

## Estabilidad del Plasma Rico en Plaquetas autólogo mediante la simulación de transporte

Lidyce Quesada Leyva <sup>1</sup>  
Ever Quintana Verdecia <sup>1</sup>  
Elisabeth Nicolau Pestana <sup>1</sup>  
Zaily Fuentes Diaz <sup>2</sup>  
Mayelin Hernández Rodríguez <sup>1</sup>  
Millelys Castro Consuegra <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad de Ciencias Médicas Camagüey. Centro de Inmunología y Productos Biológicos. Camagüey, Cuba. email: lidyce.cmw@infomed.sld.cu

<sup>2</sup> Universidad de Ciencias Médicas Camagüey. Departamento docente del Hospital Oncológico de Camagüey, Cuba

### **Resumen:**

**Introducción:** para conservar la actividad biológica y evitar la degradación, se deben mantener estrictas condiciones de almacenamiento, la información que avala estos, debe partir de estudios de estabilidad realizados. **Objetivo:** evaluar la estabilidad del plasma rico en plaquetas autólogo mediante la simulación de transporte a 4 °C. **Método:** se diseñó un estudio de estabilidad siguiendo las normas descritas por el centro para el Control Estatal de los Medicamentos, se evaluaron las principales propiedades organolépticas y biológicas, las pruebas para demostrar estabilidad se realizaron durante tres días y una frecuencia de ensayo en las horas 0, 4, 8, 12, 24, 48 y 72, en agitación, reposo, posición normal e invertida, para predecir el periodo de validez bajo condiciones de trasportación conservadas a 4 °C. **Resultados:** en el mayor número de las observaciones el pH osciló entre 7 y 7,4 correspondiéndose con el rango establecido como normal, el 100 % de las muestras estudiadas no presentó variación en relación a las características organolépticas, esterilidad y volumen, las concentraciones del plasma rico en plaquetas no varía en función del tipo de movimiento y el tiempo con una confiabilidad del 95 %. **Conclusiones:** el presente trabajo muestra que la evaluación de simulación de transporte del producto es estable cuando se conserva a 4 °C hasta tres días donde mantiene sus propiedades físico-químicas y biológicas tras someterlo a diferentes tipos de simulación de movimientos y en almacenamiento. Palabras clave: estabilidad, estabilidad acelerada, PRP

## INTRODUCCIÓN

Los estudios de estabilidad de los medicamentos biológicos permiten verificar aspectos físico-químicos, bioquímicos e inmunoquímicos, análisis de la entidad molecular y detección cuali-cuantitativa de los productos de degradación, siempre y cuando la pureza y las características moleculares del producto permitan el uso de las diferentes metodologías analíticas. <sup>(1)</sup>

Para mantener la actividad biológica y evitar la degradación, se deben mantener estrictas condiciones de almacenamiento. En el caso del plasma rico en plaquetas (PRP) que es la fracción del plasma derivado de la sangre periférica de forma autóloga (preparado a partir de la sangre del propio paciente) se caracteriza por contener mayor número de plaquetas que la sangre periférica y dependiendo de cómo se formule, puede o no contener leucocitos. <sup>(2)</sup>

Las concentraciones de plaquetas y por tanto factores de crecimiento varían según el protocolo utilizado en la elaboración. Como resultado de esta variabilidad, la nomenclatura de productos PRP deberá hacer referencia a las diferentes fórmulas que pueden obtener según el método de preparación utilizado. <sup>(3)</sup>

En los productos biológicos los métodos de ensayo influyen en los resultados obtenidos, <sup>(4)</sup> en el caso de los productos de origen biológico, <sup>(5)</sup> como el plasma es particularmente sensible a los cambios de temperatura. <sup>(6)</sup>

El transporte simulado puede ser una técnica valiosa para determinar la estabilidad física del fármaco, soluciones de proteínas de productos incluidas vacunas, anticuerpos monoclonales, conjugados de anticuerpos y terapias génicas. Los productos pueden ser susceptibles de desnaturalizarse cuando expuestos a peligros de transporte comunes presentes en todas las cadenas de suministro. <sup>(7)</sup>

El principal desafío para la formulación de productos de origen biológico es controlar la tasa de degradación de sus componentes para garantizar una vida útil aceptable durante el almacenamiento y el transporte. <sup>(8)</sup>

Los estudios de estabilidad aportan información sobre parámetros de ensayos específicos como los estudios de estrés que constituyen indicadores sobre patrones de degradación, así como del comportamiento del producto ante períodos cortos fuera de las condiciones de almacenamiento establecidas, lo que ayuda en la predicción de sus afectaciones ante fallos durante el embarque o el almacenamiento. El objetivo del presente trabajo es evaluar la estabilidad del PRP autólogo mediante la simulación de transporte a 4 °C.

## MÉTODO

Se diseñó un estudio de estabilidad mediante simulación de transporte, en el Centro de Inmunología y Productos Biológicos (CENIPBI) de la Universidad Médica de Camagüey, donde se evaluaron las principales propiedades fisicoquímicas y biológicas del PRP en diferentes posiciones: agitación, reposo, posición normal e invertida, para predecir el periodo de validez bajo condiciones de traspotación a 4 °C, según los requerimientos del centro para el control estatal de los medicamentos (CECMED) <sup>(9)</sup> para los estudios de estabilidad.

El estudio quedó diseñado para tres lotes en tres días y cuatro determinaciones por lote, para un número total de muestra (N=76). Las pruebas para demostrar estabilidad a 4 °C del producto se realizaron con una duración de tres días y una frecuencia de ensayo en las horas 0, 4, 8, 12, 24, 48 y 72.

Condiciones de almacenamiento: Las muestras de cada lote se almacenaron a temperatura controlada a 4 °C. Los ensayos considerados como tiempo cero fueron realizados como control de calidad para la liberación del lote durante un período de tres días.

Ensayos de pH: Se utilizó un medidor de pH (pH meter modelo PHS 25, Shanghai) y soluciones de referencia de pH 4.0 y 7.0. El ensayo se consideró satisfactorio si la muestra tuvo un pH de 6,4 a 7,4

Características organolépticas: Se realizó la evaluación sensorial de apariencia, color y olor.

Volumen: Se determinó la cantidad del producto en mL, desde el inicio hasta el final del estudio.

Concentración del plasma rico en plaquetas: Concentraciones de tres veces el valor basal ( $150-450 \times 10^9/L$ ).

Esterilidad: Se inoculó en medio tioglicolato de sodio para cultivo microbiano.

Análisis estadístico: Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) en bloques al azar de los datos obtenidos de las muestras en estudio, para comparar los parámetros cuantitativos y cualitativos entre los lotes, los factores utilizados para el análisis fueron: lotes, Ph, tiempo, concentración, movimiento, esterilidad y características organolépticas. Los análisis se realizaron en SPSS v 21.0 (SPSS Inc., Chicago, EE.UU.).

## RESULTADOS

La tabla 1 muestra la variación del pH según el tipo de movimiento y las horas para el estudio de simulación de transporte, como se puede observar no existió diferencias en la media del ph para las diferentes horas y tipos de movimiento, este osciló en el mayor número de las observaciones entre 7 y 7,4 correspondiéndose con el rango establecido como normal.

**Tabla 1.** Media de los valores del Ph según tipo de movimiento y horas a 4 oC.

Movimientos	Horas			p
	0	4	8	
	Media	Media	Media	
Agitación	7,4	7,1	7,2	0.367
Reposo	7	7	7	0.378
Posición Normal	7	7	7	0.368
Posición invertida	7	7	7	0.387

\*la desviación estándar no fue calculada dado que la dispersión de los datos es nula o mínima

La prueba estadística muestra una probabilidad asociada al estadígrafo, mayor de 0,05 lo que permite plantear con un 95 % de confiabilidad que el pH se mantiene estable independientemente del tipo de movimiento y el tiempo en que se mide.

La tabla 2 muestra las variaciones de las concentraciones de PRP según el tipo de movimiento y las diferentes horas tenidas en cuenta en el estudio de simulación de transporte.

**Tabla 2.** Variaciones de las concentraciones de PRP según tipo de movimientos y horas.

Movimientos	Horas						p
	0		4		8		
	Media	DE	Media	DE	Media	DE	
Agitación	736,3	126,3	774	85,5	759,7	117,5	0.368
Reposo	772,3	65,7	765,3	70	764	107,6	0.368
Posición Normal	666,3	63,1	695,3	41,1	697,7	47	0.368
Posición invertida	735	88,4	749,7	54,2	756,3	94,1	0.368

Se observa que la concentración tiende a mantenerse estable a las diferentes horas y para cada tipo de movimiento y aunque en algunos casos existe alguna variabilidad en relación a la media, las probabilidades asociadas al estadígrafo de prueba para cada tipo de movimiento en relación al tiempo, muestra valores superiores a 0,05 lo que se traduce en que, no hay suficientes evidencias para plantear que la concentración de PRP varía en función del tipo de movimiento y el tiempo con una confiabilidad del 95 %.

De las muestras, el 100 % no presentó variación en relación a las características organolépticas, volumen y la esterilidad según el tipo de movimiento y las horas para el estudio de simulación de transporte. La prueba estadística no se realiza por considerar un uso irreflexivo dado el resultado del análisis. Se demuestra la estabilidad en relación a estos parámetros.

## DISCUSIÓN

Mazzeo A y Carpenter P, <sup>(10)</sup> reseñan que los productos sensibles a las condiciones de transporte necesitan un cuidado especial para garantizar que su calidad no se vea afectada por las operaciones de transporte, el fabricante del producto farmacéutico debe disminuir el riesgo tanto como sea posible. Los daños en relación a la calidad del producto ocurren si la temperatura elegida para el transporte no está acorde a los parámetros establecidos para el producto.

Si no hay datos suficientes, el fabricante se verá obligado a utilizar condiciones de transporte y distribución que se sabe que son protectoras para el producto o cualquier otra condición en la que se haya demostrado la estabilidad durante el período de tiempo necesario. <sup>(10)</sup>

Las pruebas para estas clases de productos farmacéuticos biológicos deben reflejar los niveles de peligro reales, ya que ocurren en el medio. <sup>(11)</sup> Un estudio de simulación de transporte en tiempo real permite la exposición simultánea del producto farmacológico a la temperatura, presión, impacto, humedad y vibración a medida que ocurren en el suministro.

La calidad de los productos farmacéuticos depende en gran medida de las condiciones ambientales de almacenamiento. <sup>(12)</sup> De forma general, la temperatura es el parámetro ambiental más importante debido a su significativo impacto en la estabilidad de los productos.

Muchas formulaciones farmacéuticas, <sup>(12)</sup> productos biológicos y biotecnológicos son particularmente sensibles a la temperatura, por lo que requieren conservarse en rangos controlados durante toda su vida útil.

La investigación según el tipo de movimiento y las horas para el estudio de simulación de transporte del producto terminado, coincide con lo reportado por la literatura ya que con el modo propuesto mantienen sus atributos físico-químicos y biológicos durante el almacenamiento.

## CONCLUSIONES

El PRP es estable cuando se conserva a 4 °C en condiciones de transportación hasta tres días. Por lo que se considera que estos resultados aportan la información requerida acerca de la estabilidad de PRP autólogo en el ámbito de la provincia de Camagüey, teniendo como perspectiva su aplicación para el apoyo a los tratamientos médicos dentro del sistema de salud.

## REFERENCIAS

- 1.ISO, NC. 23640: 2018. Dispositivos médicos para diagnóstico in vitro. Evaluación de la estabilidad de los reactivos para diagnóstico in vitro (ISO 23640: 2011, IDT). 2018. [citado 2 Enero 2023] Disponible en: <https://documents.pub/document/dispositivos-mdcicos-para-diagnstico-in-vitro.html?page=1>
- 2.Wroblewski AP, Mejia HA, Wright VJ. Application of Platelet-Rich Plasma to Enhance Tissue Repair. Oper. Tech. Orthop. 2010. [citado 3 Enero 2023] ;20(2):98–105. Disponible en: <https://www.yumpu.com/en/document/read/51477953/application-of-platelet-rich-plasma-to-enhance-tissue-repair>
3. Gulhima A and Sandeep A. "Platelet-rich plasma —Where do we stand today? A critical narrative review and analysis." Dermatologic Therapy. 2021. [citado 24 Dic 2022], 34 (1): e14343. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/dth.14343>
- 4.El-Husseiny RM, Saleh HM, Moustafa AA, Salem SA. Comparison between single- versus double-spin prepared platelet-rich plasma injection in treatment of female pattern hair loss: clinical effect and relation to vascular endothelial growth factor. Arch Dermatol Res. 2021. [citado 6 Enero 2023];313(7):557-566. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32892245/>
- 5.Regulación M 83-15. Requisitos Para El Registro Sanitario De Productos Biológicos De Uso Humano. Centro Para El Control Estatal De Medicamentos, Equipos Y Dispositivos Médicos (CECMED). 2015. [citado 6 Enero 2023] Disponible en: [https://www.cecmec.com/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/regulacion\\_requisitos\\_registro\\_sanitario\\_biologicosmod.pdf](https://www.cecmec.com/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/regulacion_requisitos_registro_sanitario_biologicosmod.pdf)
- 6.Buenas Prácticas Para La Fabricación De Productos Biológicos. Centro Para El Control Estatal De Medicamentos, Equipos Y Dispositivos Médicos (Cecmed).2020. [citado 25 Dic 2022] Diponible en: <https://www.cecmec.com/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/ResRegBPFpb.pdf>
- 7.ANVISA: Guidance on the Qualification of Transportation of Biological Products, April 12th 2017. [citado 4 Enero 2023] Disponible en: [https://www.ccm28.com/files/knowledge/ANVISA%20Guide%202002\\_2017%20%20Qualification%20of%20biological%20products%20transportation.pdf](https://www.ccm28.com/files/knowledge/ANVISA%20Guide%202002_2017%20%20Qualification%20of%20biological%20products%20transportation.pdf)
- 8.Dumpa N, Goel K, Guo Y, McFall H, Pillai AR, Shukla A, Repka MA, Murthy SN. Stability of Vaccines. AAPS PharmSciTech. 2019. [citado 29 Dic 2022];20(2):42. Disponible en: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1208/s12249-018-1254-2.pdf?pdf=button>
9. Centro para el Control Estatal de los Medicamentos (CECMED). Regulación No. 25-2000. Requerimientos de los estudios de estabilidad para el registro de productos biológicos y biotecnológicos. La Habana, Cuba, 2004. (Documento regulatorio). [citado 4 Enero 2023 ] Disponible en: [https://www.cecmec.com/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Reg\\_25-00.pdf](https://www.cecmec.com/sites/default/files/adjuntos/Reglamentacion/Reg_25-00.pdf)
10. Mazzeo, A., Carpenter, P. Stability Studies for Biologics. In: Huynh-Ba, K. (eds) Handbook of Stability Testing in Pharmaceutical Development. Springer, New York, NY. 2009. [citado 4 Enero 2023]. Disponible en: [https://doi.org/10.1007/978-0-387-85627-8\\_17](https://doi.org/10.1007/978-0-387-85627-8_17)
11. Hauschild G, Geburek F, Gosheger G, Eveslage M, Serrano D, Streitbürger A., et al. Short term storage stability at room temperature of two different platelet-rich plasma preparations from equine donors and potential impact on growth factor concentrations. BMC Veterinary Research. 2017. [citado 3 Enero 2023]; 13:7, Disponible en: <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0920-4>
- 12.García-García D. Manejo de excursiones de temperatura en la distribución de productos farmacéuticos termosensibles. Revista Cubana de Farmacia [Internet]. 2020 [citado 29 Dic 2022]; 53 (1) Disponible en: <https://revfarmacia.sld.cu/index.php/far/article/view/396>