

Factores de crecimiento en fracturas de tobillo

Fecha de Recepción: 17/11/2008
Fecha de aprobación: 09/12/2008

Pascual, Magdalena Sofía
Ibañez, Ignacio
Lescano, Matías
Morales, Fernando Gabriel
Taboadela, Claudio

Centros Médicos Asociart Servicios
Buenos Aires, Córdoba, Rosario y Mendoza – Rep. Argentina

Resumen

Los factores de crecimiento son proteínas que actúan como agentes de señalización de las células. Los resultados de estudios experimentales han determinado que los factores de crecimiento desempeñan un importante papel en la formación de hueso y cartilago, la consolidación de las fracturas y la regeneración de otros tejidos del sistema músculo-esquelético.

El objetivo de este trabajo es demostrar que la utilización de los factores de crecimiento plaquetarios autólogos acelera el tiempo de curación y disminuye la incapacidad definitiva de los pacientes que presentan fractura de tobillo y sus complicaciones.

Material y Método: Se realizó un estudio prospectivo y multicéntrico entre el 1° de mayo de 2005 y el 30 de abril de 2007. Muestra estudio: 26 pacientes con fractura de tobillo (22 masc y 4 fem). Muestra control: 28 pacientes con fractura de tobillo (25 masc y 3 fem).

Método: se extraía sangre del paciente en quirófano (prequirúrgica), se centrifugaba y se obtenían dos capas, de la capa superior que se dividía en tres capas se tomaban la PRP y PRF, las cuales se activaban con cloruro de calcio. El gel se utilizaba sólo o en combinación con injertos óseos y la malla de fibrina a modo de apósito sobre las partes blandas expuestas por la herida quirúrgica. Se evaluó el tiempo de tratamiento y el porcentaje de incapacidad según la Ley de Riesgos de Trabajo de la República Argentina, al finalizar el mismo.

Los resultados obtenidos fueron en promedio 146 días sin factores y 125 con factores; 8,77% de incapacidad sin factores y 8,80% con factores.

Conclusión: Los resultados obtenidos en el porcentaje de incapacidad son similares en ambos grupos, por lo que concluimos que la aplicación de factores plaquetarios autólogos de crecimiento no disminuyó el porcentaje de incapacidad definitiva. La diferencia estuvo en los días de tratamiento, ya que sin factores se obtuvo un incremento del 16,8% de los días, por lo que concluimos que la aplicación de factores plaquetarios autólogos de crecimiento acelera el tiempo de consolidación de la fractura.

Abstract

Growth factors are proteins that act as signal agents of the cells. The results of experimental studies have determined that they play an important role in the bone and cartilage formation, the fractures consolidation, and the regeneration of other tissues of musculo-skeletal system.

The objective of this study is demonstrate that the use of autologous platelet concentrate accelerates the healing time and diminishes the sick-leave in the patients with ankle fractures.

Material and Method: A prospective and multicentre study was realized between 5/01/2005 and 4/30/2007.

Sample study: 26 patients with ankle fracture (22 masc and 4 em). Sample control: 28 patients with ankle fracture (25 masc and 3 fem).

Method: Blood extraction from the patient presurgical,

PALABRAS CLAVE KEY WORD

Fractura Maleolar. PRP. Consolidación acelerada. Incapacidad.
Fratura maleolar. PRP. Consolidação acelerada. Incapacidade.
Maleolar fracture. PRP. Accelerated consolidation. Inability

centrifuge and obtaining of two layers; from the superior layer PRP and PRF were taken. This ones are activated with calcium chloride and gel and fibrin mesh are obtained. The gel is used lonely or in combination with bone grafts and the fibrin mesh as biological poultice on the soft tissues exhibited by the surgical wound. It was evaluated the treatment duration and the sick-leave percentage.

The results obtained were in average 146 days without PRP and 125 with PRP; 8.77% sick-leave without PRP and 8.8% with PRP.

Conclusion: The results obtained in the percentage of sick-leave were similar in both groups, we realized that the application of autologous platelet growth factors did not diminishes the percentage of sick-leave. The difference was in the duration of the treatment: without factors an increase of 16.8% of the days was obtained.

We realized that the application of autologous platelet growth factors accelerates the time of ankle fractures consolidation.

Resumo

Os fatores de crescimento são proteínas que atuam como agentes de sinalização das células. Os resultados de exames experimentais determinaram que os fatores de crescimento desempenham um importante papel na formação de osso e cartilagem, na consolidação das fraturas e na regeneração de outros tecidos do sistema músculo-esquelético.

O objetivo deste trabalho é demonstrar que a utilização dos fatores de crescimento plaquetários autólogos acelera o tempo de cura e diminui a incapacidade definitiva dos pacientes que apresentam fratura de tornozelo e suas complicações.

Material e Método: Foi realizado um exame prospectivo e multicêntrico entre 1° de maio de 2005 e 30 de abril de 2007. Mostra exame: 26 pacientes com fratura de tornozelo (22 masc. e 4 fem.). Mostra controle 28 pacientes com fratura de tornozelo (25 masc. e 3 fem.).

Método: foi extraído sangue do paciente no quirófano (pré-cirúrgica), este foi centrifugado e foram obtidas duas camadas. Da camada superior que se dividia em três camadas eram tomadas a PRP e PRF, as quais se ativavam com cloruro de cálcio. O gel era utilizado somente ou combinado com enxertos ósseos e a malha de fibrina como gaze sobre as partes moles expostas pela ferida cirúrgica. Foi avaliado o tempo de tratamento e a porcentagem de incapacidade segundo a Lei de Riscos de Trabalho da República Argentina, quando este foi finalizado.

Os resultados obtidos foram em média 146 dias sem fatores e 125 com fatores; 8,77% de incapacidade sem fatores e 8,80% com fatores.

Conclusão: Os resultados obtidos na porcentagem de incapacidade são similares em ambos os grupos, o que concluímos que a aplicação de fatores plaquetários autólogos de crescimento não diminuiu a porcentagem de incapacidade definitiva.

A diferença esteve nos dias de tratamento, já que sem fato-

res, foi obtido um incremento de 16,8% dos dias, e concluímos que a aplicação de fatores plaquetários autólogos de crescimento acelera o tempo de consolidação da fratura.

Introducción

La producción y liberación de factores de crecimiento desde las plaquetas y las células de la serie blanca constituye la orden inicial que desencadena la reparación tisular. El potencial de estos factores como estimuladores de la curación de lesiones y heridas ha generado expectativas respecto a su utilización en el campo de la ortopedia y traumatología, desde que Knighton y cols.⁽¹⁾ publicaran su descubrimiento en 1982. De hecho, y en forma creciente, en la literatura internacional han ido apareciendo publicaciones sobre la aplicación de estos conceptos biológicos con fines terapéuticos en aquellos procesos en que se requiere una curación rápida o una regeneración tisular acelerada: algunos evidencian éxitos notables^(2,3,4,5), otros ponen en tela de juicio la bondad del procedimiento^(6,7).

Las fracturas maleolares del tobillo son las más frecuentes del miembro inferior; son lesiones habitualmente tratadas tanto por el cirujano ortopédico generalista como por el especialista en patología de pierna, tobillo y pie. La atención en detalle de toda su evolución es crítica si el médico tratante desea evitar complicaciones y obtener un resultado final satisfactorio.

El objetivo de este trabajo es demostrar que la utilización de factores de crecimiento plaquetarios autólogos contenidos en plasma rico en plaquetas (PRP) acelera el tiempo de curación y tratamiento, y disminuye la incapacidad definitiva de los pacientes que presentan fracturas maleolares del tobillo.

Material y método

Se realizó un estudio prospectivo y multicéntrico (4 centros médicos de igual complejidad) entre el 1° de mayo de 2005 y el 30 de abril de 2007, en un grupo de 97 pacientes de un sistema cerrado de atención, los cuales presentaron diagnóstico de fractura maleolar de tobillo.

Los criterios de inclusión fueron:

- Pacientes que presenten fractura maleolar de tobillo, como única lesión, la cual requiriera tratamiento quirúrgico.

Los criterios de exclusión fueron:

- Pacientes con enfermedades de la sangre (coagulopatías, anemias, mielopatías, mielodisplasias).
- Pacientes con inmunosupresión (HIV y otras).
- Pacientes con Hepatitis A, B y No A No B.
- Pacientes con fracturas expuestas.
- Pacientes con infecciones activas.
- Pacientes con otras patologías traumáticas o postraumáticas simultáneas.

Siguiendo estos criterios, y en forma randomizada las muestras quedaron conformadas de la siguiente manera:

1. Muestra de casos en estudio: 26 pacientes (22 masculinos y 4 femeninos), con un promedio de edad de 35 años (rango: 19-54).
 2. Muestra de casos control: 28 pacientes (25 masculinos y 3 femeninos), con un promedio de edad de 39 años (rango: 22-64).
 El tratamiento quirúrgico utilizado para ambos grupos fue reducción y osteosíntesis con placa tercio de tubo y tornillos, utilizando la clasificación AO para identificar las fracturas⁽⁶⁾. De tal forma en la muestra estudio se contabilizaron 16 fracturas tipo B inestables y 10 fracturas tipo C. La muestra control incluyó 20 fracturas tipo B inestables y 8 fracturas tipo C. Para los casos en estudio, se contó con la colaboración de técnicos hematólogos y de laboratorio entrenados específicamente para la obtención y preparación de plasma rico en plaquetas (PRP) y en fibrina (PRF), con las normativas propias de su especialidad y las normativas de trabajo propias del ámbito quirúrgico en condiciones de esterilidad. En todos los casos, la obtención de PRP y PRF se realizó de la siguiente manera:

- 1) Se extrajo sangre al paciente en quirófano. La cantidad dependió de la superficie fracturaria a cubrir (entre 25 y 100 ml).
- 2) La sangre se colocó en tubos de coagulación con 5 ml de citrato de sodio (entre 5 y 12 tubos).
- 3) Los tubos se colocaron en una centrifuga de manera simétrica a 1.800 RPM durante 8 minutos.
- 4) Una vez retirado el tubo de la centrifuga, se observaban 2 tipos de sedimentos: en el fondo, un sedimento rojo que correspondía a las células de la serie roja (el cual era desechado); por encima del sedimento rojo, se apreciaba un sedimento transparente, en el cual se apreciaban tres capas: superior (plasma a desechar), media (PRF), e inferior (PRP).
- 5) Con pipeta, se separaban las fracciones del plasma útil, las cuales se colocaban en tubos de vidrio a temperatura ambiente.
- 6) Diez minutos antes de su implantación, se activó la fracción de PRP y de PRF con cloruro de calcio a una proporción de 50 microlitros por ml de plaquetas en el mismo tubo, y se colocaron a 37°C en placas de Petri de vidrio, por separado.
- 7) A partir de ese momento, se producía un gel rico en plaquetas y una malla de fibrina en un plazo de 8 a 15 minutos.
- 8) El gel puede utilizarse solo o en combinación con injertos óseos, y la malla de fibrina a modo de apósito hemostático sobre las partes blandas expuestas por la herida quirúrgica. En esta serie, se aplicó el gel sólo, en forma directa sobre el foco fracturario, y sin injertos, por tratarse de fracturas frescas sin defectos óseos. **(Imágenes 1, 2 y 3)**

En cuanto a los reparos bioéticos, el programa de estudio fue autorizado por un Comité de Investigaciones y Desarrollo, y se contó con el consentimiento informado escrito de los pacientes implicados (la totalidad de ambas muestras).

Luego de efectuado el tratamiento quirúrgico, los pacientes de ambas muestras fueron seguidos prospectivamente, de acuerdo a un protocolo de atención médico y de rehabilitación. La consolidación fue definida radiológicamente por la presencia de callo en puente. El diagnóstico clínico de consolidación se determinó por la ausencia de dolor y de movilidad en el foco fracturario tras realizar maniobras de movilidad forzada en los

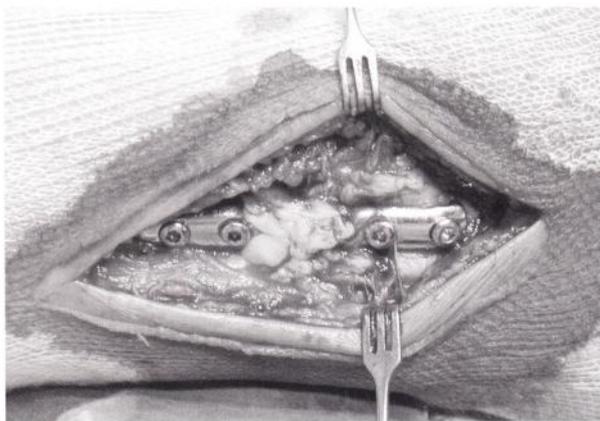


Imagen 1 | Gel plaquetario aplicado en foco de fractura de maléolo peróneo.

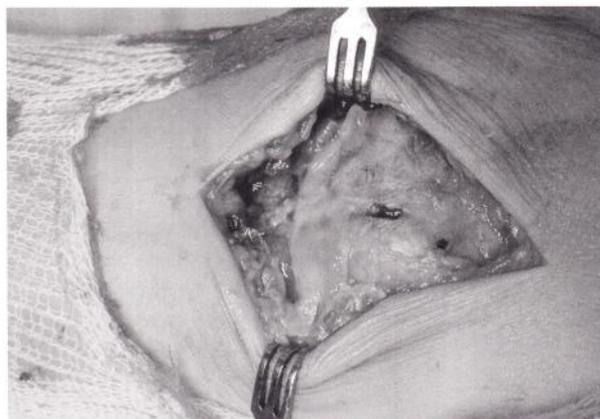


Imagen 2 | Gel plaquetario aplicado en foco de fractura de maléolo tibial.



Imagen 3 | Rx. A-P del mismo caso.

planos coronal y sagital, y por la recuperación funcional del rango de movilidad y carga en el tobillo comprometido.

En todos los pacientes estudiados (ambas muestras) se procedieron a evaluar 2 variables: días totales de tratamiento y porcentaje de incapacidad, registrándose, además, las complicaciones observadas.

Los días de tratamiento se contabilizaron desde la fecha de producción de la lesión hasta el día de alta médica. Para la evaluación de las incapacidades, se utilizó la Tabla de Evaluación de Incapacidades del Decreto 659/96 de la República Argentina.

Resultados

Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

El tiempo promedio de seguimiento para todos los pacientes fue de 26 meses (rango: 18-35 meses).

No fueron observadas complicaciones mayores tales como pseudoartrosis, retardo de consolidación, osteomielitis, infección profunda, lesiones neurovasculares o tromboembolismo. Tampoco hubo casos de aflojamiento o ruptura de los materiales de osteosíntesis hasta el momento de finalizar la revisión de todos los casos; sin embargo, en 6 casos de la muestra estudio y en 8 de la muestra control, se presentaron síntomas de intolerancia a la presencia de los implantes (relatados como dolor o molestias locales), que se resolvieron con la extracción de los mismos, nunca antes de los 12 meses de realizada la intervención quirúrgica. En 2 casos de la muestra estudio y en 3 de la muestra control se presentaron infecciones superficiales, que se resolvieron en su totalidad mediante curaciones locales repetidas y tratamiento antibiótico oral.

Evaluación de Resultados		
Muestra	Días de tratamiento	% de Incapacidad
Casos en Estudio (con factores)	Promedio: 125 Mínimo: 58 Máximo: 227	Promedio: 8.8 Mínimo: 3.65 Máximo: 18.85
Casos Control (sin factores)	Promedio: 146 Mínimo: 65 Máximo: 225	Promedio: 8.77 Mínimo: 3.5 Máximo: 14.10

Análisis Estadístico

El análisis estadístico mediante la prueba de Student con un intervalo de confianza del 95%, permite concluir que al aplicar el PRP hay una disminución de los días de tratamiento estadísticamente significativa ($p < 0,05$), pero en cuanto a la incapacidad, no se observan variaciones significativas ($p > 0,05$).

Análisis Estadísticos

	ILT	Incapacidad
Dif. de medias	20.89	0.03
Variación (dif. de medias)/n	13.0913	0.7390
A	13.0913	0.7390
A sigue una distribución de student		
Grados de libertad	52	52
Nivel de significancia	5%	5%
p-value	12%	97%
Resultado del test	Diferencia	Igualdad

$$A = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{(n-1) S_x^2 + (m-1) S_y^2}{n+m-2}} \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{m}}}$$

Discusión

Clásicamente, los trastornos asociados con la consolidación ósea se han tratado mediante intervenciones quirúrgicas que incluyen la colocación de injertos óseos autólogos. Sin embargo, los procedimientos de obtención de injertos óseos se asocian a una tasa de morbilidad en el sitio dador que oscila entre el 10 y 30%, y sólo están disponibles cantidades limitadas de hueso autólogo^(8, 10 y 11). Por lo tanto, se requieren estrategias alternativas diseñadas para potenciar la consolidación de fracturas agudas y para mejorar el tratamiento de las pseudoartrosis y retardos de consolidación.

Dentro de las terapias con fundamento biológico que podrían aplicarse, la utilización de factores de crecimiento derivados de las plaquetas ha sido invocada en los últimos años para la obtención de una regeneración ósea más rápida y efectiva⁽¹²⁾.

Los concentrados autólogos de plaquetas contiene múltiples factores de crecimiento tales como PGDF, TGF y factor de crecimiento semejante a la insulina. La teoría postuló que la adición de PRP (plasma rico en plaquetas), sin o con auto o aloinjerto, podía ser una forma económicamente accesible de potenciar el proceso de curación ósea⁽¹³⁾. Este interés podría verse extendido ante la posibilidad que el uso de factores de crecimiento asegure la curación y cierre de heridas (quirúrgicas o traumáticas) e influya positivamente en la disminución de las infecciones, el dolor y la pérdida de sangre postoperatoria⁽¹⁴⁾.

Cid Casteulani⁽¹⁵⁾ publicó la primera serie de pacientes en Argentina con cuadros de pseudoartrosis o retardos de consolidación tratados con decorticación, reducción abierta, fijación interna e injerto óseo autólogo, y adición de concentrado de plaquetas obtenido

con un sistema no automatizado, semejante al del presente trabajo. Sin embargo, el estudio adolece de errores metodológicos: se trata de una muestra heterogénea de 29 pacientes con distintas patologías, sin contar con muestra control. Informa que se logró la consolidación clínica y radiológica al término de un plazo de 2 a 6 meses, concluyendo que "el injerto autólogo enriquecido con plasma rico en factores de crecimiento pudo haber contribuido de manera favorable a la consolidación de estos casos complejos, con gran ausencia biológica, en los que habían fracasado otros métodos".

Son escasos los estudios clínicos de aplicación de PRP en cirugía de patología del tobillo y del pie. Uno de los primeros informes sobre el uso de PRP en lesiones de tobillo y pie fue producido por Gandhi y cols⁽¹⁶⁾. Su estudio se centró en el uso de PRP en 9 pacientes con pseudoartrosis en dichas regiones. Mediante mediciones comparativas, establecieron que los niveles de factores plaquetarios eran sensiblemente menores en los focos pseudoartrosicos que en hematomas fracturarios.

Bibbo y cols⁽¹⁷⁾ examinaron los resultados y complicaciones del uso de PRP como adyuvante en pacientes con alto riesgo de pseudoartrosis en cirugías electivas de tobillo y pie. La investigación comprendió 62 pacientes en los cuales se realizaron 123 procedimientos quirúrgicos, la mayoría artrodesis. Los criterios de inclusión comprendían a pacientes con factores de riesgo para la consolidación ósea, tales como diabetes mellitus y tabaquismo. Más del 69% de los pacientes tenían múltiples factores de riesgo. Los autores concluyeron que el uso de PRP como adyuvante es una herramienta importante en cirugías electivas del tobillo y del pie en pacientes de alto riesgo de fracaso de consolidación.

En 2005, se publicaron, además dos estudios focalizados en la fusión de la sindesmosis tibioperonea inferior y en el uso de PRP. Barrow y Pomeroy⁽¹⁸⁾, en un estudio de nivel IV, analizaron el rol del PRP en la fusión primaria de la sindesmosis tibioperonea inferior que se realiza en las artroplastías totales de tobillo, utilizándolo en 20 procedimientos consecutivos, obteniendo consolidación en el 100% de casos. En forma similar, en un estudio de nivel III realizado por Coetzee y cols⁽¹⁹⁾, se examinó la aplicación de PRP en artroplastías totales de tobillo con prótesis Agility; los autores compararon las tasas de fusión sindesmal obtenidas mediante el uso de injerto óseo con PRP (97%) y sin PRP (84%), en una serie de 66 pacientes, a los 6 meses de realizada la cirugía; la diferencia más notable entre las tasas de fusión se obtenía entre la 8ª y 12ª semanas: 94% con PRP y 73% sin PRP.

Grant y cols⁽²⁰⁾ obtuvieron mejores tasas de consolidación aplicando PRP en 50 pacientes diabéticos con fracturas agudas de tobillo y pie, basándose en el hecho que, en estos pacientes, hay una disminución de PDGF (platelet derived growth factor) y TGF (factor de transformación del crecimiento) en el hematoma fracturario. El mismo principio es referido por Koerner y cols⁽²¹⁾ para justificar la aplicación de PRP en procedimientos de artrodesis en artropatías de Charcot, en una pequeña serie de 12 pacientes.

A criterio de los autores, el presente estudio representa una de las primeras aproximaciones a la aplicación sistemática de PRP en fracturas agudas, comparadas con grupos control de iguales características; de hecho, no se han encontrado estudios similares en la bibliografía nacional e internacional de la comunidad ortopédica. En este estudio, la utilización de factores plaquetarios

autólogos de crecimiento no redujo el porcentaje de incapacidad, pero sí redujo el tiempo de tratamiento en 21 días promedio en el grupo de casos en estudio lo cual fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$) con la prueba de Student. Probablemente se requieran nuevos estudios con muestras de mayor tamaño; sin embargo, el hecho de haber comparado poblaciones de pacientes muy similares, minimiza la posibilidad de sesgo estadístico en el que se pudiera incurrir.

Otro de los aspectos a considerar es que la tabla que se utiliza para evaluar incapacidad de tobillo presenta valores fijos para cada tipo de fractura y rangos amplios para evaluar limitación funcional que impiden demostrar cambios sutiles en el porcentaje final de incapacidad.

No fue objetivo de este trabajo la evaluación del dolor postoperatorio; sin embargo, la opinión subjetiva del equipo médico interviniente fue coincidente en que los pacientes de la muestra estudio tuvieron menos quejas de dolor postquirúrgico que los pacientes de la muestra control. Estos criterios deberían ser evaluados en nuevos estudios clínicos al igual que la medición de movilidad articular postoperatoria mediata.

Con respecto al método empleado para la obtención de factores de crecimiento, su característica más destacable es la sencillez del procedimiento ya que, con insumos descartables y no descartables (disponibles en cualquier laboratorio de análisis clínicos) y una máquina centrífuga, se pueden obtener factores de crecimiento plaquetarios. La inmediatez de la obtención y los bajos costos económicos del método son sus principales ventajas; mientras que la desventaja radica en la meticulosidad del procedimiento de pipeteo y manipulación del plasma para garantizar la esterilidad del procedimiento. Se debe aclarar que existen otros métodos de obtención de plasma rico en plaquetas (AGF®, PCCS®, GPS®) que emplean dispositivos de circuito cerrado automatizado con filtros descartables, los cuales garantizan mejor control de la esterilidad del procedimiento y de la concentración plaquetaria obtenida; la mayor desventaja de estos sistemas, algunos de ellos disponibles en el mercado ortopédico argentino, es su elevado costo económico⁽²²⁾. En este trabajo, a pesar de tratarse de un método abierto, no tuvimos repercusión en la tasa de infección y de otras complicaciones (mayores o menores), en forma comparativa con los resultados informados en series de fracturas maleolares de tobillo tratadas quirúrgicamente sin adición de PRP.

Los datos actualmente existentes en la bibliografía sobre la aplicación de factores plaquetarios autólogos en fracturas, retardos de consolidación y pseudoartrosis son insuficientes para realizar predicciones acerca de la futura utilidad clínica de los mismos; podrían ser importante su combinación con otros sustitutos óseos, pero son necesarios nuevos estudios clínicos que determinen la concentración ideal de las diferentes fracciones y el análisis cuali-cuantitativo de cuáles de ellos logran mayor efecto sobre la consolidación ósea^(4,7,22).

Entre las distintas líneas de investigación sobre estrategias de base biológica para la estimulación de la consolidación ósea, las proteínas morfogenéticas (BMP) parecen ser las de mayor potencial osteoinductor, por encima del PRP, la terapia génica y el tratamiento con osteocitoblastos mesenquimatosos; aún así, los métodos mencionados en conjunto con PRP requieren de mayores ensayos clínicos cuidadosamente diseñados^(4,24).

Conclusiones

Los resultados obtenidos en el porcentaje de incapacidad son similares en ambos grupos, por lo que concluimos que la aplicación de factores plaquetarios de crecimiento no disminuyó el porcentaje de incapacidad definitiva en el grupo de casos en estudio. La diferencia se observó en los días de tratamiento, ya que el grupo que recibió factores de crecimiento tuvo 21 días promedio menos de tratamiento respecto del grupo de casos

control. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0.005$) y apoya la utilización de PRP como adyuvante del tratamiento quirúrgico de las fracturas maleolares del tobillo. De todas maneras, la aplicación sistemática de PRP en el tratamiento de fracturas agudas deberá ser refrendada por nuevos estudios clínicos.

Referencias Bibliográficas

1. Knighton DR, Hunt TK, Thakral KK, Goodson WH: Role of platelets and fibrin in the healing sequence: an in vivo study of angiogenesis and collagen synthesis. *Ann Surg* 1982; 196: 379-388.
2. Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE: Use of autologous growth factors in lumbar spine fusion. *Spine* 1999; 25 (2 Supl): 475-505
3. Siebrecht MA, De Rooij PP, Arm DM, Olsson ML, Aspenberg P: Platelet concentrate increases bone ingrowth into porous hydroxyapatite. *Orthopedics* 2002; 25: 169-172.
4. Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA: The role of growth factors in the repair of bone. *Biology and clinical applications*. *JBJS-Am* 2002; 84-A: 1032-1044.
5. Einhorn TA, Trippel SB: Growth factors treatment of fractures. *Instr Course Lect* 1997; 46: 483-486.
6. Jensen TB, Rahbek O, Overgaard S, Soballe K: No effect of platelet-rich plasma with frozen or processed bone allograft around noncemented implants. *Int Orthop* 2005; 29: 67-72.
7. De Long WG, Einhorn TA, Koval K, McKee M, Smith W, Sanders R, Watson T: Bone grafts and bone grafts substitutes in orthopaedic trauma surgery: a critical analysis. *JBJS-Am* 2007; 89-A(3): 649-658.
8. Rüedi TP, Murphy WM: Principios de la AO en el tratamiento de las fracturas. Editorial Masson, 2003.
9. Younger EM, Chapman MW: Morbidity at bone grafts donor sites. *J Orthop Trauma*, 1989; 3: 192-5.
10. Forriol, F.: Los sustitutos óseos y sus posibilidades actuales. *Rev Asoc Argent Ortop Traumatol* 2005, 1: 82-93.
11. Sen MK, Miclau T: Autologous iliac crest bone graft: Should it still be the gold standard for treating nonunions? *Injury*, 38, Suppl 1: 75-80, 2007.
12. Anitua, E: PLasma rich in growth factors: preliminary results in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999, 14: 529-535.
13. Obrebsky WT, Marotta JS, Yaszemski MJ, Churchill LR, Boden SD, Dirschl DR: The introduction of biologics in orthopaedics: Issues of cost, commercialism and ethics. *JBJS-Am*, 2007, 89 (7): 1641-1649.
14. Waters JH, Roberts KC: Database review of possible factors influencing point-of-care platelet gel manufacture. *J Extra Corpor Technol* 2004; 36: 250-254.
15. Cid Casteulani, A: Enriquecimiento de injerto autólogo con concentrado de factores de crecimiento. *Rev Asoc Argent Ortop Traumatol*, 72, 4: 373-381, 2007.
16. Ghandi A, Bibbo C, Pinzur M, Lin SS: The role of platelet-rich plasma in foot and ankle surgery. *Foot and Ankle Clin*, 2005 Dec; 10(4): 621-37,VIII.
17. Bibbo C, Bono CM, Lin SS: Union rates using autologous platelet concentrate alone and with bone graft in high-risk foot and ankle surgery patients. *J Surg Orthop Adv*, 14 (1): 17-22, 2005.
18. Barrow CR, Pomeroy GC: Enhancement of syndesmotic fusion rates in total ankle arthroplasty with the use of autologous platelet concentrate. *FAI* 26 (6): 458-461, 2005.
19. Coetzee JC, Pomeroy GC, Watts JD, Barrow CR: The use of autologous concentrated growth factors to promote syndesmosis fusion in the Agility total ankle replacement. A preliminary study. *FAI* 26 (10): 840-846, 2005.
20. Grant WP, Jerlin EA, Pietrzak WS, Tam HS: The utilization of autologous growth factors for the facilitation of fusion in complex neuropathic fractures in the diabetic population. *Clin Podiatr Med Surg*. 2005 Oct; 22(4): 561-84, VI.
21. Koerner J, Abdelmessieh P, Azad V, Szczepanowski K, Lin SS, Pinzur M: Platelet-Rich Plasma and Its Uses in Foot and Ankle Surgery. *Techniques in Foot and Ankle Surgery* 7(2): 72-78, 2008.
22. Watson, JT: Overview of biologics. *J Orthop Trauma* 2005, 19 (10), Suppl: S14-S16.
23. López-Oliva Muñoz F, Vicario Espinosa C, Almoguera Villacañas JR: Plasma rico en plaquetas: análisis comparativo de cuatro presentaciones comerciales. *Patología del aparato locomotor*, 2003, 1 (1): 59-66.
24. Veillette C, McKee M: Growth factors – BMPx, DBMs, and buffy coat products: are there proven differences amongst them?. *Injury*, 38, Suppl 1: 38-48, 2007.