidad de análisis

La unidad de análisis para el presente estudio de investigación fue el "Plasma Sanguíneo" obtenido de los caninos muestreados.

2.5. Técnicas e instrumentos de recopilación de la información

Técnicas:

- Observación directa

Instrumentos:

- Hojas de registro de laboratorio

2.6. Técnicas para el procesamiento y análisis de la información

Para llevar a cabo el tratamiento y análisis de los datos recolectados de las concentraciones plaquetarias en los dos métodos de centrifugación (única y doble), se aplicaron dos pruebas estadísticas:

A. Prueba de normalidad de Shapiro-Wilk: Esta prueba se usó para determinar si los datos de cada grupo (centrifugación única y doble) seguían una distribución normal.

B. Prueba *t* de Student para muestras dependientes: Una vez verificada la normalidad, se usó esta prueba para muestras emparejadas o dependientes, porque eran los mismos individuos los que son sometidos a dos métodos diferentes.

Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el software estadístico SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*).

2.7. Equipos y materiales

2.7.1. Materiales para extracción y procesamiento de muestras:

- Jeringas para extracción sanguínea.
- Aguja N° 21 G x ½ para venopunción.
- Tubos al vacío con citrato de sodio al 3.2%
- Tubos al vacío con EDTA K2 (ALMED®).
- Viales para plasma (Green Med®).

2.7.2. Equipos de laboratorio:

- Centrífuga clínica (BOECO Germany 800 D®).
- Analizador hematológico (Beckman Coulter AC. T5).

2.7.3. Materiales de escritorio y registro:

- Hojas de registro de laboratorio.
- Computadora
- Papel, lapicero, y otros suministros de oficina.

2.7.4. Antisépticos

- Gluconato de clorhexidina al 4% (Hibiclen®).

2.7.5. Equipos de protección personal (EPP):

- Guantes de látex desechables.
- Mandil de laboratorio.
- Mascarillas.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Presentación de resultados

3.1.1. Concentración plaquetaria

Tabla 1. Concentración plaquetaria en PRP obtenido mediante el método de centrifugación única y doble en caninos (*Canis lupus familiaris*).

Muestra	Método de centrifugación única (Plaquetas/μL)	Método de centrifugación Doble (Plaquetas/μL)	Relación entre métodos
Rufo	374000	452000	1.21
Kalassy	168000	460000	2.74
Feridé	488000	605000	1.24
Polar	243000	775000	3.19
Max	158000	453000	2.87
Chamaco	147000	465000	3.16
Princesa	335000	650000	1.94
Estrella	225000	770000	3.42
Kith	263000	463000	1.76
Rolo	156000	436000	2.79
PROMEDIO	255700,00 ($\pm$ 112,741.64)	552900,00 ($\pm$ 136,165.30)	

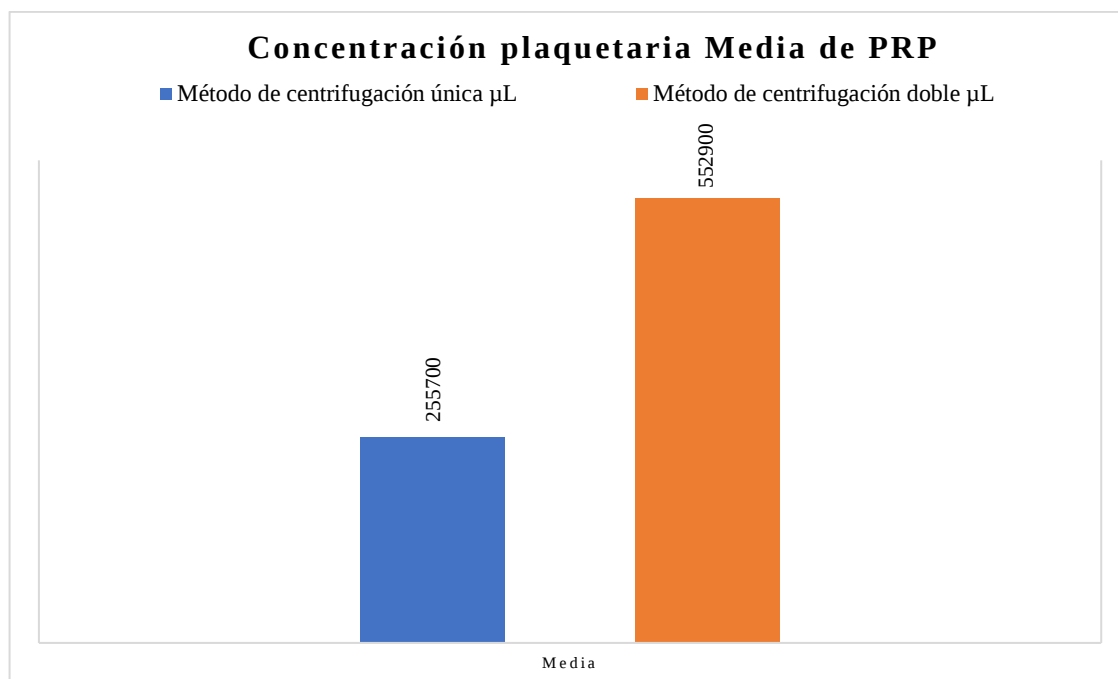


Gráfico 1. Concentración plaquetaria media de PRP obtenido mediante el método de centrifugación única y doble en caninos (*Canis lupus familiaris*).

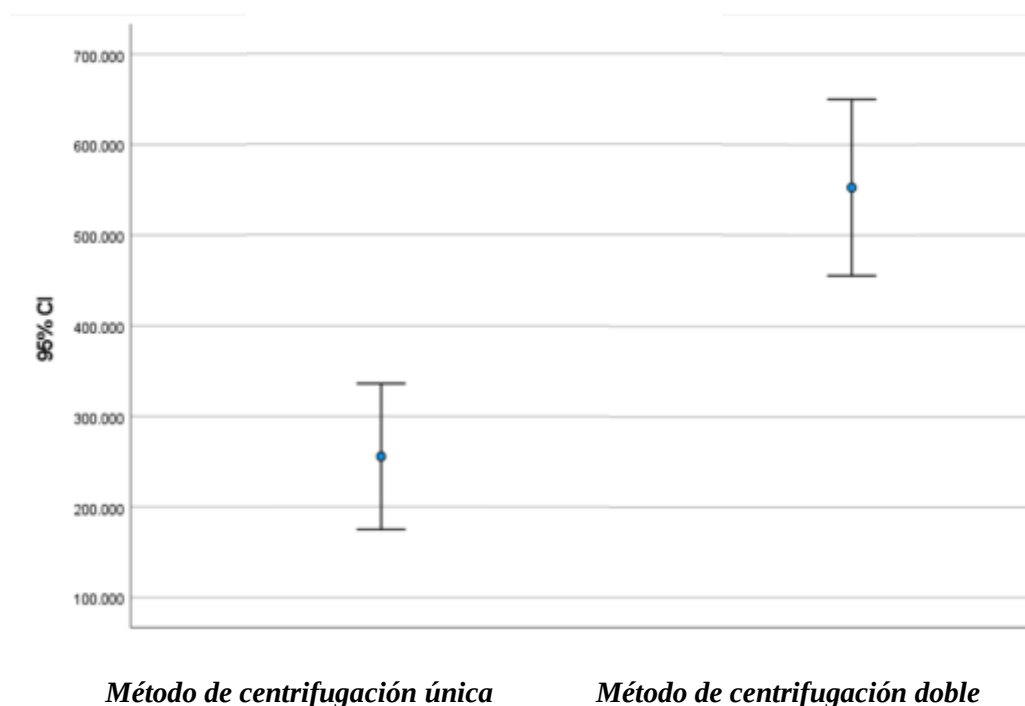


Gráfico 2. Intervalos de confianza para la concentración plaquetaria en el PRP obtenido por método de centrifugación única y doble en caninos (*Canis lupus familiaris*).

3.2. Análisis, interpretación y discusión de resultados.

En este estudio, se observa una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de concentración de plaquetas alcanzados mediante los métodos de centrifugación simple y doble. El método de doble centrifugación logró concentraciones plaquetarias significativamente mayores que el método único, como se observa en la Tabla 1 y el Gráfico 1. Por ejemplo, en el caso del paciente "Polar", la concentración aumentó de 243,000 plaquetas/ μ L con una sola centrifugación a 775,000 plaquetas/ μ L con doble centrifugación. Casos similares se presentan en "Princesa" (de 335,000 a 650,000 plaquetas/ μ L) y "Estrella" (de 225,000 a 770,000 plaquetas/ μ L), lo que refuerza la consistencia de los resultados a favor del método de doble centrifugación. Este resultado es coherente con lo descrito en otros estudios veterinarios y humanos, que resaltan la eficacia de este método para concentrar más plaquetas al reducir la mezcla con otros elementos celulares (73, 74).

En el Gráfico 1 se puede observar la diferencia de medias entre ambos métodos de centrifugación, las barras correspondientes al método doble (color naranja) presentan valores superiores a las del método único (color azul), reflejando de forma visual la superioridad del primero. Esta mayor concentración plaquetaria tiene implicancias clínicas importantes. Según Andia y Maffulli, un mayor contenido de plaquetas se traduce en una mayor liberación de factores de crecimiento, favoreciendo procesos regenerativos, sobre todo en cartílago y hueso en humanos (75), y en tendinopatías, heridas y patologías degenerativas en animales (76). En línea con nuestros hallazgos, estudios como el de Castillo et al. (2021) también reportan que la doble centrifugación es el método más eficiente

para obtener PRP con altas concentraciones plaquetarias en perros (77). Asimismo, Torres *et al.* (2020) destacan que esta técnica resulta más efectiva para terapias regenerativas en tejidos blandos, lo cual confirma la relevancia clínica de elegir el procedimiento adecuado (78).

En cuanto a los promedios, el análisis cuantitativo refleja que el método de centrifugación única produjo una media de 255,700 plaquetas/ μ L, mientras que el doble alcanzó un promedio de 552,900 plaquetas/ μ L, como se aprecia en los Anexos 3 y 4. La prueba *t* de Student reveló una diferencia estadísticamente significativa entre ambos métodos de centrifugación, respaldada por un valor de $p = 0.001$, el cual se encuentra por debajo del umbral convencional de $p \leq 0.05$, lo que refuerza la validez de los resultados obtenidos. Asimismo, la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk (ver Anexo 1) confirmó que los datos seguían una distribución normal, justificando así el uso de análisis estadísticos paramétricos. El Gráfico 2 refuerza esta diferencia al mostrar que los intervalos de confianza entre ambos métodos apenas se cruzan. Esto indica que, más allá de las variaciones fisiológicas individuales entre los caninos, el método de doble centrifugación genera resultados más consistentes y eficaces. Aunque se observa un ligero aumento en la desviación estándar del grupo tratado con doble centrifugación (Anexo 5), esto no compromete la validez estadística, dado que el promedio continúa siendo significativamente superior.

Estos hallazgos tienen un impacto práctico notable, ya que, además de mejorar la concentración de plaquetas, la técnica de doble centrifugación contribuye a la pureza del producto final. Según Bausset *et al.* (2012), este tipo de PRP reduce la presencia de leucocitos, lo que podría disminuir la inflamación tras su

administración (80). De manera complementaria, Dohan Ehrenfest *et al.* (2010) clasificaron las formulaciones de PRP en función de su contenido celular, destacando que las variantes más puras ofrecen mejores beneficios terapéuticos dependiendo del caso clínico (81). El protocolo seguido en esta investigación coincide con dicha clasificación, debido a que el proceso de doble centrifugación facilita una separación más definida y exacta de los distintos componentes sanguíneos.

En conjunto, los resultados evidencian que optar por el método de doble centrifugación no solo incrementa de forma significativa la concentración plaquetaria, sino que también puede optimizar la calidad del PRP aplicado en pacientes caninos.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

- El método de doble centrifugación alcanzó una mayor concentración plaquetaria (552,900 plaquetas/ μ L) que el método de centrifugación única (255,700 plaquetas/ μ L), con una diferencia estadísticamente significativa y con un valor de $p = 0.001$, el cual se encuentra por debajo del umbral convencional de $p \leq 0.05$.
- La técnica basada en doble centrifugación demostró ser más eficiente para la obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) en caninos (*Canis lupus familiaris*), al permitir una mayor acumulación de plaquetas en el concentrado final.

CAPÍTULO V

SUGERENCIAS

Se recomienda implementar el método de doble centrifugación como protocolo estándar para la obtención de PRP en medicina veterinaria, debido a su eficacia para lograr una mayor concentración plaquetaria. Este método consiste en una primera centrifugación a 1200 rpm durante 10 minutos, seguida de una segunda centrifugación a 3000 rpm durante 15 minutos, lo cual permite separar mejor los componentes sanguíneos y obtener un PRP más puro y concentrado. Además, se sugiere estandarizar estos protocolos en las clínicas veterinarias de la región Cajamarca, considerando los recursos técnicos y económicos disponibles. Es importante capacitar al personal técnico en la correcta aplicación del método de doble centrifugación, ya que requiere precisión en tiempos y velocidades. Asimismo, se recomienda implementar controles básicos de calidad durante el proceso, como el adecuado manejo del material biológico y la reducción de leucocitos en el PRP, lo cual podría minimizar respuestas inflamatorias en los pacientes. Dado que muchas clínicas en Cajamarca trabajan con recursos limitados, es fundamental evaluar el costo beneficio de cada método de obtención de PRP. A pesar de requerir una segunda centrifugación, el método doble continúa siendo viable por su mayor eficacia y por el acceso a equipos básicos como centrífugas, viales y jeringas tuberculinas. Finalmente, se alienta a realizar estudios clínicos locales que validen su aplicación en el tratamiento de patologías frecuentes en la región, como heridas, tendinopatías, terapia regenerativa y afecciones articulares en animales de compañía y de trabajo.

REFERENCIAS

1. Lim W, Park S, Kim B, Kang S, Lee J, Moon Y. *Relationship of cytokine levels and clinical effect on platelet-rich plasma-treated lateral epicondylitis*. J Orthop Res. [Internet]. 2018 Mar 1;36(3): 913–20. [cited 2024 Jan 25]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28851099/>
2. Görmeli G, Görmeli C, Ataoglu B, Çolak C, Aslantürk O, Ertem K. *Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial*. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. [Internet]. 2017 Mar 1;25(3):958–65. [cited 2024 Jan 25]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26233594/>
3. Shetty S, Dhond A, Arora M, Deore S. *Platelet-rich plasma has better long-term results than corticosteroids or placebo for chronic plantar fasciitis: randomized control trial*. J Foot Ankle Surg. [Internet]. 2019 Jan 1;58(1):42–6. [cited 2024 Jan 25]. Available from: <https://doi.org/10.1053/j.jfas.2018.07.006>
4. Ahmad H, Farrag S, Okasha A, Kadry A, Ata T, Monir A. *Clinical outcomes are associated with changes in ultrasonographic structural appearance after platelet-rich plasma treatment for knee osteoarthritis*. [Internet]. 2022 [cited 2024 Jan 25]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29878617/>
5. Barnett J, Borin M, Barry L, Katayama E, Patel A, Cvetanovich G. *The utility of platelet-rich plasma in modern orthopedic practices: a review of the literature*. J Orthop Exp Innov. [Internet]. 2024. [cited 2024 Jan 25]. Available from: <https://journaloei.scholasticahq.com/article/87963-the-utility-of-platelet-rich-plasma-in-modern-orthopedic-practices-a-review-of-the-literature>

6. Rodríguez J, Palomar M, Torres J. *Plasma rico en plaquetas: Fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial*. Rev Esp Cir Oral Maxilofac. [Internet]. 2012 Jan;34(1):8–17. [cited 2024 Jan 26]. Available from: <https://scielo.isciii.es/pdf/maxi/v34n1/original2.pdf>

7. Gato L. *Estandarización del plasma rico en plaquetas como medicamento para la artrosis*. [Internet]. 2009 [cited 2024 Jan 28]. 2019;54(2):32–4. Available from: https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/22819/GatoCalvo_Lucia_TD_2019.pdf?sequence=2&isAllowed=y

8. Mazzocca A, McCarthy M, Chowaniec D, Cote M, Romeo A, Bradley J. *Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability*. J Bone Joint Surg Am. 2012 Feb 15;94(4):308–16. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22336969/>

9. Pazzini J, De Nardi A, Hupples R, Gering A, Ferreira M, Silveira C, et al. *Method to obtain platelet-rich plasma from rabbits (Oryctolagus cuniculus)*. Pesq Vet Bras. . [Internet]. 2016 Jan 1;36(1):39–44. [cited 2024 Jan 28]. Available from: <https://www.scielo.br/j/pvb/a/ZJVCp8zCNRmyHSbcY9WjX5p/?lang=en>

10. Machado E, Leite R, Dos Santos C, Artuso G, Gluszczyk F, de Jesus L, et al. *Turn down-turn up: A simple and low-cost protocol for preparing platelet-rich plasma*. Clinics. [Internet]. 2019; 74. [cited 2024 Jan 28]. Available from: <https://www.elsevier.es/en-revista-clinics-22-articulo-turn-down-turn-up-S1807593222007098>

11. Moreno R, Carreño M, Torres J, Herreros J, Villimar A, Sánchez P. *Methods to obtain platelet-rich plasma and osteoinductive therapeutic use*. Farm Hosp. [Internet]. 2015;39(3):130–6. [cited 2024 Jan 28]. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-63432015000300002

12. Diccionario médico Teide. Teide; [Internet]. 1988. [cited 2024 Feb 1]. Available from: https://www.iberlibro.com/servlet/BookDetailsPL?bi=30991883642&searchurl=sortby%3D17%26tn%3Ddiccionario%2Bm%25E9dico%2Bteide&cm_sp=snippet-_srp1-_title1
13. Tortora G, Derrickson B. *Principios de anatomía y fisiología*. 13ª ed. Oxford: Oxford University Press; [Internet]. 2002 [citado 2025 abr 20]. Disponible en: <https://cbtis54.edu.mx/wp-content/uploads/2024/04/Principios-de-Anatomia-y-Fisiologia-Tortora-Derrickson.pdf>
14. Diccionario de cáncer del NCI. *Instituto Nacional del Cáncer*. [Internet]. 2011. [cited 2024 Jan 1]. Available from: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/plaqueta>
15. Real Academia Nacional de Medicina. [cited 2024 Feb 1]. Available from: https://dtme.ranm.es/buscador.aspx?NIVEL_BUS=3&LEMA_BUS=regeneraci%C3%B3n
16. Dicciomed: *Diccionario médico-biológico, histórico y etimológico*. [cited 2024 Jan 1]. Available from: <https://dicciomed.usal.es/palabra/quimiotaxis>
17. RAE: Real Academia de la Lengua Española [cited 2024 Jan 1]. Available from: <https://www.rae.es/drae2001/proliferar>
18. Instituto Nacional de Estadística e Informática INEI. [cited 2024 Jan 1]. Available from: <https://www.inei.gob.pe/estadisticas/indice-tematico/poblacion-y-vivienda/>
19. Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. [cited 2024 Jan 1]. Available from: <https://www.gob.pe/senamhi>

20. Wroblewski A, Mejia H, Wright V. *Application of platelet-rich plasma to enhance tissue repair. Oper Tech Orthop.* [Internet]. 2010; 20 (2):98–105. [cited 2024 Feb 5]. Available from: <https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-dabde32f-0b0b-37b8-b650-1736568bac67>
21. Fernández T. *Proceso de Mejoramiento Continuo (Estandarización).* Vera Cruz. [Internet]. 2008 Jan. [cited 2024 Feb 5]. Available from: <https://red.uao.edu.co/server/api/core/bitstreams/953cd56c-b277-45a5-b955-b499dd8b5fb2/content>
22. Gómez A, Villasis M, Miranda M. *El protocolo de investigación III: la población de estudio.* [Internet]. 2016 [cited 2024 Feb 5]. Available from: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=486755023011>
23. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden At. *Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb Haemost.* [Internet]. 2004 Jan;91(1):4–15. [cited 2024 Feb 5]. Available from: <https://scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=2665217>
24. Fernández C, Castro M, Sánchez L, Rapún L, Morales C, Arrobas T. *Manejo de muestras lipémicas en el Laboratorio Clínico.* Adv Lab Med. [Internet]. 2023;4(1):16–27. [cited 2024 Feb 7]. Available from: <http://dx.doi.org/10.1515/almed-2022-0083>
25. Castro S, Arias K. *Actualización en plasma rico en plaquetas.* Acta Med Costarric. [Internet]. 2019;61(4):142–51. [cited 2024 Feb 7]. Available from: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/amc/v61n4/0001-6002-amc-61-04-142.pdf>
26. Fariña P, Pulgar R, Molina A. *Evaluación de cinco protocolos estándar para la obtención de plasma rico en plaquetas en caninos.* Spei Domus. [Internet]. 2020;16(1):1–16. [cited 2024 Feb 7]. Available from: <https://revistas.ucc.edu.co/index.php/sp/article/view/3553>

27. Rodríguez Flores J, Palomar Gallego MA, Torres García-Denche J. *Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial*. Rev Esp Cir Oral Maxilofac. 2012 Jan;34(1):8–17. [cited 2024 Feb 7]. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1130-582012000100002
28. Cerletti, C., Tamburrelli, B., Izzi, F., Gianfagna, F., & de Gaetano, G. *Platelet-leukocyte interactions in thrombosis*. *Thrombosis Research*. 129(3), 263–266. 2012. [cited 2024 may 9]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2011.11.002>
29. Ghoshal, K., & Bhattacharyya, M. *Overview of Platelet Physiology: Its Hemostatic and Nonhemostatic Role in Disease Pathogenesis*. The Scientific World Journal. 1-6. [Internet]. 2014. [cited 2024 may 9]. Available from: <https://doi.org/10.1155/2014/781857>
30. Balbaa, M. *Importance of Growth Factors*. *Biochem Physiol*, 2(4), 1-3. [Internet]. 2013. [cited 2024 may 9]. Available from: <https://www.omicsonline.org/open-access/importance-of-growth-factors-2168-9652.1000e118.php?aid=20791>
31. Lacoste, B., et al. *Platelet concentrates: Effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release*. *Periodontol*, 74(10), 1498-1507. [Internet]. 2003. [cited 2024 may 9]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14653397/>
32. Mazzocca, A., McCarthy, M., Chowaniec, D., Cote, M., Romeo, A., Bradley, J., Arciero, R., & Beitzel, K. *Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability*. *J Bone Joint Surg Am*, 94, 308-316. [Internet]. 2003. [cited 2024 may 9]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22336969/>

33. Magalon, J. *Characterization and comparison of 5 platelet-rich plasma preparations in a single-donor model*. Arthroscopy, 30, 629-638. [Internet]. 2014. [cited 2024 may 9]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24725317/>

34. Yin, W., et al. *Optimization of pure platelet-rich plasma preparation: A comparative study of pure platelet-rich plasma obtained using different centrifugal conditions in a single-donor model*. Experimental and Therapeutic Medicine, 14, 2060-2070. [Internet]. 2017. [cited 2024 jun 10]. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5609150/>

35. Roh, Y., Kim, W., Park, K., & Oh, J. Cytokine-release kinetics of platelet-rich plasma according to various activation protocols. Bone Joint Res, 5(2), 37-45. [Internet]. 2016 [cited 2024 jun 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26862077/>

36. Pérez, M., Sánchez, D., García, G., et al. *El plasma rico en plaquetas: protocolos y aplicación en animales domésticos y silvestres*. Revista de Investigación Veterinaria de Perú, 35(5), e27549. [Internet]. 2024 [cited 2024 jun 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26862077/>

37. Marx, R. E. *Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP?* Implant Dent, 10(4), 225-228. [Internet]. 2001. [cited 2024 jun 10]. Available from: https://journals.lww.com/implantdent/fulltext/2001/10000/Platelet_Rich_Plasma_PRP_What_Is_PRP_and_What.2.aspx

38. Escamilla, M. (2016). Tesis doctoral: *Eficacia y seguridad del plasma rico en plaquetas en pacientes con úlceras de etiología venosa*. Universidad de Sevilla. [Internet]. 2016. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://idus.us.es/items/4a1b7663-9ede-4a76-9af3-1135c07ff130>

39. Sánchez, M., García, V., López, J., et al. Plasma rico en plaquetas y su aplicación en cirugía oral y maxilofacial. *Maxillofac Implantol*, 34(1), 15-22. [Internet]. 2021 [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://scielo.isciii.es/pdf/maxi/v34n1/original2.pdf>
40. Marx, R. E. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*, 76(7), 1293-1303. [Internet]. 2018. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30244245/>
41. Cieslik-Bielecka, A., Mielniczuk, A., Sibiak, R., et al. (2015). *Platelet-rich plasma and its role in bone healing and regeneration*. *J Orthop Surg Res*, 10, 75. [Internet]. 2015. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25722595/>
42. Pérez, M., Sánchez, R., López, J., et al. *Uso de plasma rico en plaquetas en la regeneración de tejidos*. *Revista de Medicina Oral*, 21(2), 125-130. [Internet]. 2014. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4558521>
43. Marx, R. E. *Platelet-rich plasma in tissue engineering: Hype or hope?* *Eur Surg Res*, 59(3-4), 265-268. [Internet]. 2017. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://karger.com/esr/article-abstract/59/3-4/265/128672/Platelet-Rich-Plasma-in-Tissue-Engineering-Hype?redirectedFrom=fulltext>
44. Marx, R. E. Platelet-rich plasma: Evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg*, 72(4), 698-703. [Internet]. 2018. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24448117/>
45. Schemitsch, E. H., & Bhandari, M. *Platelet-rich plasma in orthopaedic trauma: A review*. *J Orthop Trauma*, 28(8), 451-457. [Internet]. 2014. [cited 2024 oct 14]. Available from: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4049647/>

46. Monteiro, M., O'Connor, J., & Martínez, M. La Citometría de Flujo en el Análisis de las Plaquetas: (I) Aspectos Estructurales y Funcionales de las Plaquetas. *Rev Diagn Biol*, 50(3), 111-136. [Internet]. 2001. [cited 2024 oct 10]. Available from: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-79732001000300002
47. Blair, P., & Flaumenhaft, R. *Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates*. *Blood Rev*, 23(4), 177-189. [Internet]. 2009. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16504849/>
48. Flaumenhaft, R. *Platelet secretion*. *Blood Rev*, 21(1), 51-62. [Internet]. 2007. [cited 2024 oct 10]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16504850/>
49. Martínez, M. C., Pérez, A. M., Sierra, M. P., & Ramírez, M. A. (2012). Plaquetas y su papel en los procesos fisiológicos y patológicos. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 28(3), 295-312. [Internet]. 2017. [cited 2024 oct 16]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892012000300002
50. Jackson SP. *The growing complexity of platelet aggregation*. *Blood* [Internet]. 2007 [citado 2025 Feb 3];109(12):5087-95. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17311994/>
51. Ghoshal K, Bhattacharyya M. *Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis*. *ScientificWorldJournal* [Internet]. 2014 [citado 2025 Feb]; 2014:781857. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24523882/>
52. Blair P, Flaumenhaft R. *Platelet α -granules: basic biology and clinical correlates*. *Blood Rev* [Internet]. 2009 Mar [citado 2025 Feb 3];23(4):177-89. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16504849/>

53. Rivera J, Lozano ML, Navarro-Núñez L, Vicente V. *Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation*. Haematologica [Internet]. 2009 [citado 2025 Feb 3]; 94 (5):700 -11. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19336751/>
54. Versteeg HH, Heemskerk JW, Levi M, Reitsma PH. *New fundamentals in hemostasis*. Physiol Rev [Internet]. 2013 Jan [citado 2025 Feb 3];93(1):327-58. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23303911/>
55. Moreno R, Carreño MG, Torres JJ, Herreros JA, Villimar A, Sánchez PL. *Técnicas de obtención del plasma rico en plaquetas y su empleo en terapéutica osteoinductora*. Farmacia Hospitalaria [Internet]. 2015; 39:130–6. Available from: <https://scielo.isciii.es/pdf/fh/v39n3/02articuloespecial01.pdf>
56. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): *What is PRP and what is not PRP?* *Implant Dent*. [Internet]. 2001;10(4):225-228. Available from: https://journals.lww.com/implantdent/Abstract/2001/10040/Platelet_Rich_Plasma_What_Is_PRP_and_What_Is_Not.2.aspx
57. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. *Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF)*. Trends Biotechnol. [Internet]. 2009;27(3):158-167. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616112000850>
58. Burnouf T, Goubran HA, Chen TM, et al. *Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine*. Blood Rev. 2013;27(2):77-89. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616112000850>
59. Amable PR, Carias RBV, Teixeira MV, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. Stem Cell Res Ther. [Internet]. 2013;4(3):67.

Available from:
<https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/scri218>

60. Mazzocca AD, McCarthy MB, Chowanec DM, et al. *Platelet-rich plasma differs according to preparation method and human variability*. J Bone Joint Surg Am. [Internet]. 2012;94(4):308-316. Available from: https://journals.lww.com/jbjsjournal/Abstract/2012/04000/Platelet_Rich_Plasma_Differs_According_to.9.aspx

61. Amable PR, Carias RBV, Teixeira MV, et al. *Platelet-rich plasma preparation: variation in the devices and centrifugation parameters leads to change in platelet and leukocyte profiles*. Stem Cell Res Ther. [Internet]. 2013;4(3):67. Available from: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/scri218>

62. Anitua E, Sánchez M, Orive G. *Platelet-rich therapies in regenerative medicine*. Elsevier; [Internet]. 2013. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1751616112000850>

63. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. *Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF)*. Trends Biotechnol. [Internet]. 2009;27(3):158-167. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0167779908002226>

64. Marx RE. Platelet-rich plasma: what is PRP and what is not PRP? Implant Dent. [Internet]. 2001;10(4):225-228. Available from: https://journals.lww.com/implantdent/Abstract/2001/10040/Platelet_Rich_Plasma__What_Is_PRP_and_What_Is_Not.2.aspx

65. Carmona JU, Rios DL, López C. *Platelet-rich plasma in orthopedic therapies in dogs*. Vet Comp Orthop Traumatol. [Internet]. 2018;31(4):271-276. Available from: <https://www.thieme-connect.de/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0038-1660863>

66. Arora NS, Ramanayake T, Ren YF, Romanos GE. *Platelet-rich plasma: a literature review*. Implant Dent. [Internet]. 2019;18(4):303-310. Available from:
https://journals.lww.com/implantdent/fulltext/2019/04000/Platelet_Rich_Plasma_A_Literature_Review.10.aspx.
67. Silva RF, Carmona JU, Rivera DS. *Use of platelet-rich plasma in chronic wounds in dogs*. Vet Dermatol. [Internet]. 2020;31(6):495-502. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vde.12881>.
68. Ribeiro CC, Amorim I, Alves JC. Application of platelet concentrates in oral and maxillofacial surgery in dogs. J Vet Dent. [Internet]. 2021;38(1):24-30. Available from:
<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/08987564211019036>
69. Martínez F, Ramírez P, González MJ. *PRP and skin regeneration in veterinary medicine*. J Vet Sci Technol. [Internet]. 2022;13(2):85-92. Available from: <https://www.longdom.org/veterinary-science-and-technology.html>
70. Plumb DC. Plumb's Veterinary Drug Handbook. 9th ed. PharmaVet Inc.; [citado 2025 Feb 3]. Disponible en:
https://dl.ojocv.gov.et/admin_/book/Veternary%20Drug%20Handbook.pdf
71. Cochran, W.g. (1977) Sampling Techniques. 3rd Edition, John Wiley & Sons, New York. [Internet]. 1977 [citado 2025 Feb 3]. Available from:
<https://www.scirp.org/reference/ReferencesPapers?ReferenceID=1390266>
72. The principles of humane experimental technique. Norecopa.no. [Internet] [citado 2025 Feb 3]. Available from: <https://norecopa.no/textbase/the-principles-of-humane-experimental-technique>

73. Lana JF, Weglein A, Sampson SE, et al. Randomized controlled trial comparing one versus two centrifugation steps in PRP preparation. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. [Internet]. 2014;24(8):1385–1391. [citado 2025 Feb 3]. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00590-013-1340-8>
74. Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system: analysis of platelet concentrations and growth factors. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2002;17(5):586–592.
75. Andia I, Maffulli N. Platelet-rich plasma for managing pain and inflammation in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. [Internet]2013 [citado 2025 Feb 3]. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2013.141>
76. Franklin SP, Garner BC, Cook JL. Characteristics of canine platelet-rich plasma prepared with five commercially available systems. *Am J Vet Res*. [Internet] 2015 [citado 2025 Feb 3]. Available from: 76(9):822–827. <https://doi.org/10.2460/ajvr.76.9.822>
77. Castillo JL, Pérez D, Moreno G, et al. Evaluación de diferentes métodos de centrifugación para la obtención de PRP en perros. *Rev Colomb Cienc Pecu*. [Internet] 2021;34(1):45-52. [citado 2025 Feb 3]. Available from: <https://doi.org/10.17533/udea.rccp.v34n1a05>
78. Torres D, Mayorga R, Inga R, et al. Evaluación del PRP autólogo en procesos de cicatrización de heridas crónicas en caninos. *Rev Vet Perú*. [Internet] 2020;31(2):134-142. Available from: <https://doi.org/10.15381/rivep.v31i2.17234>
79. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. [Internet] 1998 Jun;85(6):638-46. [citado 2025 may 3]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9638695/>

80. Bausset O, Giraudo L, Veran J, Magalon J, Coudreuse JM, Magalon G, et al. Formulation and storage of platelet-rich plasma. *Platelets*. [Internet] 2012;23(6):459-66. [citado 2025 may 3]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22648500/>
81. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. [Internet] 2009 Mar;27(3):158-67. [citado 2025 may 3]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19572882/>

Anexos

Anexo 1. Prueba de Normalidad para las diferencias entre los enfoques utilizados para la separación y concentración de (*Canis lupus familiaris*).

<i>Shapiro-Wilk</i>		
Estadístico	gl	Sig.
0,908	10	0,268

Anexo 2. Análisis de los parámetros estadísticos descriptivos para determinar la variabilidad entre el método de centrifugación único y método de centrifugación doble para la obtención de PRP en caninos (*Canis lupus familiaris*).

<i>Tipo de Método</i>	<i>Media</i>	<i>N</i>	<i>Desviación estándar</i>	<i>Media de error estándar</i>
Método de centrifugación único	255700,00	10	112741,642	35652,037
Método de centrifugación doble	552900,00	10	136165,300	43059,249

Anexo 3. Evaluación de la significancia estadística de la diferencia entre el método de centrifugación único y método de centrifugación doble para la obtención de PRP en caninos (*Canis lupus familiaris*).

	Diferencias emparejadas					t	gl	Sig. (bilateral)
	Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia				
				Inferior	Superior			
Métodos de centrifugación único/doble	297200	151870,41	48025,64	188558,45	405841,54	6,188	9	0,001*
(*) El valor de p es menor a 0.05 (Sí existe diferencia en las medias de ambos métodos)								

Anexo 4. Evaluación descriptiva de la variabilidad y distribución entre el método de centrifugación único y método de centrifugación doble para la obtención de PRP en caninos (*Canis lupus familiaris*).

	N	Mínimo	Máximo	Media	Error estándar	Desviación estándar
Método de centrifugación único	10	147000	488000	255700,00	35652,03	112741,642
Método de centrifugación doble	10	436000	775000	552900,00	43059,24	136165,300

Anexo 5. Fotografías

A. Preparación para extracción de sangre a canino mediante punción en vena cefálica, con el animal debidamente contenido. 	B. Muestras obtenidas para proceso de centrifugación. 
C. Proceso de Centrifugación de muestras sanguíneas. 	D. Extracción de PRP con ayuda de una jeringa tuberculina y aguja hipodérmica 25 G x 5/8. 
E. Muestra plasmática obtenida y contenida en vial para lectura. 	F. Máquina de lectura para concentración plaquetaria 5diff. 

APÉNDICE

Apéndice 1: Principales factores de crecimiento plaquetarios y su actividad biológica.

Molécula bioactiva	Funciones biológicas principales
Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF)	- Promueve la división celular de fibroblastos, células musculares lisas, cartilaginosas, epiteliales y endoteliales. - Actúa como una señal de atracción para células hematopoyéticas, del tejido conectivo, musculares y fibroblastos. - Favorece la migración y activación de macrófagos. - Induce la actividad del TGF-β, estimulando la respuesta de macrófagos y neutrófilos. - Estimula la producción de colágeno tipo I. - Contribuye al desarrollo vascular de manera indirecta.
Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEGF)	- Incentiva la multiplicación de células del endotelio vascular. - Tiene un papel esencial en la creación de nuevos vasos sanguíneos. - Estimula enzimas que degradan el colágeno, facilitando la remodelación tisular.
Factor de Crecimiento Transformante Beta (TGF- β)	- Aumenta la migración y proliferación de fibroblastos y su producción de colágeno. - Reduce la actividad osteoclástica y protege el hueso de la reabsorción. - Disminuye la formación de cicatrices dérmicas.

	- Inhibe el desarrollo celular de múltiples tipos celulares, incluyendo epiteliales y neuronales. - Contrarresta los efectos de otros factores como el EGF, PDGF y FGF. - También potencia la formación de vasos sanguíneos.
Factores de Crecimiento tipo Insulina I y II (IGF-I y IGF-II)	- Fomentan el crecimiento de fibroblastos. - Participan en la división y diferenciación de células de la mesénquima y del epitelio. - Estimulan la producción de colágeno y prostaglandina E2. - Regulan la actividad metabólica del cartílago articular, promoviendo la producción de matriz ósea.
Factores de Crecimiento Fibroblástico Ácido y Básico (aFGF y bFGF)	aFGF: - Estimula la proliferación de osteoblastos y restringe la actividad osteoclástica. - Favorece la formación de vasos y el movimiento celular. - Estimula el crecimiento de queratinocitos, fibroblastos y células vasculares. bFGF: - Promueve el desarrollo de células musculares, óseas, neuronales, vasculares y dérmicas. - Aumenta la generación de fibronectina. - Participa activamente en la formación de nuevos vasos,

	crecimiento celular y producción de colágeno. - Contribuye a la cicatrización, producción de factores de crecimiento en la piel y cierre de heridas.
Factor de Crecimiento Epidérmico (EGF)	- Estimula la multiplicación de células de la piel, epitelios, fibroblastos, embrionarias, de la mucosa nasal y gliales. - Facilita la migración de fibroblastos y células epiteliales. - Interviene en la regeneración del epitelio. - Mejora la formación de vasos nuevos. - Participa en la síntesis y restauración de la matriz extracelular. - Puede inducir procesos de muerte celular programada.

Apéndice 2: Resultados de los análisis hematológicos de los caninos muestrales

<i>Canino</i>	<i>Rufo</i>	<i>Kalessy</i>	<i>Feridé</i>	<i>Polar</i>	<i>Max</i>	<i>Chamaco</i>	<i>Princesa</i>	<i>Estrella</i>	<i>Kith</i>	<i>Rolo</i>
<i>Hematocrito</i> <i>(%)</i>	45	43	46	44	47	42	45	48	46	44
<i>Hemoglobina</i> <i>(g/dL)</i>	15.2	14.8	15.6	14.9	15.9	14.4	15.1	16	15.7	14.8
<i>Eritrocitos</i> <i>(x10⁶/μL)</i>	6.8	6.5	7	6.7	7.2	6.4	6.8	7.3	7.1	6.6
<i>Leucocitos</i> <i>(x10³/μL)</i>	9.5	8.7	10.2	9.1	9.8	8.9	9.6	10	9.2	9.4
<i>Plaquetas</i> <i>(x10³/μL)</i>	300	290	320	310	280	270	295	310	305	290

Apéndice 3. Fotografías y descripción del equipo de Análisis Hematológico *Beckman Coulter AC.T 5*.



Vista frontal



Vista lateral derecha



Vista lateral Izquierda



Vista de especificaciones

El equipo fabricado por *Beckman Coulter*, con número de serie AV45132, cuenta con certificación CE y corresponde al modelo *AC. T 5 diff*. Su funcionamiento se adapta a un rango de voltaje de 100 a 240 volts y una frecuencia de 50/60 hertz, operando en una fase. En cuanto a sus dimensiones físicas, mide 500 x 600 x 700 mm y tiene un peso aproximado de 35 kilogramos, equivalentes a 19.69 x 23.62 x 27.56 pulgadas y 77.16 libras, respectivamente.

Apéndice 4. Modelo de hoja de laboratorio

Muestra	Método de obtención	Concentración plaquetaria por uL
Canino 1	ÚNICA	
Canino 2	ÚNICA	
Canino 3	ÚNICA	
Canino 4	ÚNICA	
Canino 5	ÚNICA	
Canino 6	ÚNICA	
Canino 7	ÚNICA	
Canino 8	ÚNICA	
Canino 9	ÚNICA	
Canino 10	ÚNICA	
Canino 1	DOBLE	
Canino 2	DOBLE	
Canino 3	DOBLE	
Canino 4	DOBLE	
Canino 5	DOBLE	
Canino 6	DOBLE	
Canino 7	DOBLE	
Canino 8	DOBLE	
Canino 9	DOBLE	
Canino 10	DOBLE	

Apéndice 5. Formato de Consentimiento para los Propietarios

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Investigación en animales Menores

Título de la investigación:

Evaluación de dos métodos de centrifugación para la obtención de Plasma Rico en Plaquetas (PRP) en caninos (*Canis lupus familiaris*).

Investigador responsable:

Carlomagno Zamora Escalante

Procedimiento

Su mascota será sometida a una extracción de sangre periférica (de hasta 10 ml), la cual será procesada en laboratorio mediante centrifugación. No se aplicará ningún tratamiento invasivo adicional. Todo el procedimiento será realizado bajo supervisión profesional y cumpliendo normas bioéticas.

Riesgos y molestias

El único riesgo potencial está asociado a la extracción de sangre, que puede generar una leve molestia o pequeño hematoma en la zona de punción. No se prevén efectos adversos graves.

Beneficios

Aunque este estudio no representa un beneficio directo para su mascota, contribuirá al avance del conocimiento en medicina veterinaria y el desarrollo de técnicas más eficaces en terapias regenerativas.

Confidencialidad

Toda la información obtenida será tratada con estricta confidencialidad. Los datos personales y clínicos de su mascota serán utilizados exclusivamente con fines de investigación, sin revelar identidad alguna en publicaciones o presentaciones.

Participación voluntaria

La participación es completamente voluntaria. Usted puede decidir no participar o retirar su consentimiento en cualquier momento, sin que esto afecte la atención médica o relación con la institución.

DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO

Yo, _____

(DNI: _____), propietario(a) del canino identificado como:

Nombre del animal: _____

Raza: _____ Edad: _____ Sexo: _____

Declaro haber leído y comprendido la información contenida en este documento, y doy mi consentimiento libre y voluntario para que mi mascota participe en la presente investigación. También declaro que se me ha brindado la oportunidad de realizar preguntas y que estas fueron respondidas satisfactoriamente.

Firma del propietario: _____

Fecha: ____ / ____ / 2025

Firma del investigador responsable: _____

Fecha: ____ / ____ / 2025