



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica Superior
d'Enginyeria Agronòmica i del Medi Natural

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica
y del Medio Natural

ANÁLISIS DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO
RECURSO TERAPÉUTICO

Trabajo Fin de Grado

Grado en Biotecnología

AUTOR/A: Botella Galera, Antonio

Tutor/a: Vicente Antón, José Salvador

Cotutor/a externo: Mirabet Lis, Vicente

CURSO ACADÉMICO: 2023/2024

TÍTULO

Análisis del plasma rico en plaquetas como recurso terapéutico.

RESUMEN

En la actualidad, el plasma rico en plaquetas (PRP) se utiliza con fines terapéuticos para una amplia variedad de indicaciones clínicas. No obstante, su uso está sujeto a cierta controversia. La notable diversidad de protocolos empleados para las etapas críticas (procesamiento, almacenamiento, presentación, dosificación) dificultan significativamente el análisis comparativo de resultados. Por esta razón, hay una importante limitación en cuando a las evidencias científicamente demostradas sobre su eficacia.

Desde el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana (CTCV) se atiende la demanda asistencial de este recurso para algunos hospitales de la red pública, exclusivamente para uso autólogo. En este caso, el plasma rico en plaquetas se obtiene mediante la realización de una centrifugación de la sangre total y la posterior extracción de la fracción correspondiente al contenido plaquetario. Finalmente, se almacena por congelación a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su uso. La presentación del producto se adapta a las necesidades. Si el destino es la infiltración se distribuye como líquido inyectable. Si se requiere una estructura tridimensional se genera un coágulo que actúe como matriz para la regeneración tisular y como reservorio para la liberación de factores inductores de reparación.

Este trabajo se divide en dos partes. Para conocer el entorno relativo a la citada controversia, en la primera se realiza una revisión bibliográfica sobre algunos aspectos relevantes del uso de PRP. Para ello, se recopila información sobre los siguientes parámetros: terminología, umbral terapéutico, tipo de anticoagulante empleado, efecto de la presencia de glóbulos blancos y de glóbulos rojos, número de ciclos de congelación-descongelación, correlación entre concentración de plaquetas y factores de crecimiento, perfil del paciente y tipo de contador utilizado. En la segunda parte, se analizan los datos del CTCV. Concretamente, el estudio se ha centrado en observar el efecto de la congelación. Para ello, se han evaluado una serie de parámetros relativos a la hematimetría (concentración de plaquetas, de leucocitos y de eritrocitos, volumen plaquetario medio y rango de distribución plaquetario).

La congelación del PRP conllevó un aumento del recuento eritrocitario, así como de los parámetros relativos al tamaño plaquetario, y una reducción de los leucocitos. Los sucesivos ciclos de congelación y descongelación se asociaron a descensos en los parámetros de la hematimetría. Resultó evidente que algunas plaquetas y leucocitos (especialmente linfocitos) retuvieron su apariencia para ser reconocidos como tales por el contador celular. Durante el procesamiento hubo activación plaquetaria. Un protocolo basado en congelación ultra-rápida no aportó ventajas significativas.

El presente estudio pone de manifiesto que el uso de dispositivos basados en la impedancia para evaluar muestras de PRP sometidas a procesos que pueden afectar a la integridad de sus componentes celulares, puede condicionar negativamente la precisión de los resultados. Por otro lado, si se pretende congelar el producto, se recomienda utilizar un protocolo con dos ciclos. Finalmente, se confirma la necesidad de una estandarización de procedimientos utilizados, con el fin de facilitar el análisis comparativo de resultados. Este trabajo se relaciona con la ODS 3 – Salud y Bienestar de la agenda 2030.

Palabras clave: plasma rico en plaquetas, indicaciones clínicas, controversia, diversidad de protocolos, ciclos de congelación y descongelación, hematimetría, dispositivos basados en la impedancia y estandarización.

SUMMARY

Currently, platelet-rich plasma (PRP) is used therapeutically for a wide variety of clinical indications. However, its use is subject to some controversy. The remarkable diversity of protocols used for critical stages (processing, storage, presentation, dosage) significantly complicates the comparative analysis of results. For this reason, there is a significant limitation regarding scientifically proven evidence of its efficacy.

From the Centre de Transfusió de la Comunitat Valenciana (CTCV), the demand for this resource is met for some hospitals in the public network, exclusively for autologous use. In this case, platelet-rich plasma is obtained by centrifuging whole blood and subsequently extracting the fraction corresponding to the platelet content. Finally, it is stored by freezing at -80 °C until use. The presentation of the product is adapted to the needs. If the destination is infiltration, it is distributed as an injectable liquid. If a three-dimensional structure is required, a clot is generated that acts both as a matrix for tissue regeneration and as a reservoir for the sequential release of factors that induce repair mechanisms.

This academic work is divided into two parts. To understand the context of the aforementioned controversy, the first part conducts a literature review on some relevant aspects of PRP use. For this purpose, information is gathered on the following parameters: terminology, therapeutic threshold, type of anticoagulant used, effect of the presence of white and red blood cells, number of freeze-thaw cycles, correlation between platelet concentration and growth factors, patient profile, and type of counter used. In the second part, data from the CTCV are analyzed. Specifically, the study focuses on observing the effect of freezing. To this end, a series of parameters related to hematimetry (platelet, leukocyte, and erythrocyte concentration, mean platelet volume, and platelet distribution range) are evaluated.

Freezing PRP led to an increase in the erythrocyte count, as well as parameters related to platelet size, and a reduction in leukocytes. Successive freeze-thaw cycles were associated with decreases in hematimetry parameters. It was evident that some platelets and leukocytes (especially lymphocytes) retained their appearance to be recognized as such by the cell counter. During processing, there was platelet activation. A protocol based on ultra-rapid freezing did not provide significant advantages.

The present study highlights that using impedance-based devices to evaluate PRP samples subjected to processes that may affect the integrity of their cellular components can negatively affect result accuracy. Additionally, it recommends employing a protocol with two freeze-thaw cycles if freezing the product is intended. Finally, it underscores the need for standardizing the procedures used to facilitate comparative analysis of results. This work is aligned with SDG 3 – Health and Well-being of the 2030 Agenda.

Key words: platelet-rich plasma, clinical indications, controversy, diversity of protocols, freeze-thaw cycles, hematimetry, impedance-based devices and standardization

INDICE DE CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN	9
2.	OBJETIVOS	10
2.1	PRIMARIO	10
2.2	SECUNDARIO	10
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	10
3.1	SISTEMA DE RECUPERACIÓN DE LA INFORMACIÓN	10
3.2	PROCESAMIENTO DE LA SANGRE TOTAL EN EL CTCV	11
3.2.1	Uso transfusional	11
3.2.1	Uso no transfusional	11
3.3	HEMATIMETRÍA	14
3.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	14
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	15
4.1	SISTEMA DE RECUPERACIÓN DE LA INFORMACIÓN	15
4.2	TERMINOLOGÍA	15
4.3	UMBRAL TERAPÉUTICO	16
4.4	ANTICOAGULANTES	17
4.5	SISTEMAS AUTOMATIZADOS COMERCIALES	17
4.6	PRESENCIA DE GLÓBULOS BLANCOS	18
4.7	PRESENCIA DE GLÓBULOS ROJOS	19
4.8	CICLOS DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN	20
4.9	CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE PLAQUETAS Y LA DE FACTORES DE CRECIMIENTO	21
4.10	CONTADOR CELULAR	21
4.11	PERFIL DEL PACIENTE	22
4.12	DIFICULTADES PARA LA ESTANDARIZACIÓN	23
4.13	HISTOGRAMAS COMPARATIVOS	24
4.13.1	Plaquetas	24
4.13.2	Glóbulos blancos	25
4.14	ANÁLISIS DE LOS DATOS DEL PROCESAMIENTO DE PRP EN EL CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE VALENCIA	26
4.14.1	Edad, sexo y grupo sanguíneo	26
4.14.2	Ciclos de congelación-descongelación	26
4.14.3	Comparación -80°C vs Nitrógeno líquido	32
4.15	CITOMETRÍA DE FLUJO	36
5.	CONCLUSIONES	38
6.	BIBLIOGRAFÍA	38
	ANEJO 1. Relación del trabajo con los objetivos de desarrollo sostenible de la agenda 2030	42
	ANEJO 2. Preparación del PRP para uso no transfusional	43
	ANEJO 3. Activación plaquetaria	57
	ANEJO 4. Análisis estadístico: Edad, sexo y grupo sanguíneo	85
	ANEJO 5. Análisis estadístico: -80°C vs Nitrógeno líquido	120

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE LAS ETAPAS DE LA REGENERACIÓN ÓSEA. FIGURA TOMADA DE MALHOTRA ET AL. NOTA. VEGF: FACTOR DE CRECIMIENTO VASCULAR ENDOTELIAL. TGF- β : FACTOR DE CRECIMIENTO TRANSFORMADOR BETA. PDGF: FACTOR DE CRECIMIENTO DERIVADO DE PLAQUETAS. FGF: FACTOR DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS.....	9
FIGURA 2. COMPARACIÓN MORFOLÓGICA ENTRE PLAQUETA (IZQUIERDA) Y PLAQUETA ACTIVADA (DERECHA). FUENTE: LABMEDICA INTERNATIONAL, 2022.	10
FIGURA 3. IMAGEN TOMADA DEL FRACCIONADOR AUTOMÁTICO DEL CTCV	12
FIGURA 4. FASES OBTENIDAS TRAS LA CENTRIFUGACIÓN DE SANGRE TOTAL A 4161 G DURANTE 14 MINUTOS	12
FIGURA 5. PROCEDIMIENTO DE LEUCOREDUCCIÓN POR FILTRACIÓN EN EL CTCV	12
FIGURA 6. FASES OBTENIDAS TRAS LA CENTRIFUGACIÓN DE SANGRE TOTAL A 400 G DURANTE 7 MINUTOS: PLASMA POBRE EN PLAQUETAS, PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y GLÓBULOS ROJOS.....	12
FIGURA 7. COMPONENTES SANGUÍNEOS PRESENTES EN LA SANGRE Y SU TAMAÑO RELATIVO	12
FIGURA 8. VALORES DE DENSIDAD DE LOS COMPONENTES SANGUÍNEOS.....	12
FIGURA 9. (A) MATRIZ DE FIBRINA OBTENIDA TRAS LA COAGULACIÓN DE PRP FRESCO. (B) MATRIZ DE FIBRINA OBTENIDA TRAS LA COAGULACIÓN DE PRP DESCONGELADO	13
FIGURA 10. DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DEL PRP Y DE LA UTILIZACIÓN DEL PLASMA POBRE EN PLAQUETAS PARA GENERAR PLASMA RICO EN PLAQUETAS, ACTIVADOR Y CRIOPRECIPITADO.	14
FIGURA 11. CONTADOR CELULAR UTILIZADO PARA LA HEMATIMETRÍA (MODELO MINDRAY BC-3600). FUENTE: MINDRAY.COM.	14
FIGURA 12. ADICIÓN DE LISADO PLAQUETARIO (LPB) AL 8,8, 17,5 Y 35% A CÉLULAS EN CULTIVO (AG1518). EL GRUPO CONTROL FUE EXPUESTO A 4% DE ALBUMINA EN MEM. SE EVALUÓ LA INCORPORACIÓN DE ^3H -TIMIDINA EN MACROMOLÉCULAS COMO INDICACIÓN DEL CRECIMIENTO CELULAR. FIGURA ADAPTADA DE LIU ET AL (2002).....	17
FIGURA 13. RASGOS DISTINTIVOS DEL ENVEJECIMIENTO. EN EL ESQUEMA SE ENUMERAN LOS NUEVE RASGOS DISTINTIVOS DEL ENVEJECIMIENTO: INESTABILIDAD GENÓMICA, ACORTAMIENTO DE TELÓMEROS, ALTERACIONES EPIGENÉTICAS, PÉRDIDA DE PROTEOSTÁSIS, DETECCIÓN DESREGULADA DE NUTRIENTES, DISFUNCIÓN MITOCONDRIAL, SENESCENCIA CELULAR, AGOTAMIENTO DE CÉLULAS MADRE Y COMUNICACIÓN INTERCELULAR ALTERADA. FIGURA ADAPTADA DE LÓPEZ-OTÍN ET AL. (2013)	23
FIGURA 14. REPRESENTACIÓN CONCEPTUAL DE LA PARABIOSIS HETEROCRÓNICA EN UN MODELO DE DOS RATONES. FUENTE: CERCA DEL LETEO, 2016.....	24
FIGURA 15. HISTOGRAMA COMPARATIVO DE LA DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO PLAQUETARIO ENTRE LAS ETAPAS: PRP INICIAL (AMARILLO), PRIMER CICLO (VERDE), SEGUNDO CICLO (NEGRO) Y CUARTO CICLO DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN (AZUL). EL EJE X CORRESPONDE AL TAMAÑO PLAQUETARIO MEDIDO EN FEMTOLITROS (fL) Y EL EJE Y A LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA EN PLAQUETAS POR MICROLITRO.	26
FIGURA 16. HISTOGRAMA COMPARATIVO DE LA DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE LOS GLÓBULOS BLANCOS ENTRE LAS ETAPAS: PRP INICIAL (VERDE), PRIMER CICLO (ROJO), SEGUNDO CICLO (AZUL) Y CUARTO CICLO DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN (NEGRO). EL EJE X CORRESPONDE AL TAMAÑO PLAQUETARIO MEDIDO EN FEMTOLITROS (fL) Y EL EJE Y A LA CONCENTRACIÓN DE LEUCOCITOS EN LEUCOCITOS POR MICROLITRO.	27
FIGURA 17. EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN INICIAL EN EL PRP DE PLAQUETAS (EJE X) Y GLÓBULOS BLANCOS (EJE Z) SOBRE EL INCREMENTO EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS (Z). NOTAS: GB: GLÓBULOS BLANCOS; GR: GLÓBULOS ROJOS; PLQ: PLAQUETAS.....	30
FIGURA 18. DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA (DIF PLQ), VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO (DIF MPV) Y RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO (DIF PDW) EN CADA ETAPA RESPECTO A LA ANTERIOR. SE UTILIZA UN ASTERISCO (*) PARA INDICAR SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA ($p < 0,05$).....	33
FIGURA 19. DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS EN CADA ETAPA RESPECTO A LA ANTERIOR. SE UTILIZA UN ASTERISCO (*) PARA INDICAR SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA ($p < 0,05$).....	33
FIGURA 20. DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS EN CADA ETAPA RESPECTO A LA ANTERIOR. SE UTILIZA UN ASTERISCO (*) PARA INDICAR SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA ($p < 0,05$).....	34

FIGURA 21. COMPARACIÓN DE LA DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA, RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO Y VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO ENTRE LA CONGELACIÓN A -80°C Y SUMERGIENDO EN NITRÓGENO LÍQUIDO TRAS EL PRIMER CICLO DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN. EL ASTERISCO * HACE REFERENCIA A UN VALOR DE $P < 0,05$.	35
FIGURA 22. COMPARACIÓN DE LA DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA, RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO Y VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO ENTRE LA CONGELACIÓN A -80°C Y LA UTILIZACIÓN DE NITRÓGENO LÍQUIDO TRAS EL PRIMER Y SEGUNDO CICLO DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN. EL ASTERISCO * HACE REFERENCIA A UN VALOR DE $P < 0,05$.	36
FIGURA 23. DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE LEUCOCITOS RESPECTO A -80°C Y NITRÓGENO LÍQUIDO PARA LOS DOS CICLOS DE CONGELACIÓN/DESCONGELACIÓN. EL ASTERISCO * HACE REFERENCIA A UN VALOR DE $P < 0,05$.	37
FIGURA 24. DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS RESPECTO A -80°C Y NITRÓGENO LÍQUIDO PARA LOS DOS CICLOS DE CONGELACIÓN/DESCONGELACIÓN. EL ASTERISCO * HACE REFERENCIA A UN VALOR DE $P < 0,05$.	37
FIGURA 25. DISTRIBUCIÓN DE ELEMENTOS EN FUNCIÓN DE SU TAMAÑO (EJE X) Y COMPLEJIDAD CITOPASMÁTICA (EJE Y) EN PLASMA RICO EN PLAQUETAS PURO (PARTE SUPERIOR) Y EN PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y LEUCOCITOS (PARTE INFERIOR). EN LA IZQUIERDA CORRESPONDE AL PRODUCTO FRESCO Y EN LA DERECHA TRAS LA CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN.	38
FIGURA 26. DISTRIBUCIÓN DE ELEMENTOS EN FUNCIÓN DE SU TAMAÑO (EJE X) Y COMPLEJIDAD CITOPASMÁTICA (EJE Y) EN PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y LEUCOCITOS. EN EL LADO IZQUIERDO CORRESPONDE AL PRODUCTO FRESCO. EN EL DERECHO AL PRODUCTO DESCONGELADO. LAS PLAQUETAS (CD41+ CD62-) SE REPRESENTAN EN AMARILLO, LAS ACTIVADAS (CD41+ CD62+) EN VERDE Y LAS QUE NO PRESENTAN NINGÚN ANTÍGENO EN AZUL (CD41- CD62-).	39
FIGURA 27. IMÁGENES TOMADAS EN EL MICROSCOPIO ÓPTICO DE DOS MUESTRAS DE PLASMA RICO EN PLAQUETAS Y LEUCOCITOS DESCONGELADO TEÑIDO CON MAY-GRÜN WALD GIEMSA.	39

INDICE DE TABLAS

TABLA 1. LISTA DE SISTEMAS AUTOMATIZADOS Y SUS CARACTERÍSTICAS: NOMBRE DEL DISPOSITIVO, DENOMINACIÓN DEL PRODUCTO OBTENIDO, FACTOR POR EL QUE SE INCREMENTA LA CONCENTRACIÓN BASAL, RECUPERACIÓN PLAQUETARIA Y EL CONTENIDO DEL PRODUCTO PREPARADO. NOTA: ACP, PLASMA CONCENTRADO AUTÓLOGO; PCP, PLASMA CONCENTRADO DE PLAQUETAS; PRF, FIBRINA RICA EN PLAQUETAS; PRFM, MATRIZ DE FIBRINA RICA EN PLAQUETAS; PRGF, PLASMA RICO EN FACTORES DE CRECIMIENTO; PRP, PLASMA RICO EN PLAQUETAS; RBC, GLÓBULOS ROJOS; WBC, GLÓBULOS BLANCOS. TABLA ADAPTADA DE ENGBRETSSEN ET AL. (2011)	19
TABLA 2. VALORES DE LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA, VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO Y RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO PARA EL PRP INICIAL Y PARA EL PRIMER, SEGUNDO Y TERCER CICLO DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN.	26
TABLA 3. VALORES DE LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS, LINFOCITOS, GRANULOCITOS Y MONOCITOS PARA EL PRP INICIAL Y PARA EL PRIMER, SEGUNDO Y TERCER CICLO DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN. NOTA: ND: NO DETECTADO.	27
TABLA 4. VALORES ESTADÍSTICOS DE LAS VARIABLES ANALIZADAS TRAS EL PRIMER CICLO DE CONGELACIÓN: MEDIA ± ERROR ESTÁNDAR; DESVIACIÓN ESTÁNDAR. NOTA: DIF PLQ: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA; DIF PDW: DIFERENCIA EN EL RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO; DIF VPM: DIFERENCIA EN EL VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO; DIF GRAN: DIFERENCIA EN EL PORCENTAJE DE GRANULOCITOS; DIF LINF: DIFERENCIA EN EL PORCENTAJE DE LINFOCITOS; DIF GB: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS; DIF GR: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS.	28
TABLA 5. VALORES ESTADÍSTICOS DE LAS VARIABLES ANALIZADAS TRAS EL SEGUNDO CICLO DE CONGELACIÓN: MEDIA ± ERROR ESTÁNDAR; DESVIACIÓN ESTÁNDAR. NOTA: DIF PLQ: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA; DIF PDW: DIFERENCIA EN EL RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO; DIF VPM: DIFERENCIA EN EL VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO; DIF GRAN: DIFERENCIA EN EL PORCENTAJE DE GRANULOCITOS; DIF LINF: DIFERENCIA EN EL PORCENTAJE DE LINFOCITOS; DIF GB: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS; DIF GR: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS.	30
TABLA 6. VALORES ESTADÍSTICOS DE LAS VARIABLES ANALIZADAS TRAS EL TERCER CICLO DE CONGELACIÓN: MEDIA ± ERROR ESTÁNDAR; DESVIACIÓN ESTÁNDAR. NOTA: DIF PLQ: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN PLAQUETARIA; DIF PDW: DIFERENCIA EN EL RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO; DIF VPM: DIFERENCIA EN EL VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO; DIF GB: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS BLANCOS; DIF GR: DIFERENCIA EN LA CONCENTRACIÓN DE GLÓBULOS ROJOS.	32
TABLA 7. VALORES ESTADÍSTICOS DE LAS VARIABLES ANALIZADAS TRAS EL PRIMER CICLO DE CONGELACIÓN A -80°C Y UTILIZANDO NITRÓGENO LÍQUIDO: MEDIA ± ERROR ESTÁNDAR; DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA.	34
TABLA 8. VALORES ESTADÍSTICOS DE LAS VARIABLES ANALIZADAS TRAS EL SEGUNDO CICLO DE CONGELACIÓN A -80°C Y UTILIZANDO NITRÓGENO LÍQUIDO: MEDIA ± ERROR ESTÁNDAR; DESVIACIÓN ESTÁNDAR Y SIGNIFICANCIA ESTADÍSTICA. NOTA: DIF = DIFERENCIA. [] = CONCENTRACIÓN. PDW: RANGO DE DISTRIBUCIÓN PLAQUETARIO. VPM: VOLUMEN PLAQUETARIO MEDIO.	35

GLOSARIO

ACD: Solución anticoagulante de citrato dextrosa
AEMPS: Agencia española de medicamentos y productos sanitarios
Activ: Porcentaje de activación plaquetaria
BMP-2: Factor morfogenético óseo-2
CTCV: Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana
Dif GB: Diferencia en la concentración de glóbulos blancos
Dif GR: Diferencia en la concentración de glóbulos rojos
Dif MPV: Diferencia en el volumen plaquetario medio
Dif PDW: Diferencia en el rango de distribución plaquetario
Dif Plq: Diferencia en la concentración plaquetaria
Dif Gran: Diferencia en el porcentaje de granulocitos
Dif Linf: Diferencia en el porcentaje de linfocitos
EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético
EGF: Factor de crecimiento epidérmico
bFGF: Factor de crecimiento fibroblástico básico
FGF-2: Factor de crecimiento de fibroblastos 2
GB: Concentración de glóbulos blancos
GR: Concentración de glóbulos rojos
Gran: Porcentaje de granulocitos
HGF: Factor de crecimiento hepatocitario
MPV: Volumen plaquetario medio
ND: No detectable
PRF: Plasma rico en fibrina
IGF: Factor de crecimiento similar a la insulina
IKDK: Comité Internacional de Documentación de la Rodilla
PDGF: Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PDW: Rango de distribución plaquetario
PF-4: Factor plaquetario 4
PRFC: Plasma rico en factores de crecimiento
PRP: Plasma rico en plaquetas
PPP: Plasma pobre en plaquetas
Rec Plq: Recuento plaquetario
RPM: Revoluciones por minuto
Linf: Porcentaje de linfocitos
LPB: Lisado plaquetario
L-PRP: Plasma rico en plaquetas y leucocitos
TGF- β 1: Factor de crecimiento transformante beta-1
VAS: Escala visual analógica
VEGF: Factor de crecimiento endotelial vascular
WOMAK: Índice de Artritis de las Universidades de Ontario Occidental y McMaster

RELACIÓN DEL TRABAJO CON LOS OBJETIVOS DE DESARROLLO SOSTENIBLE DE LA AGENDA 2030.

Este trabajo académico se relaciona estrechamente con los objetivos de salud y bienestar del ODS 3 de la agenda 2030, al recopilar información sobre los parámetros más relevantes del plasma rico en plaquetas con el objetivo de contribuir a su estandarización y, al buscar la optimización de su procesamiento en el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana con la finalidad de maximizar su eficacia. De esta manera, contribuye a proporcionar tratamientos médicos más efectivos y precisos, mejorando así la salud y bienestar de la población. (Anejo 1)

1. INTRODUCCIÓN

El 28 de octubre de 1985 se emite el decreto por el que se crea el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. De este modo, se centralizan los siguientes tipos de actividades (DOGV, 1985):

- Hemodonación: atención a donantes, promoción de la donación de sangre, programación y ejecución de las actividades de extracción de sangre (equipos móviles y sala del propio centro).
- Procesamiento: obtención, almacenamiento, distribución y control de calidad de componentes sanguíneos (hematíes, plasma y plaquetas).
- Inmunología: análisis de grupos sanguíneos por técnicas de biología molecular, escrutinio e identificación de anticuerpos en donantes y pacientes; evaluación de poblaciones linfocitarias y células progenitoras hematopoyéticas, mediante técnicas de citometría de flujo; protocolos de histocompatibilidad relativos al trasplante de órgano sólido y hematopoyético; estudio de trombopenias; estudio de marcadores inmunogenéticos asociados a patologías; pruebas de paternidad.
- Seguridad biológica: control sobre el riesgo de transmisión de enfermedades a través de la transfusión o trasplante.
- Farmacia: gestión de hemoderivados (albúmina, inmunoglobulina, factores de coagulación) obtenidos por la industria farmacéutica a partir de plasma humano.

Durante la primera década del siglo XXI, la actividad relativa al componente plaquetario se diversifica de modo que, al tradicional uso clínico transfusional de los concentrados de plaquetas, se añade la elaboración de plasma rico en plaquetas (PRP) para uso no transfusional. Concretamente, se pretende aprovechar el reconocido papel de las plaquetas en el proceso fisiológico de reparación tisular (Malhotra *et al.*, 2013). En la figura 1 se observa una representación esquemática de dicho proceso.

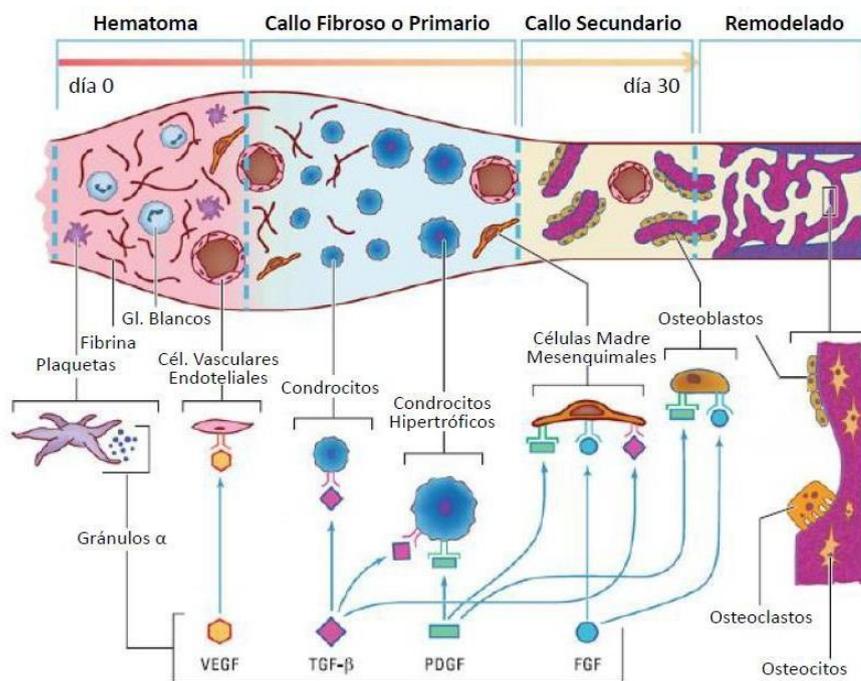


Figura 1. Representación esquemática de las etapas de la regeneración ósea. Figura tomada de Malhotra *et al.*
Nota. VEGF: factor de crecimiento vascular endotelial. TGF- β : factor de crecimiento transformador beta.
PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas. FGF: factor de crecimiento de fibroblastos

El potencial regenerativo de las plaquetas reside fundamentalmente en el contenido de sus gránulos α . Durante el proceso de activación plaquetaria, se produce un importante cambio morfológico (Figura 2) y también un proceso de desgranulación, mediante la fusión de los

gránulos con la membrana plasmática. De este modo, las citocinas, quimocinas y factores de crecimiento son liberados al entorno.

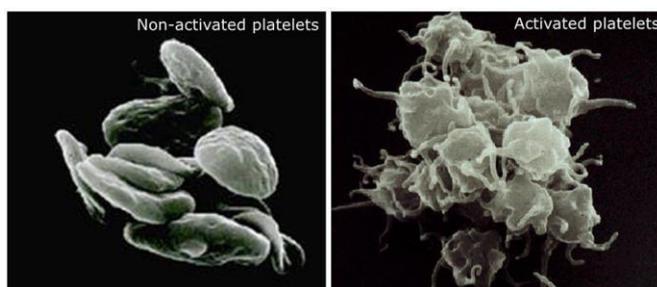


Figura 2. Comparación morfológica entre plaqueta (izquierda) y plaqueta activada (derecha). Fuente: LABMEDICA iNTERNATIONAL, 2022.

Con estas premisas, el PRP se viene utilizando para un amplio número de indicaciones clínicas (Andia y Maffulli, 2018) Sin embargo, el desarrollo de los protocolos para su uso no se encuentra exento de cierta controversia y, en algunos casos, con dificultades para contrastar con evidencias científicas su potencial terapéutico real (Mirabet, 2020).

En España, el marco regulador de esta actividad se limita al Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de plasma rico en plaquetas (AEMPS, 2013). La conclusión más relevante del citado informe es la consideración del plasma rico en plaquetas como medicamento. En el mismo, se definen las garantías exigibles para su utilización clínica en cuanto a la calidad, la eficacia, la trazabilidad y la farmacovigilancia.

En el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana el protocolo de procesamiento de PRP incorpora un período de almacenamiento por congelación. Esta circunstancia lo diferencia de la tendencia general de aplicar el PRP recién obtenido.

2. OBJETIVOS

2.1 PRIMARIO

El objetivo principal ha sido el análisis y definición del producto obtenido mediante el protocolo de procesamiento de sangre total para generación de plasma rico en plaquetas, con finalidad terapéutica no transfusional, en el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana.

2.2 SECUNDARIO

Complementariamente, se ha revisado la literatura sobre el procesamiento y uso clínico del plasma rico en plaquetas y sus diferentes variantes, analizando una serie de parámetros asociados a estas actividades.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 SISTEMA DE RECUPERACIÓN DE LA INFORMACIÓN

No es infrecuente encontrar en la literatura relacionada con el uso clínico del plasma rico en plaquetas llamadas a la necesidad de una estandarización. La variabilidad de las fuentes de obtención de las plaquetas, de los protocolos de procesamiento y almacenamiento, así como de las pautas de dosificación y las indicaciones clínicas, suponen una notable complejidad para esta tarea.

Esta dificultad se refleja también a la hora de recuperar información sobre el tema, ya que las búsquedas suelen reportar abundantes referencias. Por esta razón, se utilizó una estrategia basada en la localización de estudios de revisión y meta-análisis que, además de análisis comparativos,

ofrecían una concentración de conocimiento que facilitaba la comprensión del entorno del tema de atención. Por otro lado, también resultaron de utilidad para detectar, a través de sus bibliografías, referencias de interés para profundizar en el estudio.

Finalmente, conforme se iba consultando los artículos, se fue preparando una relación terminológica, a modo de «tesauro» que, conjuntamente con el uso de operadores booleanos (*and*, *or*, *not*), sirvió para el desarrollo de las secuencias de búsqueda. Se utilizaron los motores de búsqueda de *PubMed*® y *Google Scholar*® como herramientas para este trabajo.

Para proporcionar algo más de precisión a la consulta, se fijó como criterio de inclusión la referencia al origen humano del producto. Como primer filtro para determinar el interés de los artículos recuperados se utilizó el título. Seguidamente, se añadió el resumen y, aquellos que resultaron seleccionados por su especial relevancia para el objetivo del trabajo, se leyeron con mayor profundidad. Para los casos en los que la toma de decisiones resultara compleja, esta se consensuó con los tutores.

3.2 PROCESAMIENTO DE LA SANGRE TOTAL EN EL CTCV

En el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana se procesa la sangre total para la obtención de componentes sanguíneos. El procedimiento a seguir difiere según su finalidad, dependiendo de un uso clínico transfusional o no transfusional.

3.2.1 Uso transfusional

En el primer caso, después de una centrifugación (4161 g durante 14 min) de la bolsa conteniendo 450 mL (sangre más anticoagulante), se realiza un procesamiento utilizando un fraccionador automático (Figura 3) para separar los componentes sanguíneos (plasma, capa leuco-plaquetaria y hematíes) (Figura 4). Las plaquetas se obtienen bien por plaqueto-aféresis, mediante un sistema que separa los componentes simultáneamente al proceso de extracción (pudiendo devolver al donante, por ejemplo, el plasma); o bien uniendo 4 capas leuco-plaquetarias del mismo grupo sanguíneo. Todos los componentes son sometidos a un procedimiento de leuco-reducción por filtración (Figura 5).

Finalmente, los concentrados de hematíes se almacenan a 4°C, los de plaquetas a 22°C y el plasma a -30°C.



Figura 3. Imagen tomada del fraccionador automático del CTCV.

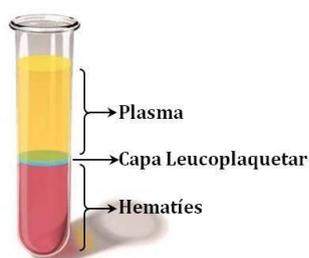


Figura 4. Fases obtenidas tras la centrifugación de sangre total a 4161 g durante 14 minutos.



Figura 5. Procedimiento de leucoreducción por filtración en el CTCV.

3.2.1 Uso no transfusional

En este caso, se realiza una centrifugación más suave, a 400 g durante 7 minutos. Además, el volumen de sangre más anticoagulante se reduce a 150 mL. De este modo, en lugar de la capa

leuco-plaquetaria que citamos en el apartado anterior, las plaquetas quedan suspendidas en la fracción plasmática (Figura 6).

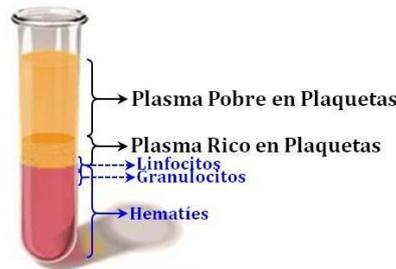


Figura 3. Fases obtenidas tras la centrifugación de sangre total a 400 g durante 7 minutos: Plasma pobre en plaquetas, plasma rico en plaquetas y glóbulos rojos.

Durante la centrifugación los componentes sanguíneos presentes en la muestra (Figura 7), se separan en función de su densidad, cuyos valores se pueden observar en la figura 8.

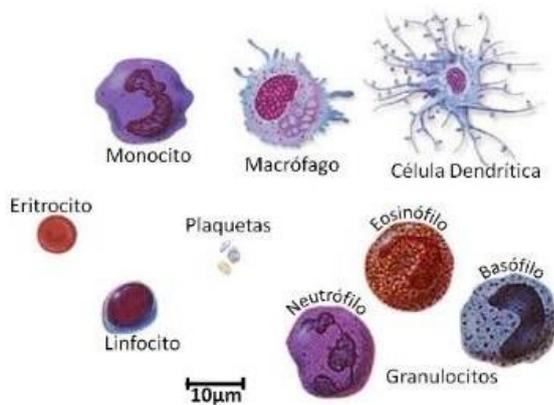


Figura 7. Componentes sanguíneos presentes en la sangre y su tamaño relativo.

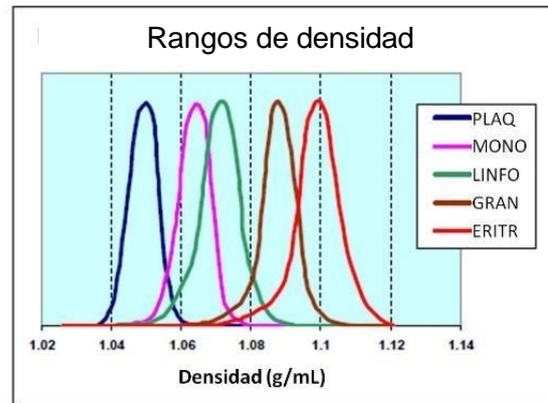


Figura 8. Valores de densidad de los componentes sanguíneos.

La separación del componente plaquetario se realiza en un entorno medioambiental clase A, proporcionado por una cabina de flujo laminar, dentro de una sala con calidad de aire clase D. El procedimiento se encuentra detallado en el anejo 2. Como se puede observar, con el fin de proporcionar eficacia, el plasma pobre en plaquetas (PPP) es sometido a un nuevo proceso de centrifugación (700 g durante 10 min). De este modo, tras una hora de reposo, las plaquetas pueden ser resuspendidas en una pequeña fracción de plasma. Se genera así un PRP que se añade al inicialmente obtenido tras la primera centrifugación, para enriquecerlo (en torno a un 5,5%).

Por otro lado, el sobrenadante de la segunda centrifugación puede ser a su vez utilizado como fuente de fibrinógeno (generando un crioprecipitado, mediante congelación a -80°C y descongelación a 4°C). El crioprecipitado así obtenido resulta de utilidad a la hora de dar consistencia al producto cuando la indicación clínica requiere la presentación como coágulo (por ejemplo, en Cirugía Máxilo-Facial, para el relleno de quistes esenciales; o en Dermatología, para la cobertura de úlceras cutáneas). Hay que tener presente que, cuando se coagula un PRP descongelado, la matriz de fibrina que se obtiene presenta menos resistencia a la tracción. Su limitada flexibilidad puede llegar incluso a manifestarse perdiendo la integridad durante la manipulación (Figura 9).

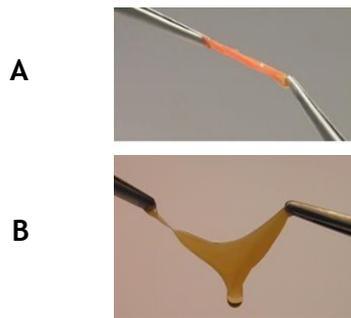


Figura 4. (A) Matriz de fibrina obtenida tras la coagulación de PRP fresco. (B) Matriz de fibrina obtenida tras la coagulación de PRP descongelado

Finalmente, también con el objetivo de optimizar el proceso de coagulación, otra fracción del citado sobrenadante (1 mL) se puede utilizar como activador. Para ello, se añade un 5% de solución de cloruro cálcico al 10% a dicho volumen y se espera a que coagule. Una vez conseguido, se comprime manualmente el coágulo y se recoge el sobrenadante, que será almacenado por congelación hasta que se requiera el uso clínico del PRP. Llegado el momento, ese activador (con presencia de trombina liberada durante la coagulación) servirá para acelerar el proceso de coagulación.

Tras la obtención del PRP, mediante el procesamiento descrito, es utilizado para diferentes indicaciones clínicas, en las siguientes especialidades: Traumatología y Cirugía Ortopédica, Rehabilitación, Dermatología, Ginecología, Oftalmología y Cirugía Maxilo-Facial.

Para el presente estudio se incluyeron PRP sometidos entre 1 y 3 ciclos de congelación descongelación. Además, en algunos casos, se prepararon muestras para el análisis comparativo de la congelación rápida (mediante inmersión en nitrógeno líquido durante varios minutos) frente a la habitualmente utilizada (en congelador a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$). En ambos casos, el almacenamiento final de las muestras se verificó a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. En la figura 10 se muestra un esquema a modo resumen del procedimiento descrito en este apartado.

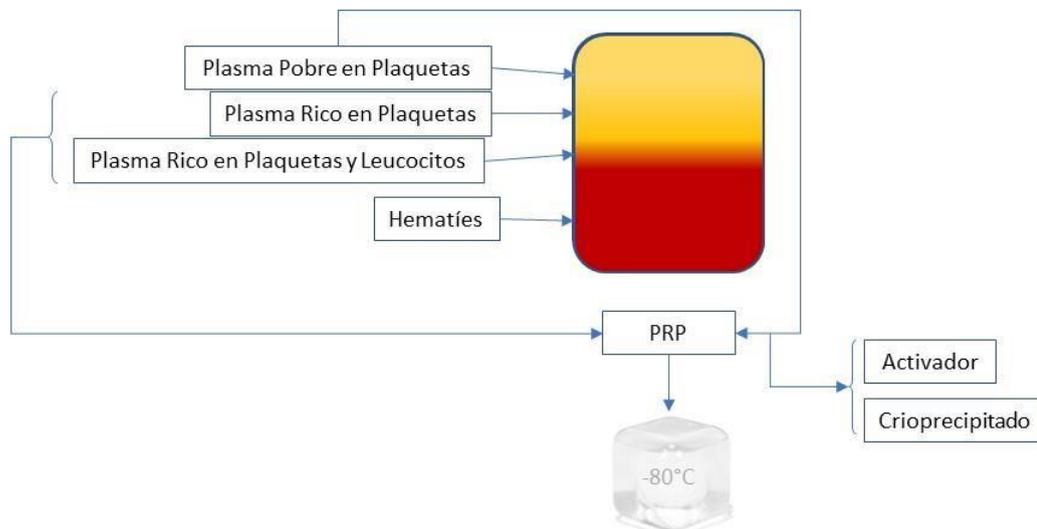


Figura 5. Diagrama del procedimiento de obtención del PRP y de la utilización del plasma pobre en plaquetas para generar plasma rico en plaquetas, activador y crioprecipitado.

3.3 HEMATIMETRÍA

Para la hematimetría se utilizó el contador celular mindray BC-3600 (Figura 11). El funcionamiento de este aparato está basado en la evaluación de la impedancia para discriminar el número y tipo de elementos formes de la sangre. Esta metodología es capaz de detectar cambios en la resistencia eléctrica producidos por los diferentes componentes sanguíneos. Estos cambios generan un pulso eléctrico, cuya amplitud se corresponde al tamaño de la célula, y el número de pulsos determina la concentración de los elementos parametrizados (Mindray, 2015). De este modo, se analizaron diferentes variables asociadas a los componentes sanguíneos.

En lo que respecta al presente estudio, se registraron los siguientes parámetros, asociados a cada tipo celular: plaquetas (concentración y tamaño (valor medio y rango)), glóbulos rojos (concentración), glóbulos blancos (concentración y frecuencia de cada tipo). Además, se han utilizado los histogramas referidos a la población plaquetaria y a la serie blanca.



Figura 6. Contador celular utilizado para la hematimetría (modelo mindray BC-3600). FUENTE: Mindray.com.

Para complementar este tipo de estudio, se analizaron también algunas muestras mediante citometría de flujo (anejo 3).

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS 23.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA, 2002). Se realizó un análisis de correlaciones de Pearson entre las variables sanguíneas iniciales, las obtenidos tras cada ciclo de congelación, la edad, el sexo y el tiempo de almacenamiento.

Los efectos del sexo (M, H), grupo sanguíneo (A+, A-, B+, B-, AB+, AB-, 0+ y 0-) y su interacción sobre las variables sanguíneas (Plq, GB, GR, PDW, MPV, Gran y Linf) fueron analizados mediante un modelo lineal general en el que se incluyó la edad como covariable.

El efecto del ciclo de congelación (1,2 y 3) sobre las variables Rec Plq, dif GB, dif GR, dif PDW, dif MPV, dif Gran, dif Linf y Activ se analizó mediante un modelo lineal general que incluyó como covariable los días de almacenamiento.

Por último, se evaluó el efecto del tipo de congelación (-80°C frente a congelación rápida utilizando nitrógeno líquido) sobre las variables Rec Plt, dif GB, dif GR, dif PDW y dif MPV mediante un modelo lineal general.

El test Bonferroni fue utilizado para la comparación de las medias.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 SISTEMA DE RECUPERACIÓN DE LA INFORMACIÓN

El análisis de la bibliografía consultada sugirió el abordaje de los siguientes temas para conocer su influencia en las diferentes metodologías asociadas al uso clínico del plasma rico en plaquetas.

4.2 TERMINOLOGÍA

La Sociedad Internacional de Medicina Celular (ICMS, 2011) ha creado una guía con recomendaciones destinadas a uniformizar diversos aspectos vinculados al empleo clínico del PRP: definición, procesamiento, seguridad, acreditación profesional, formación, infiltración, seguimiento (evaluación de resultados), registro de datos, indicaciones y contraindicaciones (absolutas y relativas) (Harmon *et al.*, 2011).

La denominación del producto se presenta como un aspecto fundamental a la hora de establecer las bases para una estandarización del uso de este recurso terapéutico. En España, en el informe V1/23052013 de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS, 2013) se define PRP como «un volumen de plasma autólogo que contiene una concentración de plaquetas superior al nivel basal (150.000-350.000/ μ L)». En dicho informe también se afirma que «atendiendo a la composición del plasma rico en plaquetas, el mecanismo de acción postulado, así como a sus fines o indicaciones, cabe considerar la aplicación del PRP como un medicamento de uso humano». Sin embargo, cuando el PRP se somete a procesos que pueden comprometer la integridad de sus componentes, como sucede en el CTCV con la congelación y descongelación, el marco conceptual se complica. Con el fin de buscar respuestas, se analizaron diferentes propuestas de modelos de clasificación.

Dohan Ehrenfest *et al.* (2014) se encuentran entre los autores que más han insistido en la necesidad de establecer unas prácticas debidamente consensuadas. Sugieren el nombre de «plasma rico en plaquetas puro» o bien «plasma rico en plaquetas y pobre en leucocitos», ambos bajo el acrónimo P-PRP. Este producto se puede utilizar en fase líquida o gel (coagulado). En este mismo entorno conceptual han situado al «plasma rico en factores de crecimiento», el PRGF® utilizado como marca registrada por el laboratorio de Eduardo Anitua, y la «fibrina rica en plaquetas» (PRF) de Vivostat. La presencia de glóbulos blancos sí sería, en opinión de Ehrenfest, un factor que definiría un producto diferente, «el plasma rico en plaquetas y leucocitos». Un tercer apartado correspondería a la «fibrina rica en plaquetas pura», que genera una red de fibrina de alta densidad. La adición de glóbulos blancos a este último producto daría lugar a la cuarta categoría «fibrina rica en plaquetas y glóbulos blancos».

El citado artículo de Ehrenfest aporta además referencias a otros modelos de clasificación, por lo que resulta de especial interés para este tema en particular. Así, Mishra *et al.* (2012) propusieron una clasificación basada en las mismas variables, es decir, glóbulos blancos y coagulación. Por otro lado, el sistema PAW (plaquetas, activación, glóbulos blancos) fue propuesto para organizar y comparar resultados en la literatura, e insiste en la cantidad de plaquetas (esta vez como número absoluto), el modo de activación de las plaquetas y la presencia de glóbulos blancos (DeLong *et al.*, 2012).

En ese interés por reflejar con precisión el contenido y tipo de producto en la denominación se fueron añadiendo otros sistemas. Mautner *et al.* (2015) sugirieron la clasificación PLRA, denominada con este acrónimo en base a las variables a tener en consideración: concentración de plaquetas (P), contenido de glóbulos blancos (L), presencia de glóbulos rojos (R) y activación (A). La clasificación MARSPILL, propuesta por Lana *et al.* (2017) aumenta el número de parámetros a tener en cuenta. Así, se añaden a los ya citados anteriormente, el método de obtención, el factor por el que se multiplica la concentración plaquetaria basal, el número de centrifugaciones, la infiltración guiada por imagen.

Sin embargo, ninguno de estos modelos responde al criterio que se debería aplicar al producto generado en el CTCV, ya que no se aborda el efecto de la congelación y descongelación del PRP. Por esta razón, se estimó conveniente añadir el concepto de lisado plaquetario, asumiendo que la congelación simple, sin adoptar medidas crioprotectoras, conllevaría un proceso de criofractura y, consecuentemente la liberación del contenido de los elementos presentes en el PRP. Además de esa liberación forzada por la lisis mecánica (mediada por los cristales de hielo) tampoco es descartable que algunas plaquetas se pudieran activar durante el procesamiento y mostrar una desgranulación por mecanismos fisiológicos. Por lo tanto, en función de cómo se obtenga el secretoma plaquetario, la terminología anglosajona distingue entre *releasate* (para explicar la desgranulación fisiológica) y *lysate* (para referirse a la liberación forzada por mecanismos líticos). Por todo lo expuesto, surge de nuevo el concepto de «plasma rico en factores de crecimiento» (PRFC, ya citado anteriormente).

Con esta argumentación, resulta inevitable plantearse la siguiente pregunta ¿Qué es mejor, utilizar el PRP fresco (con las plaquetas intactas) o el plasma con el contenido plaquetario ya solubilizado en el mismo? Ciertamente, es frecuente encontrar estudios dirigidos a justificar el potencial terapéutico del PRP (como se verá más adelante) efectuados con cultivos celulares *in vitro*, utilizando el secretoma plaquetario como suplemento para un medio de cultivo basal.

Entre las principales ventajas del PRFC frente al PRP fresco, hay que destacar que puede almacenarse por congelación durante años sin perder su eficacia; por otro lado, es un producto que puede ser sometido a filtración, de modo que se eliminaría su antigenicidad. Esta última característica abriría las puertas a un eventual uso alogénico. Posteriormente, se comentarán las connotaciones de esta particularidad.

4.3 UMBRAL TERAPÉUTICO

Otra de las variadas cuestiones que se plantean con el uso del PRP es si su efecto terapéutico es dosis-dependiente, en función de la concentración plaquetaria. Este es un parámetro con un relativamente amplio rango fisiológico (como ya se ha comentado, entre 150.000 y 350.000 plaquetas/ μ L). Como consecuencia de ello, el rendimiento en la recuperación de plaquetas para la generación del PRP puede reflejar también estas diferencias.

Sin lugar a dudas, una de las referencias más citadas en la literatura en la que se aborda esta temática es la de Marx (2004). Este artículo ha sido citado en 158 ocasiones (consulta realizada en PubMed, el 22 marzo de 2024). En el mismo, este autor establece como umbral para conseguir efecto terapéutico una concentración de 10^6 plaquetas/ μ L. No obstante, para llegar a esta conclusión, Marx se basa en los resultados de dos estudios que seguidamente se comentan con detalle.

El primero se corresponde con un extracto de una conferencia presentada en una reunión científica por Haynesworth et al. (2002). Se trata de los resultados de un estudio *in vitro* utilizando el sobrenadante de PRP coagulado como suplemento del medio (es decir, un PRFC). Si bien la concentración de plaquetas utilizada soporta la argumentación de Marx, la dilución del PRFC en el medio basal (10%-20%) devolvería la concentración del contenido plaquetario al valor basal (en la sangre total). La búsqueda de un artículo publicado por este autor con el desarrollo de dicho estudio ha resultado infructuosa.

En el segundo, Liu *et al.* (2002) analizó, también en un estudio de cultivo celular *in vitro*, el efecto de lisados plaquetarios añadidos como suplemento al medio basal. Por lo tanto, de nuevo se efectuó dilución, hasta valores que aproximarían la concentración del contenido plaquetario a valores basales. Por otro lado, este autor también observó en el mismo estudio que una concentración elevada del lisado se asociaba con un efecto negativo sobre el desarrollo del cultivo celular (Figura 12).

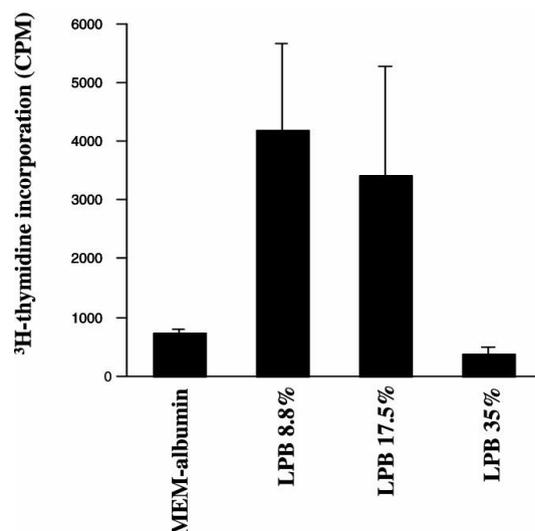


Figura 7. Adición de lisado plaquetario (LPB) al 8,8, 17,5 y 35% a células en cultivo (AG1518). El grupo control fue expuesto a 4% de albumina en MEM. Se evaluó la incorporación de ³H-timidina en macromoléculas como indicación del crecimiento celular. Figura adaptada de Liu *et al* (2002).

4.4 ANTICOAGULANTES

El tipo de anticoagulante utilizado en la extracción de la sangre total es un factor a considerar a la hora de utilizar PRP. Los agentes más comunes utilizados para esta finalidad son el EDTA, el ACD y el citrato sódico. La estrategia utilizada para prevenir la coagulación se basa en su capacidad para unirse a los iones calcio, ya que estos son necesarios para el desencadenamiento del proceso de coagulación.

El EDTA es un potente anticoagulante. Do Amaral *et al.* (2016) han afirmado que presenta un mayor rendimiento que el ACD en la recuperación plaquetaria. Estos mismos autores también señalaron un incremento en el tamaño de las plaquetas al seguir un protocolo con EDTA y dos centrifugaciones. Dicho cambio podría manifestar un fenotipo activado. También, Aster (2013) describió una transformación morfológica de un aspecto discoidal a uno esférico irregular al utilizar EDTA. White (2000) afirma que el EDTA podría inducir alteraciones morfológicas, bioquímicas y funcionales irreversibles en las plaquetas que condicionarían su funcionalidad. Sin embargo, Lei *et al.* (2009) observaron que el EDTA sí mantiene la integridad plaquetaria, sin riesgo de activación espontánea e incrementando el período de liberación de los factores.

El ACD es el anticoagulante de elección en las donaciones de sangre y es el más comúnmente utilizado en las preparaciones de PRP. Su utilización permite mantener la capacidad de respuesta de las plaquetas y su integridad estructural. De esta manera, se evitaría la activación espontánea de las plaquetas. No obstante, presenta una menor efectividad que el EDTA en la reducción de la agregación de plaquetas.

4.5 SISTEMAS AUTOMATIZADOS COMERCIALES

Precisamente para proporcionar una estandarización del procesamiento de sangre para obtener PRP, diversos laboratorios han desarrollado una notable variedad de sistemas automatizados. Entre ellos, por ejemplo, encontramos:

- GPS (Biomet, Warsaw, IN).
- SmartPrep2 (Harvest Technologies Corp., MA, USA).
- Symphony II (DePuy, IN, USA).
- Fibrinet (Cascade Medical Enterprises, Plymouth, UK).

- Vivostat (Vivostat A/S, Borupvang, Denmark).
- Arthrex (Naples, FL, USA).
- Endoret (BTI Biotechnology Institute, Vitoria, Spain).

En la tabla 1 se encuentran las características de algunos de ellos. En el caso del CTCV se optó por una metodología «casera» para ofrecer flexibilidad de procesamiento en función del tipo de presentación más adecuado a cada indicación clínica.

Tabla 1. Lista de sistemas automatizados y sus características: nombre del dispositivo, denominación del producto obtenido, factor por el que se incrementa la concentración basal, recuperación plaquetaria y el contenido del producto preparado. Nota: ACP, plasma concentrado autólogo; PCP, plasma concentrado de plaquetas; PRF, fibrina rica en plaquetas; PRFM, matriz de fibrina rica en plaquetas; PRGF, plasma rico en factores de crecimiento; PRP, plasma rico en plaquetas; RBC, glóbulos rojos; WBC, glóbulos blancos. Tabla adaptada de Engebretsen *et al.* (2011).

Technology summary	Device name	Name of product	Increase in platelet no per ml above baseline	Platelet recovery (%)	Prepared product content
Floating buoy or shelf	Biomet GPS	PCP	3.2×	70	Buffy coat product: concentrated platelets, WBC fractions and minimal amount of RBC
	Harvest	PRP	4.6×	72	
	SmartPrep2		4.0×		
	BMACDepuy		4.0×		
	Symphony II				
Cell-saver-based systems	Electa,	PRP	4–6×	75	Platelet concentrate only
	Haemonetics, CATS, BRAT				
Computer aided system	Sorin Angel	PRP	4.3×	70	Buffy coat product: concentrated platelets, WBC fractions and minimal amount of RBC
	Arteriocyte Medical (Magellan)	PRP	5.1×	76	
Standard centrifugation	Autologel system	PRP	1–2×	78	Platelet in plasma suspension with minimum white cells and low concentration of platelets
	Smart PRP				
	Cascade PRFM fibrinet system	PRFM	1–2×	78	
Direct siphoning	Choukroun's PRF	PRF	1–2×	70	Leucocyte and platelet rich fibrin
	Genesis CS	PRP	6×	68	
Direct aspiration	Secquire	PRP	1.6×	31	Manual aspiration of platelet and plasma after centrifuging
	Arthrex ACP	ACP			
Platelet separation	Vivostat	PRF	6×	65	Platelet-rich fibrin Fibrin sealant without platelet
		Fibrin sealant			
Platelet filtration	Caption	Platelet concentrate	4.3×	–	Concentrated platelets without plasma

4.6 PRESENCIA DE GLÓBULOS BLANCOS

Uno de los puntos sujeto a mayor debate es el que se refiere al papel de los glóbulos blancos en el PRP. Entre ellos, podemos distinguir los granulocitos (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y células mononucleares (linfocitos, monocitos y macrófagos).

Entre los defensores de la presencia de estas células en el PRP cabe destacar a Dohan Ehrenfest *et al.* (2014), Akbarzadeh *et al.* (2021), Lincoln *et al.* (1995) y Sonker y Dubey. (2015). Apoyaron su argumentación en el plus de factores de crecimiento que pueden añadir a los derivados de las plaquetas, además de liberar mediadores con efecto analgésico, promover la neovascularización y ofrecer actividad antimicrobiana.

Por el contrario, el estudio realizado por Giusti *et al.* (2014) no encontró diferencias significativas en la concentración de factores de crecimiento entre PRP rico y pobre en leucocitos. A su vez, Mariani *et al.* (2015) obtuvieron el mismo resultado que los autores anteriores, sugiriendo que moléculas responsables de esta actividad proceden principalmente de las plaquetas.

Anitua *et al.* (2015) sugirieron que la presencia de glóbulos blancos en el gel no es deseable, ya que incrementan la actividad inflamatoria y la degradación de la matriz en un entorno inflamatorio, disminuyendo la proliferación celular. Boswell *et al.* (2012) observaron que, especialmente los neutrófilos, están significativamente asociados con un mayor contenido de citoquinas catabólicas en la preparación de PRP y con la consiguiente pérdida de matriz tendinosa y aumento en la síntesis de citoquinas catabólicas en los tendones. Por lo tanto, se ha sugerido evitar un aumento en el número de neutrófilos.

Los glóbulos blancos no afectan en conjunto de la misma manera al PRP, es decir, cada subgrupo de glóbulos blancos tiene un efecto propio. Según A. Everts. (2019) los linfocitos producen factores de crecimiento similares a la insulina y pueden contribuir a la remodelación del tejido. Los monocitos, por su parte, llevan a cabo roles importantes en la curación de tejidos. Por otro lado, los macrófagos M1 son responsables de producir varias citoquinas inflamatorias que apoyan la defensa del huésped mediante la eliminación de patógenos, la eliminación de tejido necrótico y la generación de especies reactivas de oxígeno, así como de la producción de VEGF y FGF. Mientras que el fenotipo M2 presenta propiedades antiinflamatorias y contribuyen a la síntesis de precursores del colágeno y del factor estimulante de los fibroblastos. Los neutrófilos, por su parte, son los más conflictivos. Pueden ser beneficiosos en el tratamiento de heridas para destruir las bacterias presentes. No obstante, si la concentración de neutrófilos es muy alta se convierte en un riesgo de inflamación progresiva debido a las proteasas y ROS liberados.

En la experiencia del CTCV, durante la obtención del PRP es posible limitar la presencia de glóbulos blancos de modo selectivo. Cuando se centrifuga la sangre total, como se vio anteriormente, se organizan una serie de estratos y, además de las plaquetas, se puede enriquecer el producto con linfocitos «apurando» en la recogida sobre los hematíes compactados. Los granulocitos quedan en un nivel inferior y apenas aparecen el PRP. Por otro lado, estos granulocitos residuales son mayoritariamente destruidos durante la congelación. En un estudio *in vitro* desarrollado en el laboratorio del CTCV (pendiente de publicación) se ha puesto de manifiesto que, al menos en el caso del lisado plaquetario (el PRFC), la presencia de glóbulos blancos en PRP utilizado como materia prima estimuló significativamente la proliferación celular, en comparación con el PRP pobre en leucocitos.

4.7 PRESENCIA DE GLÓBULOS ROJOS

Especialmente cuando se pretende obtener un PRP con glóbulos blancos es inevitable que la proximidad de los glóbulos rojos, compactados en el estrato inferior del recipiente tras la centrifugación, puedan hacer también acto de presencia en el producto final. La presencia de glóbulos rojos en el PRP resulta controvertida con autores que se posicionan a favor y autores que se posicionan en contra.

Fredikksen *et al.* (2002) observaron en sendos estudios sobre el efecto de las células de la serie roja que inducían la secreción de fibronectina y de metaloproteasa-2, proteínas involucradas en el proceso de regeneración tisular. Por otro lado, también asociaron a su presencia una aceleración de la contracción *in vitro* de geles de colágeno, mediada por fibroblastos. No obstante, si su concentración es significativa, su presencia puede alterar la estructura de la red de fibrina generada durante el proceso de coagulación, modificando las propiedades mecánicas del coágulo e influyendo sobre el comportamiento celular, por ejemplo, limitando la proliferación e induciendo apoptosis (Gersh *et al.*, 2009). Teniendo presente que otros autores han mostrado que

la presencia de glóbulos rojos parece inducir fibrosis en el vítreo (Katakami et al., 1986), el efecto observado podría depender del tipo de tejido o de entorno biológico en el que se desarrolla.

Por su parte, A. Everts, (2019) consideró que el uso de PRP que contiene glóbulos rojos debe evitarse en estrategias de cicatrización de heridas para prevenir la ruptura de la herida. La eritrolisis, similar a la apoptosis, resulta en la liberación del factor activador de plaquetas (PAF) involucrado en el control de la inflamación. De manera que se desarrolla este proceso fisiológico y, consecuentemente, una respuesta de estrés intracelular que perjudica la cicatrización de la herida. En cualquier caso, parece razonable utilizar una estrategia dirigida a limitar, en la medida de lo posible, la presencia de glóbulos rojos en el PRP.

4.8 CICLOS DE CONGELACIÓN-DESCONGELACIÓN

Como ya se ha comentado anteriormente, una de las modalidades de uso terapéutico del PRP consiste en extraer el contenido plaquetario, obteniendo un PRFC, prescindiendo de los elementos formes de la sangre (ver 5.1). Esto se puede conseguir ya sea mediante activación plaquetaria, para inducir la desgranulación fisiológica, o bien mecánicamente, mediante procedimientos físicos (por ejemplo, ciclos de congelación-descongelación, sonicación o electroporación, entre otros).

Cuando se utiliza el PRP fresco, el método de elección para conseguir este efecto es la activación, generalmente con el uso de calcio (para contrarrestar el efecto del anticoagulante). Por otro lado, cuando se utilizan metodologías mecánicas, la congelación es la más frecuentemente utilizada. Y, nuevamente, este es otro aspecto sujeto a discusión. No está claro el número adecuado de ciclos de congelación-descongelación, ni tampoco si la velocidad del enfriamiento debe ser tenida en consideración (De Korte *et al.*, 2024).

En general, parece que el uso de al menos un par de ciclos sería una estrategia razonable. Se ha observado que tras un primer ciclo de congelación se lisaban únicamente el 25 % de las plaquetas, mientras que esta cifra se elevaba al 50 % tras el segundo. Por el contrario, un tercer ciclo no aportaba mejora significativa en la eficacia (Baik *et al.*, 2014), (Laitinen *et al.*, 2016).

Otros autores han sugerido la realización de un máximo entre 3 a 5 ciclos, con el fin de optimizar la concentración de factores de crecimiento. No obstante, también es cierto que indicaban el riesgo de deterioro molecular si se sobrepasaba el límite (Strandberg *et al.*, 2017).

El número de ciclos puede afectar a la concentración de factores de crecimiento en el PRP. Según los autores anteriores, la concentración de EGF, PDGF y PF-4 aumentó con el número de ciclos, mientras que la concentración de TGF-B1 y FGF-2 siguió creciendo hasta llegar al quinto ciclo, una vez sobrepasado comienza a decrecer. En cambio, la concentración de VEGF y BMP-2 se mantienen constantes independientemente del número de ciclos. Por otro lado, Durante *et al.*, (2013) encontraron una ligera disminución en los valores de las isoformas de PDGF tras repetidos ciclos, mientras que en el caso de TGF-B1 se producía un aumento. Por el contrario, Roffi *et al* vieron una disminución con el número de ciclos tanto de PDGF como de TGF-B1, aumentando aún más la controversia al respecto.

Aparte del número de ciclos utilizados, también se ha sugerido que la eficacia del producto descongelado podría verse comprometida por el hecho de que, para alcanzar el estado bioactivo, los factores de crecimiento interactúan con histonas y cadenas laterales de carbohidratos durante el proceso fisiológico de desgranulación (Roffi *et al.*, 2014). De hecho, se ha observado que el PRP obtenido mediante activación plaquetaria con trombina incrementó significativamente la proliferación celular *in vitro*, en contraste con el uso de PRP sometido a congelación/descongelación (Bernardi *et al.*, 2017).

No obstante, lo cierto es que el lisado plaquetario obtenido tras congelación-descongelación es ampliamente utilizado como suplemento para medios de cultivo *in vitro* con resultados satisfactorios en cuanto a proliferación celular se refiere (Oeller *et al.*, 2021).

4.9 CORRELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE PLAQUETAS Y LA DE FACTORES DE CRECIMIENTO

Como ya se ha comentado, durante la activación, las plaquetas experimentan un cambio conformacional hacia un fenotipo dendrítico y la liberación del contenido de sus gránulos. Aunque pudiera parecer obvio que la concentración de los factores de crecimiento se correspondiera con la de plaquetas, también este es un aspecto no exento de controversia. En general, en la bibliografía consultada hay una tendencia a considerar que sí hay una correlación positiva, pero selectivamente para algunos de los factores de crecimiento (Sonker y Dubey, 2015) (Marck *et al.*, 2014). Las concentraciones de PDGF, TGF- β 1, EGF, VEGF, IGF son habitualmente utilizadas para este fin, aunque el secretoma plaquetario contiene cientos de moléculas diferentes. También hay casos en los que no se encontró dicha correlación (Weibrich *et al.*, 2003).

Se han detectado variaciones interindividuales en la presencia de algunos de estos factores para una misma concentración plaquetaria (llegando a cuantificarse la diferencia en un factor de 25) (Mazzucco *et al.*, 2009). También el tipo de activación utilizado (calcio y trombina, o colágeno) puede generar este tipo de diferencias (Cavallo *et al.*, 2016). Por otro lado, también hay que tener en consideración que algunos factores pueden estar representados en el propio plasma en el que se suspenden las plaquetas (Amable *et al.*, 2013).

Otro factor que podría explicar esta variabilidad es que, en algunos casos, la liberación del secretoma no se verifique directamente en el plasma sino contenido en partículas celulares. Se pueden clasificar, según la Sociedad Internacional de Vesículas Extracelulares (ISEV), como: cuerpos apoptóticos, microvesículas (liberadas por gemación de la membrana plasmática) y exosomas (encontrados en los cuerpos vesiculares y liberados por su fusión con la membrana plasmática). Estas estructuras, utilizadas como mecanismos de comunicación intercelular podrían “ocultar” factores de crecimiento que no serían detectados por los sistemas de evaluación de su presencia como moléculas solubles (Marck *et al.*, 2014).

4.10 CONTADOR CELULAR

El siglo pasado, los hermanos Coulter desarrollaron una metodología, basada en el principio que se denominó con su apellido, utilizando la impedancia eléctrica para la adherencia de la pintura al casco de los barcos de guerra. Posteriormente, se aplicó al análisis hematológico. La resistencia de cada partícula al paso por un campo eléctrico genera una diferencia de potencial. Este parámetro es utilizado para determinar el número y volumen de la citada partícula. Por su parte, en los analizadores ópticos, las partículas pasan a través de un haz láser. La dispersión de luz es el parámetro que permite la evaluación de recuentos y volumetrías.

Una limitación relevante es que la precisión de estos aparatos puede verse comprometida cuando la muestra contenga diferentes tipos de partículas con tamaños similares. Como veremos más adelante, la capacidad de discriminación cuando se procesan muestras con elementos que pueden alejarse de los parámetros fisiológicos (como es el caso del PRP sometido a congelación/descongelación) se ve afectada. Los restos celulares generados tras la descongelación, ya se encuentren agregados o no, parecen ser los principales responsables de este efecto (Zandecki *et al.*, 2007).

En un estudio comparativo realizado con dos dispositivos que utilizaban impedancia (Advia 120 y Sysmex XE 2100) frente a uno óptico (LH 750), se observaron diferencias en los recuentos (Sandhaus *et al.*, 2002). Además, se determinó que la estabilidad (definida como la capacidad de una muestra para mantener el valor inicial de una cantidad medida durante un período definido

dentro de límites específicos cuando se almacena bajo condiciones definidas) variaba en función de la temperatura, el tiempo de almacenamiento y el dispositivo utilizado (Imeri *et al.*, 2008).

Ya se ha comentado que el anticoagulante utilizado puede condicionar el resultado del PRP. Pues bien, también puede influir en los resultados del recuento celular. Se ha descrito la detección de trombocitopenia y la aparición de satelitosis plaquetaria, es decir, la adherencia de plaquetas a neutrófilos polimorfonucleares maduros, y ocasionalmente a otras células que rodean a los glóbulos blancos ante la utilización de EDTA (Zandecki *et al.*, 2007).

4.11 PERFIL DEL PACIENTE

La amplia difusión del uso del PRP como recurso terapéutico para una gran variedad de indicaciones clínicas hace que, al realizar revisiones bibliográficas, trascienda su papel como panacea en el tratamiento de muy variadas patologías.

Una proporción significativa de los PRP se utilizan para tratar patologías degenerativas en pacientes de edad avanzada. Como se ha comentado anteriormente, además del secretoma plaquetario, no hay que olvidar que el plasma en el que se resuspenden las plaquetas también incorpora mecanismos de señalización celular, que pueden tener trascendencia clínica.

En relación con el envejecimiento, López-Otín *et al.* (2013) le asociaron 9 aspectos destacables: inestabilidad genómica, acortamiento de telómeros, alteraciones epigenéticas, pérdida de proteostásis, detección desregulada de nutrientes, disfunción mitocondrial, senescencia celular, agotamiento de células madre y comunicación intercelular alterada (Figura 13). Una de las consecuencias de estos procesos es la inducción de un estado proinflamatorio de bajo grado que podría favorecer la aparición de enfermedades como osteoartritis, osteoporosis o cáncer. En esta misma línea se ha descrito el concepto de *inflamm-aging*, como el estado proinflamatorio que ocurre con el aumento de la edad (Franceschi *et al.*, 2000), que puede también condicionar el proceso de reparación tisular (A. Everts, 2019).



Figura 8. Rasgos Distintivos del Envejecimiento. En el esquema se enumeran los nueve rasgos distintivos del envejecimiento: inestabilidad genómica, acortamiento de telómeros, alteraciones epigenéticas, pérdida de proteostásis, detección desregulada de nutrientes, disfunción mitocondrial, senescencia celular, agotamiento de células madre y comunicación intercelular alterada. Figura adaptada de López-Otín *et al.* (2013)

Como un ejemplo basado en evidencias clínicas, Greene y Lóese, (2015) observaron una correlación entre marcadores sistémicos de inflamación y, el dolor y la función en adultos mayores

con artrosis de rodilla (OA). Los condrocitos sufrirían senescencia celular ante estrés repetitivo en los tejidos.

Por ello, se ha planteado la idea del beneficio que podría tener la administración de PRP procedente de personas jóvenes en personas de edad avanzada. En el modelo de parabiosis heterocrónica, en el que dos animales son quirúrgicamente suturados para crear un sistema circulatorio compartido (Figura 14), se observan los efectos positivos de los factores circulatorios procedentes de individuos jóvenes.

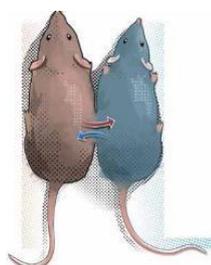


Figura 9. Representación conceptual de la parabiosis heterocrónica en un modelo de dos ratones. Fuente: CERCA DEL LETEO, 2016.

De hecho, Chowdhary *et al.* (2023) observaron que la administración de PRP «joven» tenía propiedades restauradoras en condrocitos osteoartroticos y, en consecuencia, presentaban características propias de condrocitos jóvenes. También, observaron en un estudio *in vivo* que la administración de PRP de individuos jóvenes presentaba un efecto protector de los condrocitos en ratones de edad avanzada. En la misma línea, O'Donnell *et al.* (2019) observaron que el perfil de expresión génica de PRP procedente de individuos de edad avanzada dificultaba la síntesis de la matriz de condrocitos e incluso, favorecía la inflamación mediada por macrófagos.

Esta práctica supondría modificar el tradicional uso autólogo del PRP por el alogénico. Lógicamente, esta propuesta conllevaría dos riesgos que deberían ser controlados. Por un lado, las enfermedades transmisibles, aunque la implementación de técnicas de detección de ácidos nucleicos en los centros de transfusión, así como la experiencia de estos centros en la selección de donantes, ha minimizado su incidencia en los últimos años. El segundo, la inevitable carga antigénica asociada al PRP y la consecuente respuesta del sistema inmunológico. Las plaquetas expresan antígenos de grupo sanguíneo y HLA, y los glóbulos blancos son inmunocompetentes. Y es en este punto cuando el lisado plaquetario o PRFC se presenta como alternativa para abordar este tipo de uso, ya que puede ser sometido a procesos de desantigenización (como el filtrado) eliminando las células y su material residual.

4.12 DIFICULTADES PARA LA ESTANDARIZACIÓN

En algunas ocasiones, la problemática tiene su origen bien en la falta de información relevante sobre los materiales y las metodologías utilizados, o bien, se debe simplemente a diferencias de base. Seguidamente, se resumen aquellos factores que pueden contribuir a dificultar la estandarización del uso clínico del PRP:

- **Materia prima:** se puede partir de una muestra de sangre total o bien de una plaquetoaféresis, resultando más compleja la extracción, pero simplificando el procesamiento del PRP.
- **Tipo de anticoagulante:** como ya se ha comentado, puede haber diferencias con el uso de EDTA o ACD.
- **Centrifugación:** hay metodologías basadas en una centrifugación y otras en dos. Hay que tener en cuenta que cada proceso conlleva un cierto riesgo de activación plaquetaria (lo que podría suponer la pérdida de secretoma cuando se retira el sobrenadante para la concentración final del producto. Por otro lado, los protocolos de centrifugación varían en la fuerza centrífuga relativa aplicada y el tiempo de ejecución. En ocasiones, se cita el valor en rpm lo que, si no se acompaña del valor del radio de giro, dificulta su

reproducción. El volumen de sangre procesado y el tipo de recipiente que la contiene también puede tener influencia en el resultado.

- Concentración de plaquetas: ya se ha comentado que hay variación interindividual, con un rango fisiológico relativamente amplio. En algunos casos, el enriquecimiento plaquetario se expresa simplemente como el factor por el que se incrementa la concentración basal, lo que podría desvirtuar la eficacia del procedimiento.
- Concentración de factores de crecimiento: el elevado precio de los *kits* de evaluación limita su uso. Resultaría de gran utilidad que se establecieran una serie de factores como referentes. Un análisis de 25 referencias bibliográficas en las que se detectaba la presencia de estos factores reportó el siguiente resultado de frecuencia de aparición en número de artículos: TFG- β (60%), PDGF-AB (60%), IGF (56%), PDGF-BB (44%), bFGF (44%), VEGF (40%), PDGF-AA (20%), HGF (12%). Teniendo en cuenta que el efecto de un determinado factor puede estar condicionado por su concentración, llegando incluso a ofrecer consecuencias antagónicas, se trata de un parámetro con trascendencia clínica.
- Glóbulos blancos y glóbulos rojos: se debe indicar si estas células se encuentran presentes en el PRP y, en caso afirmativo, conocer su concentración. Por otro lado, el hematocrito (porcentaje de volumen correspondiente a los eritrocitos en la muestra), también sujeto a variación interindividual, podría condicionar el resultado del proceso de centrifugación. Dependiendo de la amplitud del estrato ocupado por estas células, el radio de giro que afecta a la zona donde se agrupan las plaquetas durante la centrifugación podría variar (mayor hematocrito, menor radio).
- Producto final: como ya se ha comentado en el apartado terminológico, el contenido del producto generado puede condicionar su uso clínico.
- Aplicación clínica: la pauta terapéutica, tanto en lo que se refiere al volumen como a la periodicidad ofrece una notable diversidad de protocolos. Además de los aspectos relativos a la dosificación, también el tipo de presentación (por ejemplo, en lo que respecta a su configuración (líquido o coagulado) o a la activación previa).
- Evaluación de los resultados: en ocasiones, se compara el PRP con el uso de soluciones salinas, en lugar de otras alternativas comúnmente utilizadas (por ejemplo, el ácido hialurónico en patologías articulares). Otras veces, el estudio carece de grupo control. Además, en algunos casos, la evaluación clínica se basa en tablas estandarizadas (WOMAK, IKDK, VAS...) que valoran el grado de satisfacción del paciente, no exentas de un grado de subjetividad. El tipo de patología tratada (aguda o crónica, por ejemplo) también es importante.

4.13 HISTOGRAMAS COMPARATIVOS

A continuación, se analizaron los histogramas de plaquetas y leucocitos, los cuales representan la distribución de su tamaño en la muestra. Se compararon los histogramas obtenidos en las diferentes etapas del proceso: PRP inicial y tras el primer, segundo y tercer ciclo de congelación-descongelación.

4.13.1 Plaquetas

En la figura 15 se puede observar el gráfico donde se representa la comparación entre los histogramas obtenidos en cada etapa.

Tras el primer ciclo de congelación-descongelación se aprecia un aumento en el tamaño de las plaquetas en prácticamente todo el rango, indicado por el desplazamiento de la curva (verde) hacia la derecha. Además, se produce un incremento en la concentración plaquetaria, lo cual no tiene ninguna explicación fisiológica. Este suceso se debe a limitaciones de la técnica de impedancia del contador celular, que podría confundir partículas de tamaño similar. Tras el segundo y tercer ciclo de congelación-descongelación se muestra una distribución similar a la del PRP inicial. No obstante, presenta un aumento en el número de plaquetas de tamaño grande (>12 fL). En ambos casos, se produce una disminución en la concentración plaquetaria como era de esperar. Los datos de interés se encuentran esquematizados en la tabla 2.

Tabla 2. Valores de la concentración plaquetaria (Plq), volumen plaquetario medio (MPV) y rango de distribución plaquetario (PDW) para el PRP inicial y para el primer, segundo y tercer ciclo de congelación-descongelación.

	PRP inicial	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Unidades
Plq	296	331	260	218	10 ³ /μL
MPV	7,4	9,3	9,3	9,4	fL
PDW	14,7	15,6	16,3	16,8	fL

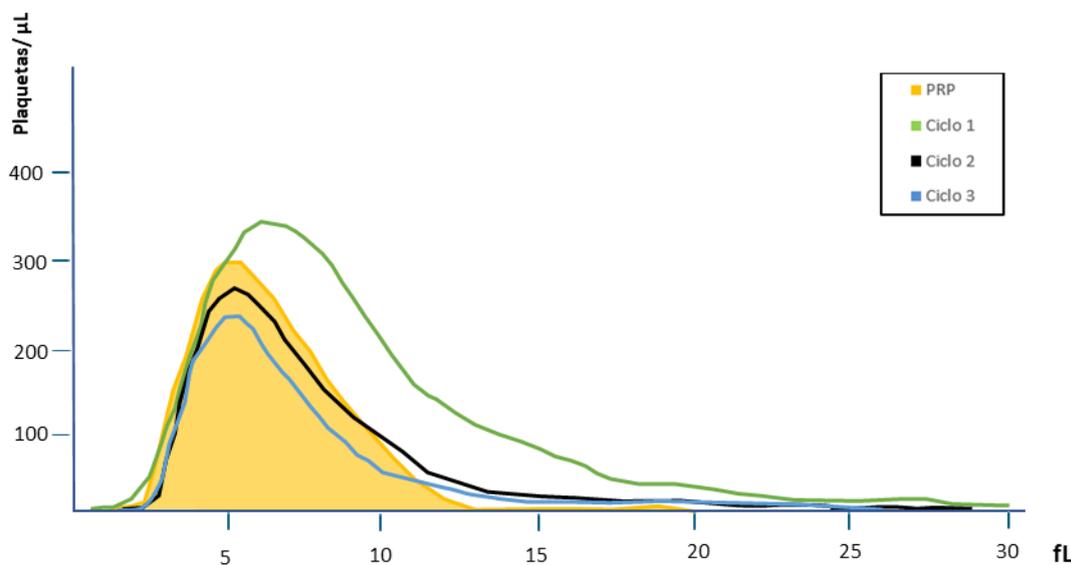


Figura 10. Histograma comparativo de la distribución de tamaño plaquetario entre las etapas: PRP inicial (amarillo), primer ciclo (verde), segundo ciclo (negro) y cuarto ciclo de congelación-descongelación (azul). El eje X corresponde al tamaño plaquetario medido en femtolitros (fL) y el eje Y a la concentración plaquetaria en plaquetas por microlitro.

4.13.2 Glóbulos blancos

En la figura 16 se puede observar gráficamente la comparativa de histogramas. En el PRP inicial se distinguen claramente dos poblaciones leucocitarias en función del tamaño, correspondiendo el primer pico a los linfocitos, mientras que el segundo a los granulocitos. Tras el primer ciclo de congelación-descongelación las dos poblaciones se aproximan notablemente entre sí en la gráfica. En este ciclo también se observa un aumento en la concentración de glóbulos blancos, lo cual no tiene explicación fisiológica. Por lo tanto, se debe a imprecisiones del contador celular como se ha comentado en el apartado anterior. Tras el segundo y tercer ciclo de congelación-descongelación, la inicial separación entre poblaciones desaparece generándose una única referencia que se sitúa en rango dimensional de los linfocitos. Considerando la sensibilidad de los granulocitos a la congelación, resulta coherente la pronunciada disminución observada en su concentración. En la tabla 3 se representan los valores de interés.

Tabla 3. Valores de la concentración de glóbulos blancos (GB), linfocitos (Linf), granulocitos (Gran) y monocitos (Monoc) para el PRP inicial y para el primer, segundo y tercer ciclo de congelación-descongelación. Nota: ND: no detectado.

	PRP inicial	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	Unidades
GB	3,5	3	2,7	2,2	10 ³ /μL
Linf	1,2	2,5	2	2,1	10 ³ /μL
Gran	1,1	0,2	ND	0,1	10 ³ /μL
Monoc	1,2	0,3	ND	0,1	10 ³ /μL

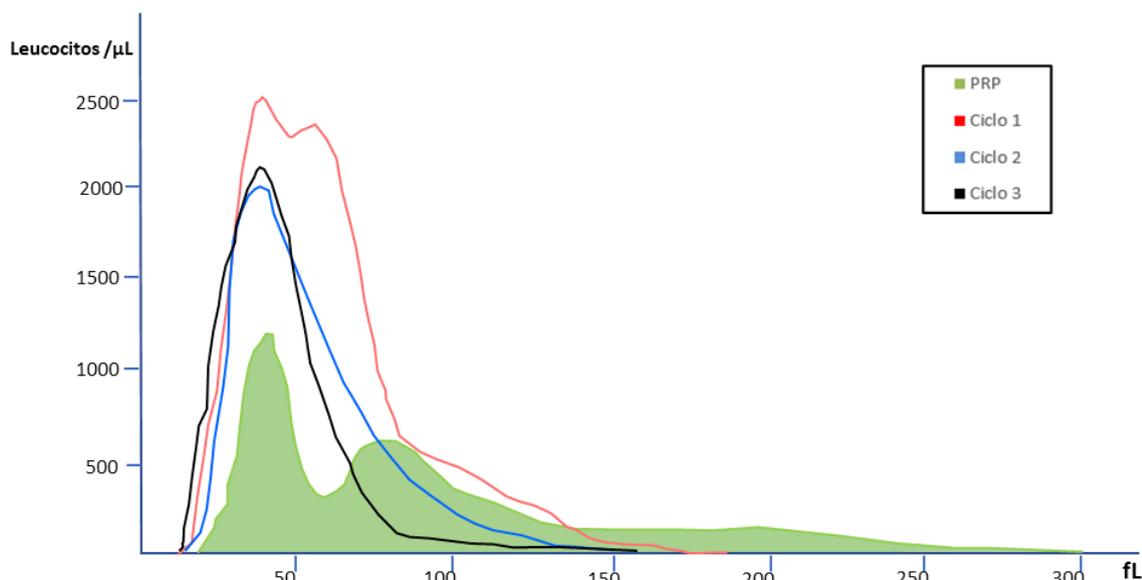


Figura 11. Histograma comparativo de la distribución de tamaño de los glóbulos blancos entre las etapas: PRP inicial (verde), primer ciclo (rojo), segundo ciclo (azul) y cuarto ciclo de congelación-descongelación (negro). El eje X corresponde al tamaño plaquetario medido en femtolitros (fL) y el eje Y a la concentración de leucocitos en leucocitos por microlitro.

4.14 ANÁLISIS DE LOS DATOS DEL PROCESAMIENTO DE PRP EN EL CENTRO DE TRANSFUSIÓN DE VALENCIA.

4.14.1 Edad, sexo y grupo sanguíneo.

En este apartado se analizó el efecto de los factores interindividuales en las variables del PRP inicial. Estas fueron la concentración plaquetaria, de glóbulos blancos y de glóbulos rojos; el volumen plaquetario medio (MPV); el rango de distribución plaquetaria (PDW) y el porcentaje de activación y de granulocitos y linfocitos dentro del total de glóbulos blancos (anejo 4).

Se encontró una correlación negativa entre la concentración plaquetaria y la edad. De forma que la concentración en el PRP inicial disminuye conforme aumenta la edad, con un valor p de 0,009. Por otro lado, el grupo sanguíneo A- mostró diferencias significativas con los grupos A+, AB+, B-, B+, O+, y O- respecto a la concentración de glóbulos blancos. No obstante, como ya se ha comentado previamente, dicha variable depende de la profundidad con la que se «apure» la extracción de la capa leucoplaquetaria. A su vez, este grupo también resultó distinto de A+, B-, B+, O- y O+ respecto al rango de distribución plaquetaria. Por otra parte, no se encontró ninguna diferencia significativa en las variables analizadas entre el sexo masculino y femenino.

Aunque se observaron estos resultados tras el análisis estadístico, podrían responder a una diferencia previa en la sangre total. No obstante, determinar la causa requeriría de estudios adicionales.

4.14.2 Ciclos de congelación-descongelación.

La congelación-descongelación del PRP es el método más ampliamente utilizado para la obtención del lisado plaquetario. En este apartado se analizó el efecto de cada ciclo de congelación-descongelación sobre el PRP. Para ello, se compararon los valores obtenidos en la hematimetría tras el primer ciclo de congelación-descongelación con los del PRP inicial. Seguidamente, se evaluaron los valores del segundo ciclo con respecto a los del primero y, finalmente, se analizaron los del tercero respecto a los del segundo. Las variables analizadas fueron la concentración plaquetaria, de glóbulos blancos y glóbulos rojos; el volumen plaquetario medio; el rango de distribución plaquetario y el porcentaje de granulocitos y linfocitos dentro del total de glóbulos blancos.

Conviene recordar que en el proceso de congelación, debido a la solidificación del agua presente en la muestra, se forman cristales de hielo que tienen el potencial de dañar a los componentes sanguíneos mediante el proceso de la criofractura. En consecuencia, tras la congelación y descongelación se observa una mezcla de fragmentos residuales de componentes sanguíneos, los cuales pueden agregarse entre sí, dificultando la identificación precisa por el contador celular.

Algunos de los resultados obtenidos en este apartado no fueron los esperados, puesto que se produjeron incrementos en la concentración de ciertos componentes sanguíneos, lo cual no presenta ninguna explicación biológica. A continuación, se examinarán detalladamente los resultados obtenidos tras cada ciclo de congelación y descongelación (anexo 4).

4.14.2.1 Primer ciclo de congelación-descongelación

Los resultados de la hematimetría tras el primer ciclo de congelación-descongelación mostraron cambios significativos. Se observó una diferencia significativa en la concentración de los glóbulos rojos con un aumento de $0,015 \pm 0,001 \times 10^6/\mu\text{L}$. A su vez, el rango de distribución plaquetario y el volumen plaquetario medio presentaron un aumento del $5,42\% \pm 0,105\%$ y del $23,41\% \pm 0,536\%$, respectivamente. La concentración plaquetaria no presentó ningún cambio significativo. Por otro lado, se observó una diferencia significativa en la concentración de glóbulos blancos con una disminución de $-0,41 \pm 0,026 \times 10^3/\mu\text{L}$. El porcentaje de granulocitos presentó una disminución de $-9,20 \pm 1,035$, mientras que el de linfocitos un aumentó de $19,60 \pm 1,035$. El porcentaje de la activación plaquetaria en este ciclo fue del $34,01\% \pm 2,846\%$. Los valores estadísticos de interés se presentan de forma esquematizada en la tabla 2.

Tabla 4. Valores estadísticos de las variables analizadas tras el primer ciclo de congelación: Media \pm error estándar; desviación estándar. Nota: dif Plq: diferencia en la concentración plaquetaria; dif PDW: diferencia en el rango de distribución plaquetario; dif VPM: diferencia en el volumen plaquetario medio; dif gran: diferencia en el porcentaje de granulocitos; dif linf: diferencia en el porcentaje de linfocitos; dif GB: diferencia en la concentración de glóbulos blancos; dif GR: diferencia en la concentración de glóbulos rojos.

	Media \pm EE	DE
dif Plq	$4,24\% \pm 0,526\%$	11,32%
dif PDW	$5,42\% \pm 0,105\%$	1,80%
dif MPV	$23,41\% \pm 0,536\%$	11,81%
Porcentaje activación	$34,01\% \pm 2,846\%$	15,26%
dif gran	$-9,20 \pm 1,035$	10,96
dif linf	$19,60 \pm 1,390$	16,74
dif GB	$-0,41 \pm 0,026 \times 10^3/\mu\text{L}$	0,54
dif GR	$0,015 \pm 0,001 \times 10^6/\mu\text{L}$	0,01

Varios autores observaron disminuciones notables en la concentración plaquetaria tras el primer ciclo de congelación-descongelación. No obstante, nuestros resultados no mostraron ninguna diferencia significativa en su concentración. Conviene recordar que el contador celular empleado utiliza la técnica de la impedancia. Por ello, es posible que haya confundido agregados de fragmentos residuales ocasionados por la criofractura con plaquetas. Tras observar que la concentración plaquetaria no presentó ninguna variación, se examinó el PDW y MPV para verificar si estos parámetros también habían permanecido invariables tras la congelación. No obstante, ambos presentaron una diferencia significativa, con un aumento en sus valores (Figura 18).

El porcentaje de activación plaquetaria resulta de gran interés, ya que las plaquetas podrían activarse durante la congelación. Su valor en este ciclo fue del $34,01\% \pm 5,692\%$. Asimismo, se encontró una correlación positiva entre el porcentaje de activación y la diferencia de PDW ($r = 0,61, p = 0,000$), y también con la diferencia de MPV ($r = 0,53, p = 0,000$). Por tanto, la activación plaquetaria explicaría en parte el incremento observado en los valores de MPV y PDW, puesto

que el aumento de tamaño tras este proceso produciría el incremento en MPV, mientras que la presencia de plaquetas y plaquetas activadas en la muestra aumentaría el PDW.

La presencia de glóbulos blancos en el PRP es un tema muy debatido entre la comunidad científica como ya se ha comentado anteriormente. Por un lado, en la literatura se encuentran autores que apoyan su presencia debido a los beneficios aportados por su capacidad antimicrobiana y su aporte extra de factores de crecimiento. Por otro lado, otros autores se posicionan en contra de su presencia, afirmando que aumentan la actividad inflamatoria. En cualquier caso, en el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana se procesa PRP con presencia de glóbulos blancos, puesto que se considera que resulta favorable su aporte de factores de crecimiento. Los resultados mostraron una disminución en la concentración de glóbulos blancos (Figura 19). Por otro lado, se vio una diferencia significativa con una disminución en el porcentaje de granulocitos, mientras que en los linfocitos se observó un incremento. Este suceso se explica por la sensibilidad de los granulocitos a la congelación, lo que resulta en un aumento de la proporción de los linfocitos entre los glóbulos blancos.

La presencia de glóbulos rojos en el PRP tampoco está exenta de controversia. En la literatura se encuentran autores posicionándose tanto a favor como en contra (ver 4.7). Los resultados mostraron un aumento en su concentración (Figura 20). No obstante, este incremento no se puede explicar desde una perspectiva biológica, puesto que los precursores de los glóbulos rojos se forman en la médula ósea. Por lo tanto, dado que el contador utiliza la técnica de la impedancia, es muy probable que esté registrando incorrectamente agregados de fragmentos como glóbulos rojos.

Considerando los resultados comentados hasta ahora, parece probable que las agregaciones de fragmentos plaquetarios y de leucocitarios estén contribuyendo al aumento observado en la concentración de glóbulos rojos. De manera que una concentración inicial más alta de plaquetas y glóbulos blancos en el PRP pueda resultar en un incremento mayor en la concentración de glóbulos rojos tras el primer ciclo de congelación. Aunque las correlaciones individuales no han demostrado ser significativas, en la figura 17 se puede observar una tendencia hacia ese aumento debido al efecto combinado de glóbulos blancos y plaquetas iniciales.

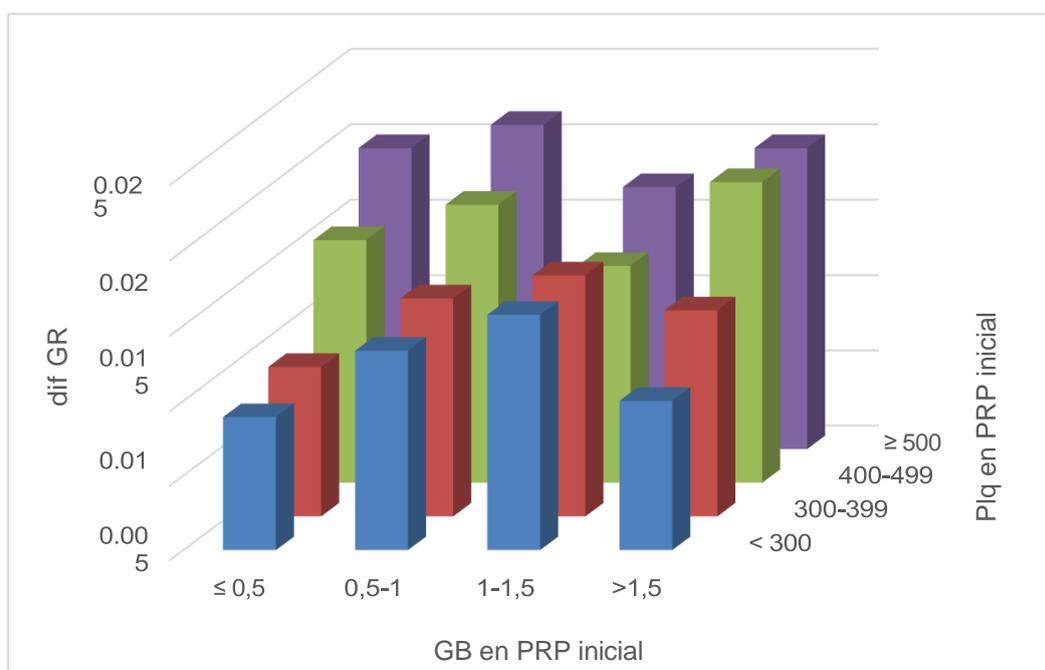


Figura 12. Efecto de la concentración inicial en el PRP de plaquetas (eje X) y glóbulos blancos (eje Z) sobre el incremento en la concentración de glóbulos rojos (Z). Notas: GB: glóbulos blancos; Plq: plaquetas; dif GR: diferencia en la concentración de glóbulos rojos.

Por último, el tiempo de congelación en este ciclo, el cual varía desde 188 hasta 650 días, mostró una correlación negativa con el porcentaje de activación ($r = -0,8$, $p = 0,000$). Esto indica que a medida que aumenta el tiempo de congelación, el porcentaje de activación disminuye. Desafortunadamente, no se dispone de datos a más corto plazo.

4.14.2.2 Segundo ciclo de congelación-descongelación

Los resultados de la hematimetría tras el segundo ciclo de congelación/descongelación mostraron cambios significativos. Se observó una disminución en la concentración plaquetaria del $-16,27\% \pm 0,925\%$, y en el volumen plaquetario medio del $-8,23\% \pm 0,942\%$. A su vez, la concentración de glóbulos rojos presentó una disminución con un valor de $-0,005 \pm 0,001 \times 10^6/\mu\text{L}$. También se observó una disminución de $-0,193 \pm 0,046 \times 10^3/\mu\text{L}$ en la concentración de glóbulos blancos. El porcentaje de granulocitos y linfocitos disminuyó con unos valores de $-12,12 \pm 8,318$ y $-29,10 \pm 7,750$, respectivamente. Por otro lado, el rango de distribución plaquetaria no mostró ninguna diferencia significativa. El porcentaje de activación en este ciclo fue del $17,46\% \pm 2,492\%$. Los datos estadísticos de interés se detallan en la tabla X.

Tabla 5. Valores estadísticos de las variables analizadas tras el segundo ciclo de congelación: Media \pm error estándar (EE); desviación estándar (DE). Nota: dif Plq: diferencia en la concentración plaquetaria; dif PDW: diferencia en el rango de distribución plaquetario; dif VPM: diferencia en el volumen plaquetario medio; dif gran: diferencia en el porcentaje de granulocitos; dif linf: diferencia en el porcentaje de linfocitos; dif GB: diferencia en la concentración de glóbulos blancos; dif GR: diferencia en la concentración de glóbulos rojos.

	Media \pm EE	DE
dif Plq	$-16,27\% \pm 0,925\%$	7,42%
dif PDW	$2,14\% \pm 0,185\%$	2,37%
dif MPV	$-8,26\% \pm 0,942\%$	6,04%
porcentaje activación	$17,46\% \pm 2,492\%$	50,23%
dif gran	$-12,12 \pm 8,318$	36,26
dif linf	$-29,10 \pm 7,750$	50,68
dif GB	$-0,193 \pm 0,046 \times 10^3/\mu\text{L}$	0,281
dif GR	$-0,005 \pm 0,001 \times 10^6/\mu\text{L}$	0,007

En este ciclo se observó una disminución en la concentración plaquetaria, de manera que las plaquetas se lisaron y liberaron su contenido. Es probable que los agregados que en el primer ciclo de congelación confundieron al contador celular, se hayan fragmentado en este ciclo. De forma que el contador ya no estaría registrando acúmulos erróneamente como plaquetas y se pudiese observar la disminución en su concentración. El volumen plaquetario medio presentó también una disminución, mientras que el rango de distribución plaquetario no mostró cambios significativos (Figura 18).

El porcentaje de activación en el segundo ciclo de congelación fue del $17,46\% \pm 2,492\%$ inferior al observado en el primero. No obstante, desconocemos lo que sucede exactamente con la plaqueta activada durante la congelación. Encontramos dos hipótesis plausibles al respecto. La primera sería que las plaquetas detectadas en el segundo ciclo fueran exclusivamente plaquetas activadas *de novo*, habiéndose fragmentado las que se encontraban activadas tras el primer ciclo. La segunda opción sería que las plaquetas activadas en el segundo ciclo fueran una fracción de aquellas activadas durante el primero. En cualquier caso, se trata de un porcentaje de plaquetas activadas menor, lo cual explica la disminución observada en el MPV. A su vez, la ruptura de los agregados con efecto confusor en fragmentos de menor tamaño a causa de los cristales de hielo también podría estar influyendo en la disminución del MPV.

La concentración de glóbulos blancos continuó disminuyendo en este ciclo. Cabe comentar que fue menos pronunciada que la del ciclo anterior (Figura 19). A su vez, el porcentaje tanto de

linfocitos como de granulocitos presentó una disminución. Por otro lado, se observó una disminución en la concentración de glóbulos rojos en este ciclo (Figura 20). Este suceso se ajusta al resultado esperado, a diferencia del aumento detectado en el ciclo anterior, ya que es factible su ruptura ante temperaturas de congelación.

En conclusión, tras el segundo ciclo de congelación se observa una disminución en todas las variables examinadas a excepción del PDW, que se mantiene constante. En el primer ciclo de congelación, los resultados se vieron afectados por la presencia de agregados de fragmentos originados durante el proceso de congelación. No obstante, tras la segunda congelación, parece que estos acúmulos se estuviesen deshaciendo, reduciéndose el efecto confusor.

4.14.2.3 Tercer ciclo de congelación-descongelación

Algunos autores recomiendan realizar de 3 a 5 ciclos de congelación-descongelación, puesto que consideran que se consigue maximizar la concentración de factores de crecimiento. No obstante, otros no ven ninguna diferencia significativa en la concentración plaquetaria tras el tercer ciclo de congelación (ver 4.8). Los resultados obtenidos en este ciclo se describen a continuación.

Se observó una diferencia significativa en la concentración plaquetaria con una disminución del $-19,08\% \pm 1,786\%$. Asimismo, la concentración de glóbulos blancos disminuyó en un $-0,132 \pm 0,095 \times 10^3/\mu\text{L}$. El rango de distribución plaquetaria y el volumen plaquetario medio no presentaron ninguna diferencia significativa. Por otro lado, la concentración de glóbulos blancos aumentó en un $0,002 \pm 0,02 \times 10^6/\mu\text{L}$. Los datos estadísticos de interés se detallan en la tabla X.

Tabla 6. Valores estadísticos de las variables analizadas tras el tercer ciclo de congelación: Media \pm error estándar (EE); desviación estándar (DE). Nota: dif Plq: diferencia en la concentración plaquetaria; dif PDW: diferencia en el rango de distribución plaquetario; dif VPM: diferencia en el volumen plaquetario medio; dif GB: diferencia en la concentración de glóbulos blancos; dif GR: diferencia en la concentración de glóbulos rojos.

	Media \pm EE	DE
dif Plq	$-19,08\% \pm 1,786\%$	5,42%
dif PDW	$2,87\% \pm 0,357\%$	3,22%
dif VPM	$-0,06\% \pm 1,819\%$	17,33%
dif GB	$-0,132 \pm 0,095 \times 10^3/\mu\text{L}$	0,283
dif GR	$0,002 \pm 0,002 \times 10^6/\mu\text{L}$	0,006

La concentración plaquetaria en este ciclo continuó disminuyendo, permitiendo así maximizar la liberación de factores de crecimiento. La disminución fue similar a la observada en el segundo ciclo de congelación. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en los valores del PDW y VPM en este ciclo (Figura 18).

La concentración de glóbulos blancos volvió a disminuir en este ciclo al igual que en los dos anteriores. La disminución fue similar a la observada en el ciclo anterior (Figura 19). En cuanto a los glóbulos rojos, su concentración aumentó de nuevo en el tercer ciclo de congelación al igual que sucedió en el primero (Figura 20). Este resultado se debe a imprecisiones del contador celular como ya se comentó anteriormente.

En conclusión, la realización de un tercer ciclo de congelación-descongelación permitió lisar a un mayor número de plaquetas, lo que resulta beneficioso al aumentar la concentración de factores de crecimiento. No obstante, conviene recordar que realizar múltiples ciclos de congelación puede afectar a la viabilidad de los factores de crecimiento, resultando contraproducente.

4.14.2.4 Resumen gráfico del efecto de los ciclos

En las figuras 18, 19 y 20 se puede apreciar gráficamente los cambios en las variables analizadas a lo largo de cada ciclo de congelación-descongelación.

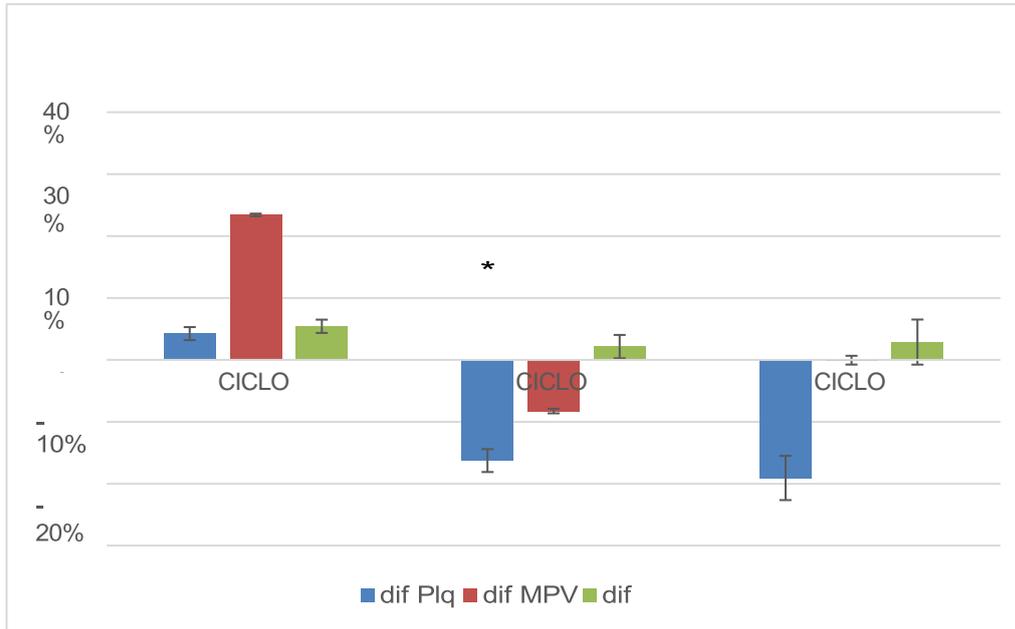


Figura 13. Diferencia en la concentración plaquetaria (dif Plq), volumen plaquetario medio (dif MPV) y rango de distribución plaquetario (dif PDW) en cada etapa respecto a la anterior. Se utiliza un asterisco (*) para indicar significancia estadística ($p < 0,05$).

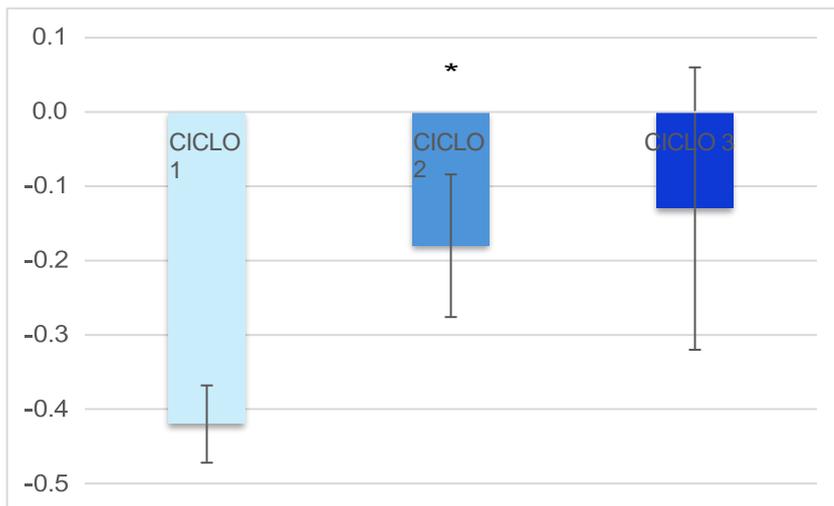


Figura 14. Diferencia en la concentración de glóbulos blancos en cada etapa respecto a la anterior. Se utiliza un asterisco (*) para indicar significancia estadística ($p < 0,05$).

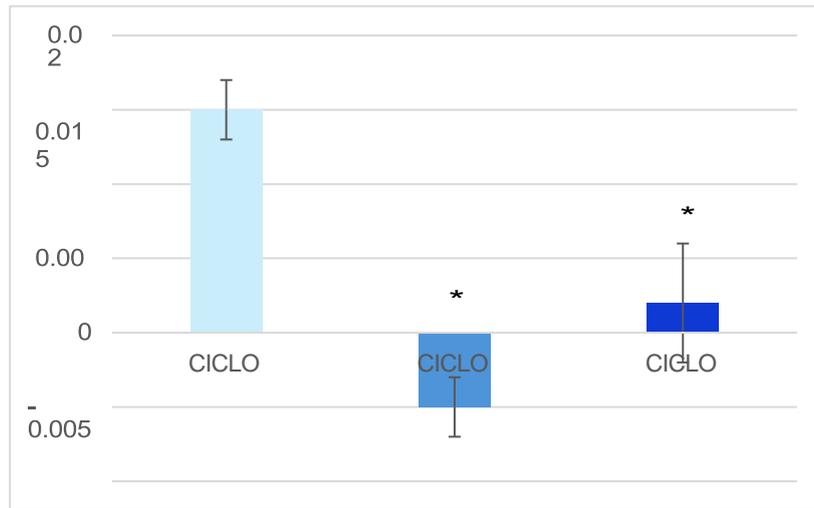


Figura 15. Diferencia en la concentración de glóbulos rojos en cada etapa respecto a la anterior. Se utiliza un asterisco (*) para indicar significancia estadística ($p < 0,05$).

4.14.3 Comparación -80°C vs Nitrógeno líquido

En este apartado se comparó el efecto de la congelación a -80°C con el de la inmersión de las muestras en nitrógeno líquido seguida de su almacenamiento a -80°C . Las variables analizadas fueron la concentración de plaquetas, de glóbulos blancos y de glóbulos rojos; el volumen plaquetario medio y el rango de distribución plaquetario. A continuación, se describen detalladamente los resultados obtenidos (anejo 5).

4.14.3.1 Primer ciclo de congelación-descongelación

Tras el primer ciclo de congelación-descongelación a -80°C , se observó un aumento en la concentración plaquetaria del $8,44\% \pm 2,243\%$. A su vez, se vio un incremento en el volumen plaquetario medio del $26,66\% \pm 2,689\%$ y en el rango de distribución plaquetario del $5,55\% \pm 0,410\%$. La concentración de glóbulos rojos aumentó con un valor de $0,0086 \pm 0,001 \times 10^6/\mu\text{L}$. Por otro lado, se produjo una disminución en la concentración de glóbulos blancos de $-0,047 \pm 0,019 \times 10^3/\mu\text{L}$.

En la congelación rápida sumergiendo las muestras en nitrógeno líquido, se obtuvo un aumento en la concentración plaquetaria del $7,47\% \pm 2,243\%$. Asimismo, se observó un incremento en el volumen plaquetario medio del $37,48\% \pm 2,689\%$ y en el rango de distribución plaquetario del $9,36\% \pm 0,410\%$. La concentración de glóbulos rojos aumentó en $0,0158 \pm 0,00013 \times 10^6/\mu\text{L}$, mientras que la concentración de glóbulos blancos se mantuvo inalterada ($0,043 \pm 0,020 \times 10^3/\mu\text{L}$). En la siguiente tabla se muestran los resultados esquematizados con ambos procedimientos.

Tabla 7. Valores estadísticos de las variables analizadas tras el primer ciclo de congelación a -80°C y utilizando nitrógeno líquido: Media \pm error estándar (EE); desviación estándar (DE) y significancia estadística (Sig).

	-80°C		Nitrógeno líquido		Sig
	Media \pm EE	DE	Media \pm EE	DE	
dif Plq	$8,44\% \pm 2,243\%$	11,25%	$7,47\% \pm 2,243\%$	10,73%	0,76
dif PDW	$5,55\% \pm 0,410\%$	1,83%	$9,36\% \pm 0,410\%$	2,17%	0,00
dif MPV	$26,66\% \pm 2,689\%$	9,46%	$37,48\% \pm 2,689\%$	16,05%	0,007
dif GB	$-0,047 \pm 0,0190$	0,0834	$0,043 \pm 0,0200$	0,064	0,003
dif GR	$0,009 \pm 0,0010$	0,00467	$0,0158 \pm 0,013$	0,007	0,0002

En cuanto a la concentración plaquetaria, no hubo diferencia significativa entre los dos procedimientos. En ambos se observó un aumento debido a un conteo impreciso como se ya se ha comentado en los apartados anteriores. Por otro lado, el volumen plaquetario medio aumentó en ambos procedimientos. No obstante, fue significativamente superior al realizar la congelación rápida. De la misma manera, el rango de distribución plaquetario presentó un aumento significativamente mayor en el caso de la congelación rápida. En la figura 21 se puede observar gráficamente las diferencias en las variables relacionadas con las plaquetas entre los dos procedimientos.

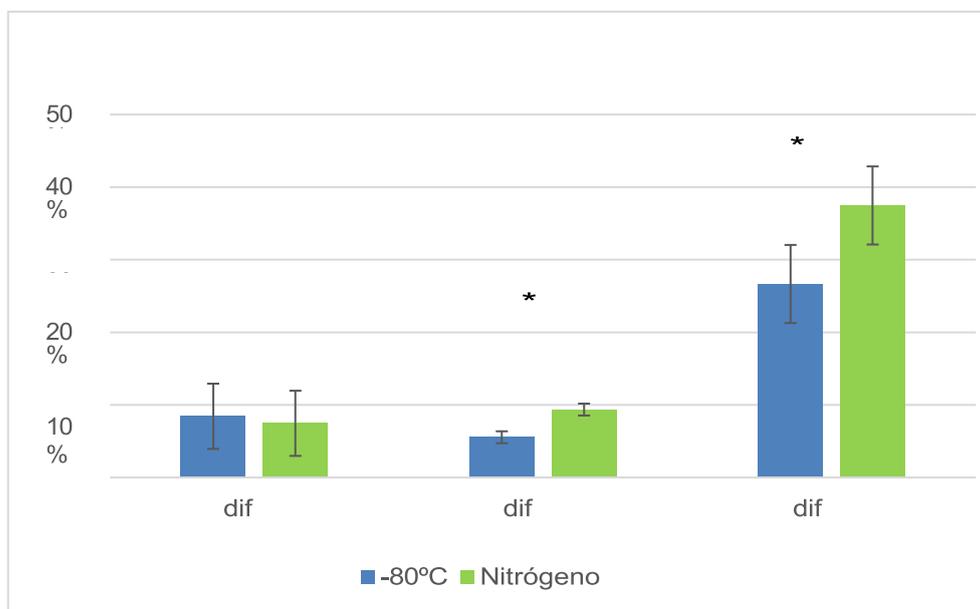


Figura 16. Comparación de la diferencia en la concentración plaquetaria (dif Plq), rango de distribución plaquetario (dif PDW) y volumen plaquetario medio (dif MPV) entre la congelación a -80°C y sumergiendo en nitrógeno líquido tras el primer ciclo de congelación-descongelación. El asterisco * hace referencia a un valor de $p < 0,05$.

En la congelación rápida la concentración de glóbulos blancos no se vio afectada, a diferencia de la disminución observada realizando la congelación a -80°C (Figura 23). Por otro lado, se observó un incremento en la concentración de glóbulos rojos en ambos procedimientos. No obstante, en la congelación a -80°C se detectó un aumento significativamente superior, con una p de 0,0002 (Figura 24).

4.14.3.2 Segundo ciclo de congelación-descongelación

Tras el segundo ciclo de congelación/descongelación a -80°C , se observó una disminución en la concentración plaquetaria del $-10,86\% \pm 1,212\%$. A su vez, la concentración de glóbulos blancos y de glóbulos rojos disminuyó en un valor de $-0,053 \pm 0,020 \times 10^3/\mu\text{L}$ y $-0,0014 \pm 0,001 \times 10^6/\mu\text{L}$, respectivamente. Por otro lado, el rango de distribución plaquetaria no presentó ninguna variación significativa, mientras que el volumen plaquetario medio presentó una disminución del $-3,82\% \pm 0,999\%$.

En la congelación rápida, se produjo una disminución en la concentración plaquetaria del $-8,02\% \pm 1,212\%$. Asimismo, la concentración de glóbulos blancos y de glóbulos rojos disminuyó en un $0,032 \pm 0,018 \times 10^3/\mu\text{L}$ y $-0,0088 \pm 0,001 \times 10^6/\mu\text{L}$ y, respectivamente. Por otro lado, el rango de distribución plaquetario no presentó diferencias significativas, mientras que el volumen plaquetario medio presentó una disminución del $-11,56\% \pm 0,999\%$.

Tabla 8. Valores estadísticos de las variables analizadas tras el segundo ciclo de congelación a -80°C y utilizando nitrógeno líquido: Media \pm error estándar; desviación estándar y significancia estadística. Nota: dif = diferencia. [] = concentración. PDW: rango de distribución plaquetario. VPM: volumen plaquetario medio.

	-80°C		Nitrógeno líquido		Sig
	Media \pm EE	DE	Media \pm EE	DE	
dif Plq	$-10,86\% \pm 1,212\%$	7,25%	$-8,02\% \pm 1,212\%$	4,23%	0,105
dif PDW	$1,52\% \pm 0,536\%$	2,14%	$-2,21\% \pm 0,536\%$	3,03%	0,00
dif MPV	$-3,82\% \pm 0,999\%$	4,10%	$-11,56\% \pm 0,999\%$	-11,56%	0,00
dif GB	$-0,053 \pm 0,020$	0,074	$-0,032 \pm 0,018$	0,082	0,43
dif GR	$-0,0014 \pm 0,001$	0,004	$-0,0088 \pm 0,001$	0,006	0,00

La concentración plaquetaria disminuyó con ambos procedimientos, no presentando ninguna diferencia significativa entre ellos. El volumen plaquetario medio presentó una disminución en ambos. No obstante, la disminución fue significativamente mayor en la congelación rápida con una p de 0,000. Por otro lado, la diferencia en el rango de distribución plaquetario fue significativamente distinta entre los dos procedimientos, presentando un aumento en el caso de la congelación a -80°C , mientras que una disminución en la congelación rápida (Figura 22).

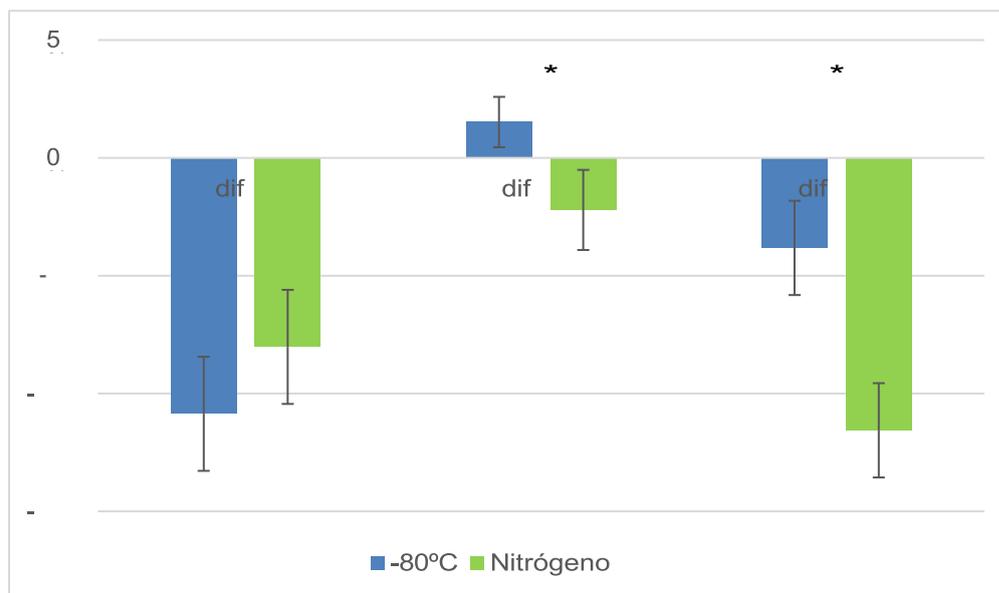


Figura 17. Comparación de la diferencia en la concentración plaquetaria (dif Plq), rango de distribución plaquetario (dif PDW) y volumen plaquetario medio (dif MPV) entre la congelación a -80°C y la utilización de nitrógeno líquido tras el segundo ciclo de congelación-descongelación. El asterisco * hace referencia a un valor de $p < 0,05$.

La concentración de glóbulos blancos presentó una disminución en ambos procedimientos, no siendo estadísticamente diferentes entre sí. En la figura 23 se puede observar la comparación entre ambos tras el primer y segundo ciclo de congelación.

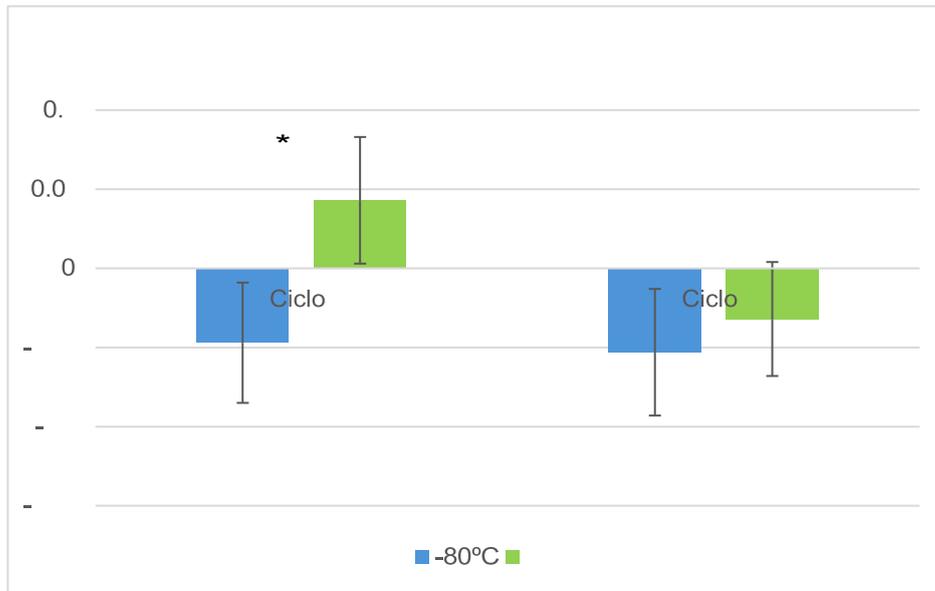


Figura 18. Comparación de la diferencia en la concentración de leucocitos respecto a -80°C y nitrógeno líquido para el primer y segundo ciclo de congelación/descongelación. El asterisco * hace referencia a un valor de $p < 0,05$.

Por otro lado, la concentración de glóbulos rojos disminuyó en ambos casos. No obstante, en la congelación rápida fue significativamente mayor. En la figura 24 se pueden observar la comparación entre ambos procedimientos para la diferencia en la concentración de glóbulos rojos durante el primer y segundo ciclo de congelación.

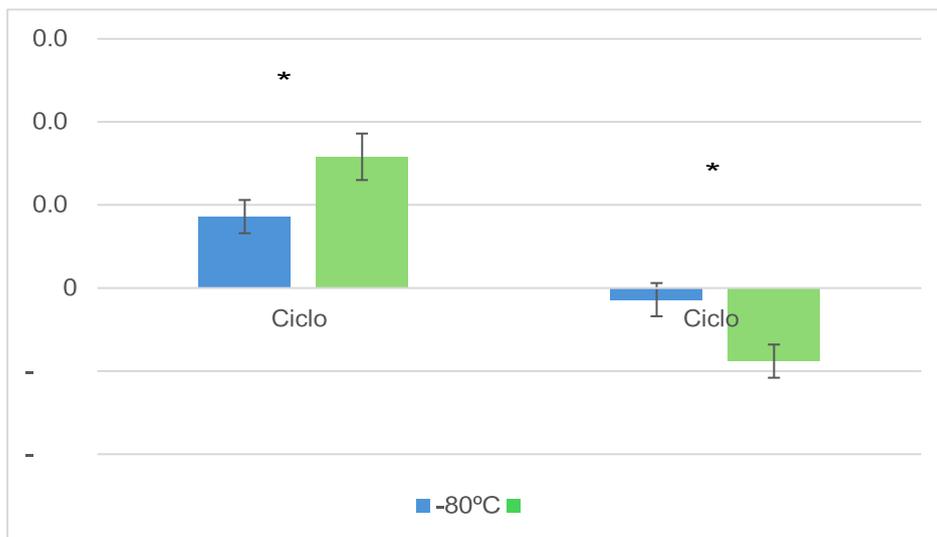


Figura 19. Comparación en la diferencia en la concentración de glóbulos rojos respecto a -80°C y nitrógeno líquido para el primer y segundo ciclo de congelación/descongelación. El asterisco * hace referencia a un valor de $p < 0,05$.

En conclusión, se observan ciertas diferencias significativas para algunas de las variables analizadas entre la congelación a -80°C y la inmersión de las muestras en nitrógeno líquido seguida de su almacenamiento a -80°C. No obstante, no se ha encontrado ninguna explicación global que justifique todos los resultados obtenidos. Es importante destacar que el uso de dispositivos basados en impedancia para analizar muestras que han sido sometidas a procesos como la congelación, los cuales impactan la integridad de sus componentes celulares, puede afectar negativamente a la precisión de los resultados obtenidos.

4.15 CITOMETRÍA DE FLUJO

Como consecuencia de las dudas derivadas de la hematimetría generada por el contador celular basado en la impedancia, especialmente con los resultados obtenidos tras la primera congelación, se realizó un análisis por citometría de flujo. Para ello se recurrió al mismo aparato con el que se evaluó la activación plaquetaria.

En la figura 25 se muestra la distribución de los elementos en función de su tamaño y su complejidad citoplasmática. Se ha analizado comparativamente el plasma rico en plaquetas puro (P-PRP) y el plasma rico en plaquetas y leucocitos (L-PRP). En los gráficos de la izquierda, el producto fresco y, a la derecha, el resultado de la congelación-descongelación. En todos los casos se observó un paralelismo de dos poblaciones con una correlación positiva entre los valores de tamaño y complejidad citoplasmática. Por otro lado, en el L-PRP se evidenció la presencia de leucocitos (flechas rojas), que se vio afectada tras el proceso de congelación. El cambio más significativo tras dicho proceso es la extensión de los elementos de menor tamaño hacia una región caracterizada por una menor complejidad citoplasmática. Este hallazgo se interpretó como relativo a material residual celular. No obstante, ya sea por agregados de estos residuos, o por plaquetas (todavía integras, activadas o no) se mantiene la configuración bi-poblacional paralela. También se aprecia el deterioro de la fracción leucocitaria (probablemente, asociada sobre todo a la destrucción de los granulocitos, más sensibles a la congelación).

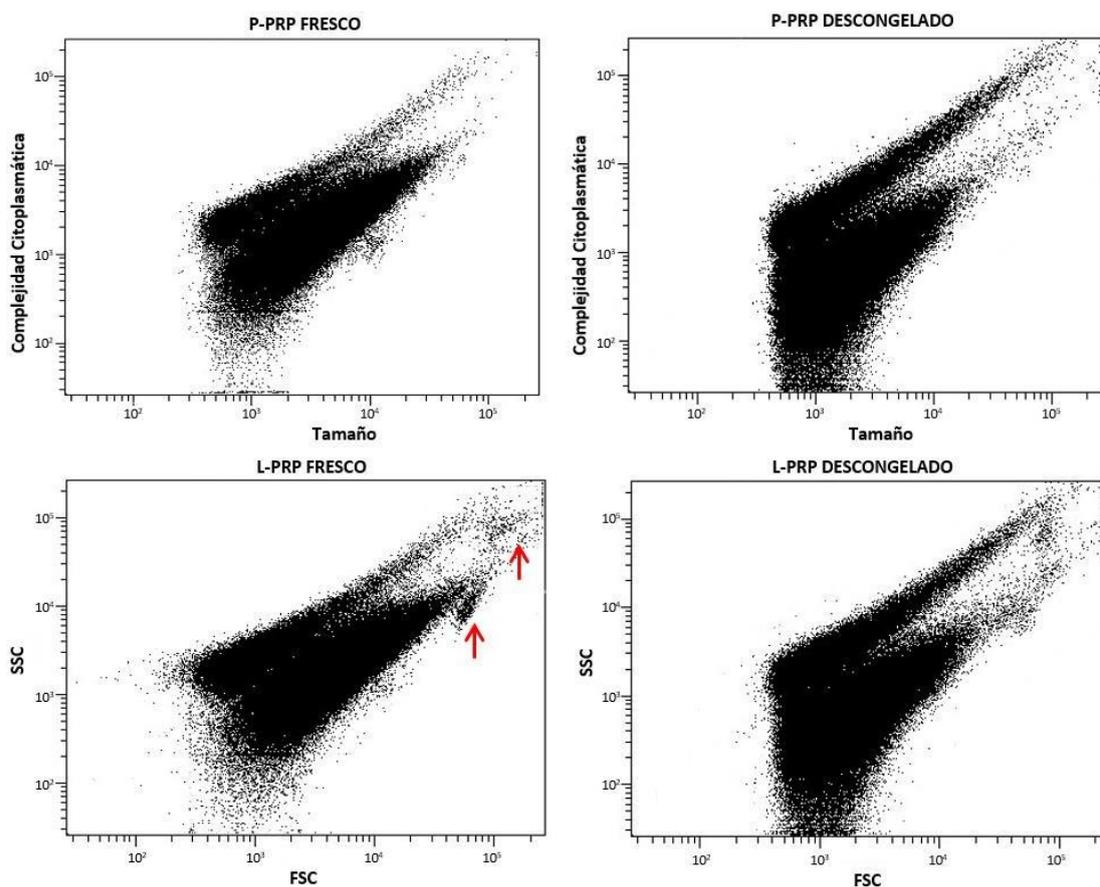


Figura 20. Distribución de elementos en función de su tamaño (eje X) y complejidad citoplasmática (eje Y) en plasma rico en plaquetas puro (parte superior) y en plasma rico en plaquetas y leucocitos (parte inferior). En la izquierda corresponde al producto fresco y en la derecha tras la congelación-descongelación.

La figura 26 muestra el resultado de un análisis más detallado, utilizando anticuerpos específicos (marcados con fluorocromos) frente antígenos para la detección selectiva de plaquetas (CD41) y aquellas que evidenciaron activación (CD62). En este caso, se muestra la imagen ofrecida por un

L-PRP fresco. Si bien es patente una activación plaquetaria tras la descongelación, resulta llamativa la presencia de elementos de color azul (CD41- y CD62-) en todo el rango de tamaño y complejidad (en general, algo mayor que la plaquetaria) en el que se muestran las plaquetas.

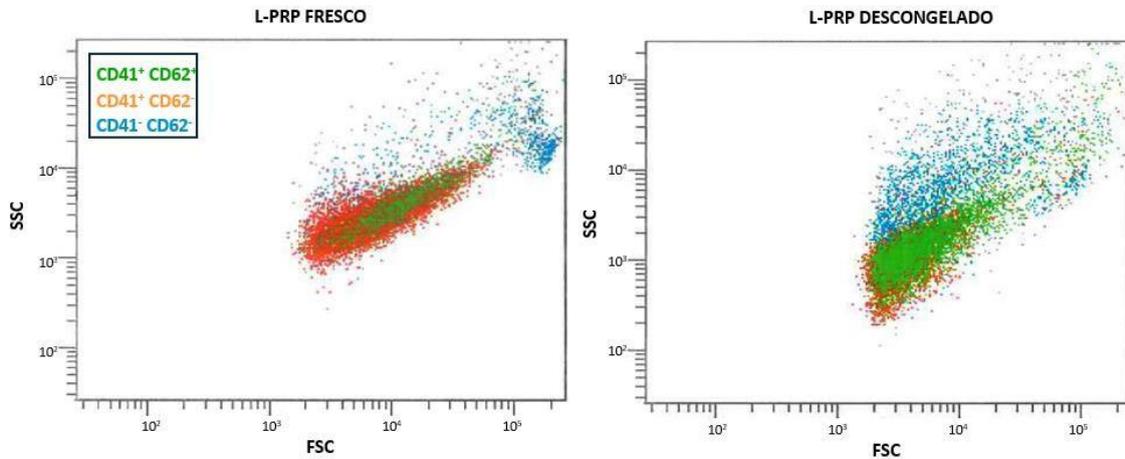


Figura 21. Distribución de elementos en función de su tamaño (eje X) y complejidad citoplasmática (eje Y) en plasma rico en plaquetas y leucocitos. En el lado izquierdo se corresponde al producto fresco. En el derecho al producto descongelado. Las plaquetas (CD41+ CD62-) se representan en amarillo, las activadas (CD41+ CD62+) en verde y lo que no corresponde a plaquetas en azul (CD41- CD62-).

El análisis microscópico de muestras de L-PRP descongelado teñido con May-Grünwald Giemsa reveló la presencia de agregados y abundantes residuos celulares como se puede apreciar en la figura 27.

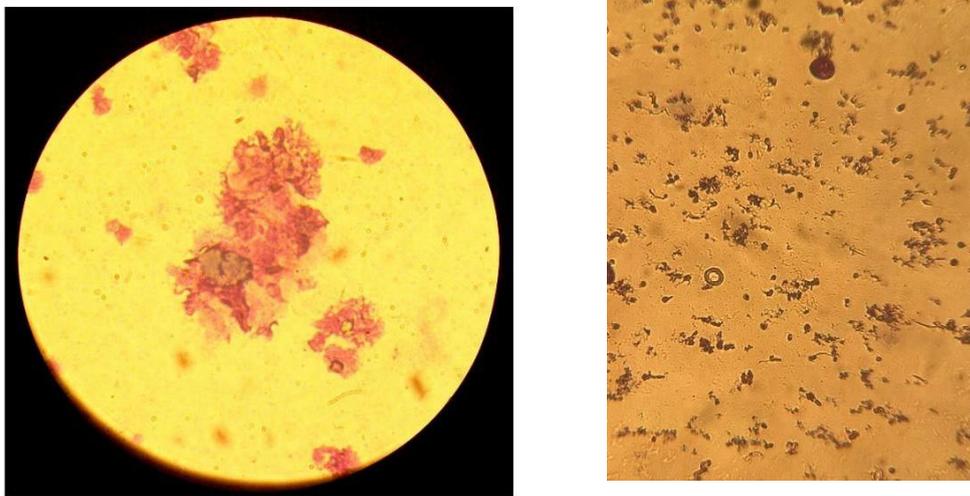


Figura 22. Imágenes tomadas en el microscopio óptico de dos muestras de plasma rico en plaquetas y leucocitos descongelado teñido con May-Grünwald Giemsa. En la izquierda se observa la presencia de agregados. En la derecha destaca la presencia de residuos celulares.

5 CONCLUSIONES

- El uso de dispositivos basados en la impedancia para evaluar muestras de plasma rico en plaquetas sometidas a procesos que pueden afectar a la integridad de sus componentes celulares puede condicionar negativamente la precisión de los resultados
- Se considera necesaria una estandarización de los procedimientos asociados a la obtención, procesamiento, almacenamiento y utilización clínica del plasma rico en plaquetas y sus variantes, con el fin de facilitar el análisis comparativo de resultados entre las diferentes metodologías utilizadas.
- Respecto a la denominación del producto generado en el Centro de Transfusión de Valencia, se ha contemplado desde una triple perspectiva:
 - Plasma rico en factores de crecimiento, para el producto descongelado y destinado a infiltración.
 - Gel de plasma rico en factores de crecimiento, cuando el producto se presenta como coágulo, para uso tópico o de relleno.
 - Lisado plaquetario, cuando se induce la coagulación con la finalidad de evitarla durante el uso clínico.
- A la hora de optimizar la lisis asociada al proceso de congelación y descongelación, se sugiere utilizar dos ciclos.

6 BIBLIOGRAFÍA

- A. Everts, P. (2019a). Autologous Platelet-Rich Plasma and Mesenchymal Stem Cells for the Treatment of Chronic Wounds. En *Wound Healing - Current Perspectives*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.80502>
- Amable, P. R., Carias, R. B. V., Teixeira, M. V. T., Da Cruz Pacheco, Í., Amaral, R. J. F. C. D., Granjeiro, J. M., & Borojevic, R. (2013). Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Research & Therapy*, 4(3). <https://doi.org/10.1186/scrt218>
- Akbarzadeh, S., McKenzie, M. B., Rahman, M. M., & Cleland, H. (2021). Allogeneic Platelet-Rich Plasma: Is It Safe and Effective for Wound Repair? En *European Surgical Research* (Vol. 62, Número 1, pp. 1-9). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000514223>
- Andia, I., & Maffulli, N. (2018). A contemporary view of platelet-rich plasma therapies: Moving toward refined clinical protocols and precise indications. En *Regenerative Medicine* (Vol. 13, Número 6). Future Medicine Ltd. <https://doi.org/10.2217/rme-2018-0042>
- Anitua, E., Zalduendo, M., Troya, M., Padilla, S., & Orive, G. (2015). Leukocyte inclusion within a platelet rich plasma-derived fibrin scaffold stimulates a more pro-inflammatory environment and alters fibrin properties. *PLoS ONE*, 10(3). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121713>
- Aster, R. H. (2013). Blood platelet kinetics and platelet transfusion. *Journal of Clinical Investigation*, 123(11), 4564-4565. <https://doi.org/10.1172/JCI70335>
- Baik, S. Y., Lim, Y. A., Kang, S. J., Ahn, S. H., Lee, W. G., & Kim, C. H. (2014). Effects of platelet lysate preparations on the proliferation of hacat cells. *Annals of Laboratory Medicine*, 34(1), 43-50. <https://doi.org/10.3343/alm.2014.34.1.43>
- Bernardi, M., Agostini, F., Chierigato, K., Amati, E., Durante, C., Rassa, M., Ruggeri, M., Sella, S., Lombardi, E., Mazzucato, M., & Astori, G. (2017). The production method affects the efficacy of platelet derivatives to expand mesenchymal stromal cells in vitro. *Journal of Translational Medicine*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12967-017-1185-9>
- Boswell, S. G., Cole, B. J., Sundman, E. A., Karas, V., & Fortier, L. A. (2012). Platelet-rich plasma: A milieu of bioactive factors. *Arthroscopy - Journal of Arthroscopic and Related Surgery*, 28(3), 429-439. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2011.10.018>

- Cavallo, C., Roffi, A., Grigolo, B., Mariani, E., Pratelli, L., Merli, G., Kon, E., Marcacci, M., & Filardo, G. (2016). Platelet-Rich Plasma: The Choice of Activation Method Affects the Release of Bioactive Molecules. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/6591717>
- Chowdhary, K., Sahu, A., Iijima, H., Shinde, S., Borg-Stein, J., & Ambrosio, F. (2023). Aging Affects the Efficacy of Platelet-Rich Plasma Treatment for Osteoarthritis. *American Journal of Physical Medicine and Rehabilitation*, 102(7), 597-604. <https://doi.org/10.1097/PHM.0000000000002161>
- De Korte, D., Delabie, W., Feys, H. B., Klei, T., Larsen, R., Sigurjónsson, Ó., & Sousa, A. P. (2024). Towards standardized human platelet lysate production in Europe: An initiative of the European Blood Alliance. *Vox Sanguinis*, 119(1), 79-87. <https://doi.org/10.1111/vox.13562>
- DeLong, J. M., Russell, R. P., & Mazzocca, A. D. (2012). Platelet-Rich Plasma: the PAW Classification System. *Arthroscopy*, 28(7), 998-1009. <https://doi.org/10.1016/j.arthro.2012.04.148>
- Diario Oficial de la Generalitat Valenciana (DOGV) (1985). Decreto 174/1985, de 28 de octubre, del Consell de la Generalitat Valenciana, por el que se crea el Centro de Transfusión de la Comunidad Valenciana. *DOGV*, 307:3924-3928.
- Do Amaral, R. J. F. C., Da Silva, N. P., Haddad, N. F., Lopes, L. S., Ferreira, F. D., Filho, R. B., Cappelletti, P. A., De Mello, W., Cordeiro-Spinetti, E., & Balduino, A. (2016). Platelet-Rich Plasma Obtained with Different Anticoagulants and Their Effect on Platelet Numbers and Mesenchymal Stromal Cells Behavior In Vitro. *Stem Cells International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/7414036>
- Dohan Ehrenfest, D. M., Andia, I., Zumstein, M. A., Zhang, C.-Q., Pinto, N. R., & Bielecki, T. (2014). Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. En *Ligaments and Tendons Journal* (Vol. 4, Número 1).
- Durante, C., Agostini, F., Abbruzzese, L., Toffola, R. T., Zanolin, S., Suine, C., & Mazzucato, M. (2013). Growth factor release from platelet concentrates: Analytic quantification and characterization for clinical applications. *Vox Sanguinis*, 105(2), 129-136. <https://doi.org/10.1111/vox.12039>
- engebretsen-et-al-2011-ioc-consensus-paper-on-the-use-of-platelet-rich-plasma-in-sports-medicine-editor-s-choice*. (s. f.).
- Franceschi, C., Bonafè, M., Valensin, S., Olivieri, F., Luca, M. DE, Ottaviani, E., & Benedictis, G. DE. (2000). *Inflamm-aging An Evolutionary Perspective on Immunosenescence INTRODUCTION: THE NETWORK HYPOTHESIS OF AGING*. *fredikksen contraction gel*. (s. f.).
- Gersh, K. C., Nagaswami, C., & Weisel, J. W. (2009). Fibrin network structure and clot mechanical properties are altered by incorporation of erythrocytes. *Thrombosis and Haemostasis*, 102(6), 1169-1175. <https://doi.org/10.1160/TH09-03-0199>
- Giusti, I., D'Ascenzo, S., Mancò, A., Di Stefano, G., Di Francesco, M., Rughetti, A., Dal Mas, A., Properzi, G., Calvisi, V., & Dolo, V. (2014). Platelet Concentration in Platelet-Rich Plasma Affects Tenocyte Behavior in Vitro. *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/630870>
- Greene, M. A., & Loeser, R. F. (2015). Aging-related inflammation in osteoarthritis. En *Osteoarthritis and Cartilage* (Vol. 23, Número 11, pp. 1966-1971). W.B. Saunders Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2015.01.008>
- Harmon, K., Hanson, R., Bowen, J., Greenberg, S., Magaziner, E., Vandenbosch, J., Harshfield, D., Shiple, B., & Audley, D. (2011). *Guidelines for the Use of Platelet Rich Plasma The International Cellular Medical Society DRAFT Version 1.0 Committee Members*.
- Haynesworth, S. E., Kadiyala, S., Liang, L. N., et al. (2002). Mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet release suggests a mechanism for enhancement of bone repair by platelet concentrates. Artículo presentado en la 48ª Reunión de la Sociedad de Investigación Ortopédica, Boston, MA.

- Imeri, F., Herklotz, R., Risch, L., Arbetsleitner, C., Zerlauth, M., Risch, G. M., & Huber, A. R. (2008). Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: A stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100. *Clinica Chimica Acta*, 397(1-2), 68-71. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2008.07.018>
- Informe de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios sobre el uso de Plasma Rico en Plaquetas.* (2013, May 23). <https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/medSituacionesEspeciales/docs/PRP-AEMPS-DEF-mayo13.pdf>
- Katakami, C., Raymond, L. A., Lipman, M. J., Appel, A., & W-Y Kao, W. (1986). Change in the synthesis of glycosaminoglycans by fibrotic vitreous induced by erythrocytes. En *Biochimica et Biophysica Acta* (Vol. 880).
- Laitinen, A., Oja, S., Kilpinen, L., Kaartinen, T., Möller, J., Laitinen, S., Korhonen, M., & Nystedt, J. (2016). A robust and reproducible animal serum-free culture method for clinical-grade bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *Cytotechnology*, 68(4), 891-906. <https://doi.org/10.1007/s10616-014-9841-x>
- Lana, J. F. S. D., Purita, J., Paulus, C., Huber, S. C., Rodrigues, B. L., Rodrigues, A. A., Santana, M. H., Madureira, J. L., Malheiros Luzo, Â. C., Belangero, W. D., & Annichino-Bizzacchi, J. M. (2017). Contributions for classification of platelet rich plasma - Proposal of a new classification: MARSPELL. *Regenerative Medicine*, 12(5), 565-574. <https://doi.org/10.2217/rme-2017-0042>
- Lei, H., Gui, L., & Xiao, R. (2009). The effect of anticoagulants on the quality and biological efficacy of platelet-rich plasma. *Clinical Biochemistry*, 42(13-14), 1452-1460. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2009.06.012>
- Lincoln, J. A., Lefkowitz, D. L., Cain, T., Castro, A., Mills, K. C., Lefkowitz, S. S., Moguilevsky, N., & Bollen, A. (1995). Exogenous Myeloperoxidase Enhances Bacterial Phagocytosis and Intracellular Killing by Macrophages. En *INFECTION AND IMMUNITY* (Vol. 63, Número 8).
- Liu, Y., Kalé N, ; Anders, Risto, O., Wahlström, O., & Wahlström, W. (s. f.). *Fibroblast proliferation due to exposure to a platelet concentrate in vitro is pH dependent.*
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. En *Cell* (Vol. 153, Número 6, p. 1194). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>
- Malhotra, A., Pelletier, M. H., Yu, Y., & Walsh, W. R. (2013). Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. *Archives of Orthopaedic and Trauma Surgery*, 133(2), 153-165. <https://doi.org/10.1007/s00402-012-1641-1>
- Marck, R. E., Middelkoop, E., & Breederveld, R. S. (2014). Considerations on the use of platelet-rich plasma, specifically for burn treatment. *Journal of Burn Care and Research*, 35(3), 219-227. <https://doi.org/10.1097/BCR.0b013e31829b334e>
- Mariani, E., Canella, V., Berlingeri, A., Bielli, A., Cattini, L., Landini, M. P., Kon, E., Marcacci, M., Di Matteo, B., & Filardo, G. (2015). Leukocyte presence does not increase microbicidal activity of Platelet-rich Plasma in vitro *Clinical microbiology and vaccines. BMC Microbiology*, 15(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-015-0482-9>
- Marx, R. E. (2004). Platelet-Rich Plasma: Evidence to Support Its Use. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 62(4), 489-496. <https://doi.org/10.1016/j.joms.2003.12.003>
- Mautner, K., Malanga, G. A., Smith, J., Shiple, B., Ibrahim, V., Sampson, S., & Bowen, J. E. (2015). A Call for a Standard Classification System for Future Biologic Research: The Rationale for New PRP Nomenclature. *PM and R*, 7(4), S53-S59. <https://doi.org/10.1016/j.pmrj.2015.02.005>
- Mazzucco, L., Balbo, V., Cattana, E., Guaschino, R., & Borzini, P. (2009). Not every PRP-gel is born equal Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet®, RegenPRP-Kit®, Plateltex® and one manual procedure. *Vox Sanguinis*, 97(2), 110-118. <https://doi.org/10.1111/j.1423-0410.2009.01188.x>
- Mindray. (s.f.). *BC-3600 Auto Hematology Analyzer Operator's Manual*. Recuperado de https://keul.de/media/pdf/mindray/BC-3600_handbuch.pdf

- Mirabet, V. (2020). Controversial Issues on the Clinical Use of Platelet-Derived Growth Factors. *Biomedical Journal of Scientific & Technical Research*, 32(4).
<https://doi.org/10.26717/bjstr.2020.32.005290>
- Mishra, A., Harmon, K., Woodall, J., & Vieira, A. (2012). Sports Medicine Applications of Platelet Rich Plasma. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13(7), 1185-1195.
<https://doi.org/10.2174/138920112800624283>
- O'Donnell, C., Migliore, E., Grandi, F. C., Koltsov, J., Lingampalli, N., Cisar, C., Indelli, P. F., Sebastiano, V., Robinson, W. H., Bhutani, N., & Chu, C. R. (2019). Platelet-Rich Plasma (PRP) From Older Males With Knee Osteoarthritis Depresses Chondrocyte Metabolism and Upregulates Inflammation. *Journal of Orthopaedic Research*, 37(8), 1760-1770.
<https://doi.org/10.1002/jor.24322>
- Oeller, M., Laner-plamberger, S., Krisch, L., Rohde, E., Strunk, D., & Schallmoser, K. (2021). Human platelet lysate for good manufacturing practice-compliant cell production. En *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 22, Número 10). MDPI AG.
<https://doi.org/10.3390/ijms22105178>
- Roffi, A., Filardo, G., Assirelli, E., Cavallo, C., Cenacchi, A., Facchini, A., Grigolo, B., Kon, E., Mariani, E., Pratelli, L., Pulsatelli, L., & Marcacci, M. (2014). Does platelet-rich plasma freeze-thawing influence growth factor release and their effects on chondrocytes and synoviocytes? *BioMed Research International*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/692913>
- Sandhaus, L. M., Osei, E. S., Agrawal, N. N., Dillman, C. A., & Meyerson, H. J. (s. f.). *Platelet Counting by the Coulter LH 750, Sysmex XE 2100, and Advia 120 A Comparative Analysis Using the RBC/Platelet Ratio Reference Method*.
<https://academic.oup.com/ajcp/article/118/2/235/1758528>
- Sonker, A., & Dubey, A. (2015a). Determining the effect of preparation and storage: An effort to streamline platelet components as a source of growth factors for clinical application. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 42(3), 174-180.
<https://doi.org/10.1159/000371504>
- Sonker, A., & Dubey, A. (2015b). Determining the effect of preparation and storage: An effort to streamline platelet components as a source of growth factors for clinical application. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*, 42(3), 174-180.
<https://doi.org/10.1159/000371504>
- Strandberg, G., Sellberg, F., Sommar, P., Ronaghi, M., Lubenow, N., Knutson, F., & Berglund, D. (2017). Standardizing the freeze-thaw preparation of growth factors from platelet lysate. *Transfusion*, 57(4), 1058-1065. <https://doi.org/10.1111/trf.13998>
- Weibrich, G., Kleis, W. K. G., Hafner, G., Hitzler, W. E., & Wagner, W. (2003). *Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank*.
- White, J. G. (2000). EDTA-induced changes in platelet structure and function: clot retraction. *Platelets*, 11(1), 49-55. <https://doi.org/10.1080/09537100075805>
- Zandecki, M., Genevieve, F., Gerard, J., & Godon, A. (2007). Spurious counts and spurious results on haematology analysers: A review. Part I: Platelets. En *International Journal of Laboratory Hematology* (Vol. 29, Número 1, pp. 4-20). <https://doi.org/10.1111/j.1365-2257.2006.00870.x>

Anejo 1. Relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible de la agenda 2030.

A. Indicar el grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

	Alto	Medio	Bajo	No procede
ODS 1. Fin de la pobreza				X
ODS 2. Hambre cero				X
ODS 3. Salud y bienestar	X			
ODS 4. Educación de calidad				X
ODS 5. Igualdad de género				X
ODS 6. Agua limpia y saneamiento				X
ODS 7. Energía asequible y no contaminante				X
ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico				X
ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras				X
ODS 10. Reducción de las desigualdades				X
ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles				X
ODS 12. Producción y consumo responsables				X
ODS 13. Acción por el clima				X
ODS 14. Vida submarina				X
ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres				X
ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas				X
ODS 17. Alianzas para lograr objetivos.				X

B. Describir brevemente la alineación del TFG con los ODS, marcados en la tabla anterior, con un grado alto.

Este Trabajo de Fin de Grado se alinea estrechamente con el ODS 3. Salud y Bienestar. La búsqueda de claridad, estandarización y optimización de un recurso terapéutico como es el plasma rico en plaquetas repercute directamente sobre la salud y bienestar de los individuos, mejorando la eficacia del tratamiento y precisando su aplicación a aquellas patologías que se verán beneficiadas por su uso.

Código		Autor	Revisado	Aprobado
PR-CP-37				
Edición	Fecha emisión			
03	02/11/2023	Fdo: FEA	Fdo: Jefe de Servicio	Fdo: Jefe de Calidad

OBJETIVO:

Describir el proceso de obtención de plasma rico en plaquetas (PRP) como fuente de factores de crecimiento para su distribución para uso terapéutico.

DIRIGIDO A:

FEA y TEL del Servicio de Procesamiento, área de Criopreservación.

DESARROLLO:

1. Material:

1. Equipo extracción 150 mL
2. Bolsa de transferencia 150 mL
3. Desplasmator
4. Tapones para inyección
5. Jeringas desechables (60 mL, 5 mL)
6. Agujas
7. Solución de Cloruro Cálcico al 10%
8. Solución desinfectante (alcohol 70°)
9. Tubos universales de 30 ml
10. Frascos para cultivo microbiológico
11. Criotubos
12. Centrífuga de bolsas y de tubos
13. Pipetas Pasteur estéril
14. Pipetas automáticas regulables
15. Pinzas pean
16. Gradilla
17. Gasas
18. Dispositivo preparación de colirios COL-20 (Bexen).
19. Baño
20. Tubo EDTA

2. Método:

2.1. Extracción de sangre:

El médico responsable del paciente solicita la obtención del PRP mediante un impreso de interconsulta o análogo o mediante la "Hoja de Solicitud de PRP" (IM-CTCV-HEM-15A).

En la solicitud se debe indicar:

- La patología que se pretende tratar.
- El volumen de PRP requerido para cada alícuota del mismo.
- Las fechas previstas para cada aplicación (o al menos, para la primera).
- El número de alícuotas necesario para cada aplicación (en caso de que se pueda utilizar más de una alícuota cada vez).

El paciente se dirigirá de la consulta del hospital a la sala de extracción del Centro de Transfusión, con el citado impreso, para programar el momento de la extracción sanguínea. En el AP-CP-37C: "Consideraciones para el uso clínico del PRP", se detalla las características del producto y las consideraciones que deben tener en cuenta los médicos prescriptores.

CENTRE DE TRANSFUSIÓ COMUNITAT VALENCIANA	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-CP-37	3	PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO FUENTE DE FACTORES DE CRECIMIENTO

Llegado el momento acordado, el personal de Hemodonación realiza la extracción de sangre completa (PR-CTCV-HEM-15). En general, se utiliza una bolsa de 150 ml con 21 ml de anticoagulante (Bolsa Jiang/Bolsa Terumo). También se puede realizar la obtención de un concentrado de plaquetas, mediante un proceso de aféresis (PR-CTCV-HEM-16). En estos casos, el procesamiento se inicia directamente alicuotando (ver punto 2.6).

El personal responsable de la extracción, realiza el recuento celular (PR-CP-03) con una muestra de sangre del paciente cuyo resultado se remite conjuntamente con la bolsa con la sangre y la documentación asociada, al técnico responsable de su procesamiento en Fraccionamiento.

Cuando el Centro extractor de la sangre sea un Hospital autorizado por el CTCV debe seguir las instrucciones indicadas en el AP-CP-37B: Instrucciones para el envío de unidades de sangre para obtención de PRP.

2.2. Recepción de bolsas:

Las unidades extraídas se entregan en el área de Criopreservación, junto con:

- "Hoja de solicitud de PRP" original (Modelo del propio centro o IM-CTCV-HEM-15A)
- Etiquetas de la numeración asignada a la bolsa
- Resultado del recuento de plaquetas realizado al tubo del lab. IHM.

El procesamiento se inicia lo antes posible. Si por alguna razón se fuera a demorar, se almacenará la sangre a 22°C, un máximo de 24 horas.

Si las bolsas se han extraído en Castellón, se envían por la noche (a 20-24°C) junto con la "Hoja de Solicitud de PRP" (IM-CTCV-HEM-15A). Por lo tanto, debe revisarse a primera hora de la mañana el contenido de las cajas de transporte utilizadas para el traslado de estas bolsas. Estas unidades serán procesadas con carácter preferente, ya que se recomienda un tiempo de **24 horas**, desde el momento de la extracción, para iniciar el procesamiento.

2.3. Documentación y obtención de etiquetas para el PRP:

1. Documentación del PRP: El técnico responsable del procesamiento recoge toda la documentación asociada a cada extracción en una funda de plástico identificada con el número de donación: Hoja de solicitud, las etiquetas de la donación y el recuento del Coulter.

2. Etiquetado:

-Etiquetas para identificar el PRP: se imprimen etiquetas en papel especial resistente a bajas temperaturas. Se utiliza el archivo excel "Etiquetas PRP ValCas" que se encuentra en L:\Valencia\FRACCIONAMIENTO\Control Infiltración PRP\PRP Etiquetas que se rellena con los datos de la donación y se imprime en la impresora de etiquetas ZEBRA. Estas etiquetas se utilizarán para identificar los distintos tubos y criotubos a utilizar en el procesamiento y en la hoja de trabajo. Para la impresión de las etiquetas se leerá con lector de código de barras la etiqueta original en la bolsa de recogida.

-Etiquetas para control de calidad: Se utilizan etiquetas preimpresas con números correlativos con la siguiente estructura: 9 seguido del año y 6 dígitos que empiezan por el 0. Por ejemplo, en el año 2022 van desde del 922000000 hasta el 922000999.

3. En la "hoja de trabajo" que se usa durante todo el procesamiento (IM-CP-37A), se rellenan los datos del donante, se pegan las etiquetas correspondientes y se completa la información sobre:

-Recuento plaquetar: En caso de que el recuento plaquetar de la sangre total realizado por Hemodonación supere (por exceso o defecto) significativamente los límites considerados normales ($150-400 \times 10^9$ pq/l) se localizará el tubo que originó ese recuento y se procederá a repetir el recuento, asegurándose de agitar previamente la muestra para uniformizar su contenido. Si el resultado anómalo persiste, se informará al responsable del área.

-Grupo sanguíneo: Utilizando uno de los segmentos de la bolsa, se realiza la determinación del grupo sanguíneo (PR-CTCV-FRA-03) y se introduce en el Hematos mediante la operación SEGM.

CENTRE DE TRANSFUSIÓ COMUNITAT VALENCIANA	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-CP-37	3	PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO FUENTE DE FACTORES DE CRECIMIENTO

-Peso de la bolsa: Se pesa la bolsa retirando los segmentos y se introduce el peso bruto en el Programa Hematos mediante la operación R003.

4. En la “libreta de trabajo” se pega una de las etiquetas con los datos del donante y la donación.

2.4. Procesamiento del PRP:

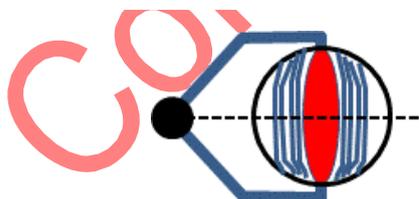
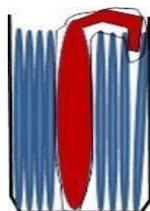
Todo el protocolo de manipulación de la sangre para obtener el PRP se verifica en condiciones de asepsia, en el ambiente estéril proporcionado por la cabina de flujo laminar (PR-CP-06).

1. Eliminar mecánicamente la sangre residual que pueda quedar en los tubulares de los puertos (especialmente en el derecho, mirando por la cara posterior a la etiqueta) de la bolsa con la sangre (ver imagen).



2. Para la centrifugación, se debe colocar la bolsa en el pocillo de la centrífuga, introduciéndola previamente en una segunda bolsa (como protección en caso de rotura) y asegurando un correcto equilibrado con el pocillo opuesto. Además, hay que prestar atención especial a la posición de la bolsa. Se utilizarán espaciadores en los laterales para mantener la bolsa en el centro del pocillo. El tubular de la bolsa y los puertos superiores de la misma se utilizan como sistema de sujeción, colocándolos entre los separadores a uno de los lados (ver figura abajo izquierda).

4444



3. El conjunto tiene que quedar bien apoyado sobre el fondo del pocillo. La bolsa se debe colocar de modo que el giro se corresponda con su plano horizontal (ver figura arriba derecha), es decir, perpendicular al radio de la centrífuga (línea de trazo discontinuo).

4. Seleccionar el programa adecuado según el modelo de centrífuga:

Varifuge 3.0RS (Heraeus)	Rotanta 460R (Hettich)
Programa 10: - Velocidad: 1310rpm (400g). - Aceleración: máxima (9). - Deceleración mínima (1). - Tiempo: 7 min. - Temperatura: 22°C.	Programa 4: - Velocidad: 1313rpm (400g). - Aceleración: máxima (9). - Deceleración mínima (1). - Tiempo: 7 min. - Temperatura: 22°C.

5. Determinación del volumen de PRP necesario en función de los siguientes parámetros:

- Número de alícuotas previsto:
 - PRP: 6 alícuotas, siempre que no se indique otra cosa.
 - PRP Colirio: 20 o 40 alícuotas obtenidas con el dispositivo para preparación de colirios COL-20 (Bexen).
- Volumen de cada alícuota indicado por el especialista: Ajustar el volumen final a lo indicado.

Si no se ha especificado el volumen, evaluar en función del uso propuesto:

CENTRE DE TRANSFUSIÓ COMUNITAT VALENCIANA	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-CP-37	3	PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO FUENTE DE FACTORES DE CRECIMIENTO

- Tratamiento de una patología limitada a una sola zona anatómica (por ejemplo, tendinopatía aquilea, tendinopatía rotuliana, condropatía articular, etc.): 7-8 mL por alícuota.
- Tratamiento de varias lesiones (por ejemplo, gonartrosis bilateral), úlceras cutáneas o alopecia: 10 mL por alícuota.
- Uso oftalmológico: 1,45 mL por alícuota (40 alícuotas, se usarán 2 dispositivos COL-20).

2.5 Separación del PPP y PRP:

Sacar la bolsa del pocillo de la centrifuga con mucho cuidado para evitar turbulencias y colocarla en el desplasmator manual.

En función de las marcas de la placa transparente del plasmator podemos estimar el volumen aproximado de plasma con plaquetas obtenido. Las marcas se han realizado para cada tipo de bolsa: mL en bolsa Jiang= mm altura x 1,4 y mL en bolsa Terumo= mm altura x 1,18).



Será necesario además prever un volumen para el cultivo bacteriológico (1-2 mL) y otra muestra para recuento (1 mL) (PR-CP-03).

Tras la unión (nunca antes), identificar la bolsa de transferencia que vamos a usar escribiendo el número de unidad y conectar al puerto que queda a la derecha. Esta bolsa se cuelga en el gancho, aproximadamente a unos 10 cm de la parte superior de la varilla. Seguidamente, se coloca un tapón en la bolsa de transferencia, al que se conectará la jeringuilla, tras la conexión identificar la jeringa (con etiqueta o rotulador).

Cerrar el desplasmator e iniciar la presión con cuidado, dejando que fluya el PPP (plasma pobre en plaquetas, fracción superior) hacia la bolsa de transferencia sin forzar en exceso, hasta la marca de la placa y pinzar con una pinza pean azul, en este momento, colocar pinza pean en el tubular entre bolsa original y bolsa de transferencia y extraer el volumen de la bolsa de transferencia con la jeringuilla previamente identificada. El resto del volumen de plasma que ha quedado en la bolsa inicial es el PRP (plasma rico en plaquetas).



Anotar el volumen de PPP obtenido en la jeringuilla y traspasar a 1 o más tubos universales (máximo 25 mL) previamente identificados con el número de extracción.

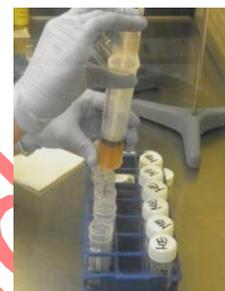
CENTRE DE TRANSFUSIÓ COMUNITAT VALENCIANA	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-CP-37	3	PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO FUENTE DE FACTORES DE CRECIMIENTO

2.6 Alicuotado de PRP:

Quitar la pinza pean para que pueda pasar el PRP a la bolsa de transferencia, inclinando con cuidado el desplasmator con la bolsa hacia el lado contrario al puerto que se esté utilizando, con el fin de aprovechar al máximo la concentración plaquetaria en la proximidad de los hematíes. Cerrar la pinza cuando se observen hematíes en el puerto de la bolsa.

Mediante la misma jeringuilla rotulada extraer el volumen completo de PRP que queda en la bolsa de transferencia. Y repartir en la cantidad prevista de alícuotas.

- Alicuotar el PRP en tubos universales ajustando el volumen de cada dosis a la solicitud del cirujano.
- Cada alícuota estará identificada con la etiqueta correspondiente a la unidad procesada (con el código de donación y nombre del paciente) y el tapón rotulado con las tres primeras letras del primer y segundo apellido del paciente.



Para la toma de muestra para cultivo bacteriológico, utilizar 1-2 mL obtenidos de la misma bolsa.

Identificándola con una etiqueta con el código numérico correspondiente para control de calidad (se debe crear la toma y asociarla al producto en el programa informático). Para evitar la contaminación de la muestra durante la siembra debemos flamear la boca del tubo de hemocultivo.



2.7. Procesamiento del PPP para mejorar el rendimiento:

Es aconsejable utilizar esta estrategia cuando se disponga de un volumen de PPP igual o superior a 15 mL y el recuento plaquetario basal en sangre total no supere las 200×10^3 $\text{pq}/\mu\text{L}$.

Anotar en el campo comentarios del IM-CP-37A el volumen de PPP extraído.

2.7.1 Centrifugación: Con el fin de recuperar plaquetas presentes en el PPP, se centrifugan los tubos a 719 g (1800 r.p.m) durante 10 min (megafuge 1.0, sin freno).

- Una vez terminada la centrifugación se deja cada tubo en reposo durante 1 h.

2.7.2 Adición de plaquetas recuperadas en el PPP:

Para concentrar las plaquetas obtenidas con la centrifugación del PPP, utilizar una pipeta Pasteur y, de arriba hacia abajo, ir aspirando el plasma con mucho cuidado procurando no alterar el sedimento, hasta dejar un volumen final total de PPP de 3 mL (o 6 mL si la dosificación solicitada y el rendimiento obtenido sugieren añadir 1 mL más de volumen a cada alícuota). Se dispone de un tubo modelo con marcas de nivel correspondientes al volumen.

Luego, con pipeta Pasteur, resuspender suavemente el sedimento, evitando la formación de burbujas, durante varios minutos.

En caso de que detecten agregados durante el proceso de resuspensión, no utilizar el PPP concentrado.

Añadir 1 mL del PPP (si se resuspenden en 6 mL o bien 0,5 mL (para el caso de 3 mL) a cada alícuota, mezclando bien el contenido con pipeta Pasteur. Estas cantidades se refieren al caso habitual de 6 alícuotas, para otro número de alícuotas consulte con el responsable del área para efectuar los ajustes oportunos.

2.8 Rendimiento del PRP:

Para realizar el recuento de plaquetas del PRP, con pipeta Pasteur coger un par de gotas de cada alícuota (se pretende conseguir un volumen final de 0,5mL aproximadamente) en un tubo. Agitar suavemente inmediatamente antes de efectuar el recuento con el contador celular (PR-CP-03).

CENTRE DE TRANSFUSIÓ COMUNITAT VALENCIANA	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-CP-37	3	PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO FUENTE DE FACTORES DE CRECIMIENTO

Si, a pesar de todo, el rendimiento del proceso es escaso, consulte con el responsable. Una concentración inferior a la basal no invalidará necesariamente el producto para uso clínico, lo realmente importante es que el número de plaquetas garantice la presencia de una concentración suficiente de factores de crecimiento.

En todo caso:

- Como primera medida, se puede reconstituir la sangre total (sangre residual + PRP) en una bolsa de transferencia y centrifugar de nuevo en las mismas condiciones, tomando las decisiones que correspondan en función del nuevo resultado.
- En la toma de decisiones, se tendrá también en cuenta que una concentración final de plaquetas superior a $225 \times 10^3/\mu\text{L}$ se puede considerar suficiente para el objetivo perseguido.

2.9 Registro de datos y almacenamiento:

- Registrar todos los datos en la "Hoja de trabajo de PRP" (IM-CP-37A).
- El volumen neto de sangre total es el que aparece como tal en la ficha del producto en Hematos.
- El volumen de producto final (PRP) es el correspondiente a la suma del volumen de las alícuotas al final del procesamiento.
- Si se ha extraído PPP, se debe indicar el volumen en el campo: "Volumen extraído PPP".
- Si se ha añadido a las alícuotas con el PRP el PPP obtenido tras centrifugación y concentración, se debe indicar en comentarios: "se añade X mL de PPP por alícuota".
- Confirmar el correcto etiquetado de cada alícuota y almacenar en congelador a -80°C . Indicar la localización (número de caja y posición en la misma) en el apartado correspondiente del IM-CP-37A.

2.10 Obtención de PRP coagulado:

En algunos casos el uso clínico requiere la coagulación del PRP, ya sea para uso tópico (por ejemplo para el tratamiento de úlceras cutáneas) o relleno (cirugía de quiste esencial).

Preparación del activador:

Se prepara una alícuota adicional de 1 mL en un criotubo. Se añaden 0,05 mL de cloruro cálcico al 10% (1:20), asegurando que se mezcle bien, y se introduce en baño o estufa a 37°C hasta que se coagule. Con pinza estéril en el interior de la cabina, se retira el coágulo dejando el sobrenadante en el criotubo. Este criotubo se identifica como "activador", con el código de donación y nombre y apellidos del paciente. En caso de que se envíen congeladas para su descongelación en el Hospital solicitante, se prepara tantas alícuotas de "activador" como alícuotas de PRP.

Preparación del crioprecipitado:

El plasma retirado para concentrar el PPP se puede destinar a producción de crioprecipitado. En tal caso, se congelará dicho plasma sobrenadante y, en los días siguientes, se procederá a su descongelación lenta (en nevera). Una vez descongelado en la nevera, se centrifuga en la Megafuge 1.0 (Heraeus) a 4000 rpm 10 min y finalmente se concentra el sedimento retirando plasma sobrenadante hasta dejar suficiente volumen para tantas alícuotas de 0,5 ml como número de alícuotas de PRP se hayan obtenido previamente. Estos criotubos se identifican como "crioprecipitado", con el código de donación y nombre y apellidos del paciente.

Almacenar tanto los tubos con crioprecipitado como los activadores con el PRP del paciente correspondiente en el congelador a -80°C .

Preparación del colirio:

Una vez obtenido el PRP (60-70mL) se congela a -80°C . Tras la descongelación, se añadirá cloruro cálcico (en la misma proporción que en el caso del activador). Se incubará a 37°C y, una vez se haga patente el coágulo, se agita para despegarlo de las paredes del tubo (repetir el proceso hasta que ya no quede pegado a las paredes del tubo). Centrifugar a 4000rpm 10min para que se retraiga

CENTRE DE TRANSFUSIÓ COMUNITAT VALENCIANA	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-CP-37	3	PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO FUENTE DE FACTORES DE CRECIMIENTO

el coágulo. Dispensar el sobrenadante con el equipo COL-20 (Bexen). Almacenar congelado en los viales, dentro de la caja de aislante que se suministra con el equipo (debidamente identificada con el nombre del paciente).

3. Distribución del PRP:

3.1 Solicitud de alícuotas por parte del Hospital:

El hospital solicitante comunica con antelación "la programación de las citas" informado de las necesidades para cada paciente y en qué fecha, de modo que el personal pueda organizar adecuadamente la descongelación del PRP.

En el momento de la distribución se realizarán las operaciones del programa Hematos descritas en el AP-CP-37A. El producto se puede entregar descongelado o congelado.

3.2 Distribución de PRP descongelado:

La descongelación se realiza mediante inmersión en baño a 37°C, hasta la completa descongelación del producto. Dependiendo del tipo de presentación solicitada por el cirujano, se procederá como sigue:

- PRP líquido: cargar el contenido del tubo en una jeringuilla con tapón estéril, correctamente identificada y etiquetada con el nombre del paciente y código de donación. Se retira la etiqueta del tubo y se coloca en la jeringuilla.
- PRP coagulado:
 - Descongelar una alícuota y los criotubos "activador" y "crioprecipitado" correspondientes.
 - Mezclar los tres componentes.
 - Añadir solución del cloruro cálcico al 10% al tubo, en proporción 1:25. Ejemplos:
 - Para tubos con 10 mL añadir 400 µL.
 - Para tubos con 5 mL añadir 200 µL.
 - Incubar a 37°C.
 - Una vez coagulado, separar 1 mL en un nuevo criotubo, que se identificará con los datos del paciente, como "activador" para el siguiente procedimiento.
 - Identificar convenientemente el recipiente con el producto listo para su uso.

-Se introduce el producto en una bolsa de esterilización identificada con la etiqueta que genera Hematos para la alícuota correspondiente y se grapa a esta bolsa el albarán de entrega nominal. Además, se añade una nota el número de alícuotas todavía disponibles y su caducidad.

3.3 Distribución de PRP congelado:

Por ejemplo, para el caso del Hospital Provincial, General de Castellón u Hospital Arnau de Vilanova:

- Una vez activado el producto se puede proceder a su liberación. Se contacta con el centro de destino para organizar el transporte (para el caso del Provincial o General de Castellón, se utiliza el Centro de Transfusión de Castellón como intermediario).
- En caso de que se pretenda realizar coagulación en el centro sanitario de destino, preparar tantos criotubos "activadores" y "crioprecipitados" como alícuotas de PRP. Asimismo, el centro de destino deberá disponer de solución de cloruro cálcico al 10% para añadir a las alícuotas descongeladas, de acuerdo con este protocolo.

Cuando se trate de un producto para utilizar como colirio:

Se utilizan las etiquetas disponibles en la dirección L:\Valencia\FRACCIONAMIENTO\Control Infiltración PRP\PRP.

- Con las alícuotas se remite el correspondiente albarán de entrega y la etiqueta generada por Hematos para cada una de aquéllas.
- El envío se realizará en el recipiente que se proporciona conjuntamente con el sistema de procesamiento (COL-20) y se entregará en bolsa isoterma.

CENTRE DE TRANSFUSIÓ COMUNITAT VALENCIANA	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-CP-37	3	PREPARACIÓN DEL PLASMA RICO EN PLAQUETAS COMO FUENTE DE FACTORES DE CRECIMIENTO

Cuando se trate de un producto coagulado: se añade además el activador, el crioprecipitado y su caso, el cloruro cálcico.

4. Programa Informático:

Seguir los pasos que se muestran en los diagramas de flujo asociados a las diferentes operaciones (AP-CP-37A): recepción, centrifugación/congelación, grupo sanguíneo y control microbiológico. Y, una vez incorporado el resultado del control microbiológico, activación, alicuotado, descongelación y distribución.

En el caso de uso como colirio, el producto (I2788100) se mantiene en el programa informático como una unidad, sin alicuotar.

El resultado del cultivo microbiológico se traslada al módulo laboratorio de Hematos por el responsable del área.

5. Adjudicación de estatus:

De acuerdo con los resultados proporcionados por el control de calidad, el responsable del área dejará constancia en IM-CP-37A del destino final del producto: activación o destrucción (en este último caso se detallará el motivo).

DOCUMENTACIÓN COMPLEMENTARIA:

AP-CP-37A: Diagramas de flujo para el registro de operaciones asociadas al plasma rico en plaquetas.

AP-CP-37B: Instrucciones para el envío de unidades de sangre para obtención de PRP.

AP-CP-37C: Consideraciones para el uso clínico del PRP.

IM-CP-37A: Hoja de trabajo PRP.

DOCUMENTOS RELACIONADOS:

PR-CP-02: Utilización del congelador programable Planer para la congelación de células y tejidos.

PR-CP-03: Utilización del contador celular.

PR-CP-06: Instrucciones de trabajo en la Sala limpia y cabina de flujo laminar.

PR-CTCV-FRA-03: Recepción, tipaje, selección, control de temperatura y peso de las unidades de sangre total.

PR-CTCV-HEM-15: Donación de sangre para obtención de plasma rico en plaquetas (PRP)

IM-CTCV-HEM-15A: Hoja solicitud de PRP.

IM-CTCV-HEM-15B: Hoja de donación de PRP.

PR-CTCV-HEM-16: Obtención de PRP por Aféresis.

Código		Autor	Revisado	Aprobado
PR-ILP-16				
Edición	Fecha emisión			
01	07/9/2023	Fdo: FEA	Fdo: Jefe Sección	Fdo: Resp Calidad

OBJETIVO

Análisis de los marcadores de activación plaquetaria.

DIRIGIDO A

Personal del laboratorio de Inmunología Leucoplaquetar.

DESARROLLO

1. MATERIALES Y EQUIPO

1. Anticuerpos monoclonales:

FITC	PE	TUBO
CD41a	IgG1	1
CD41a	CD62P	2

2. Citómetro FACSCanto II con el programa FACSDiva (Becton-Dickinson®).

3. Solución de lavado PBS-EDTA-BSA 0,5%

4. Solución FACS flow (Becton-Dickinson®)

5. Solución de PFA 1%

6. Tubos de polipropileno 12 x 75 mm

7. Puntas de pipeta

8. Pipeta automática 0,1-1 mL

9. Pipeta automática 1-20 µL

10. Pipeta automática 20-200 µL

11. Agitador tipo vortex

12. Centrífuga

2. METODOLOGÍA

- Desde el servicio Fraccionamiento entregarán las muestras a estudiar
- Dejar reposar las plaquetas durante 10 minutos.
- Colocar en un tubo de plástico de polipropileno 1 mL de PFA al 1% a 4°C
- Inmediatamente tomar 100 µL del tubo de plaquetas y colocarlos en el que contiene el PFA (sin someterlo a agitación).
- Incubar a 4° C durante 15 min. NOTA: El resto de la muestra se empleará para estudio de determinación de leucocitos residuales (ver PR-ILP-15).
- Centrifugar 5 minutos a 500 g (aproximadamente), con la centrífuga actual esto equivale a 1500 r.p.m.
- Decantar, vortexar y lavar dos veces con 2 mL de PBS-EDTA-BSA y reconstituir con 2 mL de esta solución.
- **MUY IMPORTANTE:** Este es el punto en el que se podría para el estudio, dejándolo a 4°C para continuar el día siguiente. Si se puede realizar el mismo día mejor y habría que seguir con el siguiente punto
- Rotular dos tubos Falcon por muestra que se ponen en filas distintas de la gradilla y cada tubo se le añaden los siguientes anticuerpos monoclonales

	Código	Edición	Título del procedimiento
	PR-ILP-16	1	ESTUDIO DE LA ACTIVACIÓN PLAQUETARIA

Tubo	FITC	PE
1	CD41a (10 µL)	IgG1 (10 µL)
2	CD41a (10 µL)	CD62P (10 µL)

- 7.- Dispensar los anticuerpos monoclonales (CD 41A, MOUSE IgG, CD62P) en los tubos y añadir 100 µL de plaquetas y agitar (vortear)
- 8.- Incubar 20 minutos a temperatura ambiente en oscuridad
- 9.- Lavar una vez con PBS-EDTA-BSA , 2 mL (RL-CIT-03) SIN agitar (sin vortear).
- 10.- Reconstituir en 1 mL de solución de lavado FACS flow para lectura con agitación (vortear)
- 11.- Utilizar el programa FACSDiva (Becton-Dickinson®).
- 12.- Emplear un dot-plot SSC/CD41y hacer un gate en CD41 para tomar todas las plaquetas.
- 13.- Realizar un segundo dot-plot CD41/CD62, en el que sólo tomaremos las plaquetas
- 14.- Hacer cuadrantes en el dot-plot anterior para determinar el porcentaje de plaquetas activadas
- 15.- Complimentar informe introduciendo los resultados en la página de Excel "Control calidad.xls" que se ubica en la siguiente ruta:

L:\GENERAL\Calidad Componentes\Controlespor Fecha\Valencia

DOCUMENTACIÓN COMPLEMENTARIA

PR-ILP-15: Determinación de leucocitos residuales.

```

GET DATA /TYPE=XLSX
  /FILE='C:\Users\Jvicent\Desktop\Sangre.xlsx'
  /SHEET=name 'Hoja1'
  /CELLRANGE=full
  /READNAMES=on
  /ASSUMEDSTRWIDTH=32767.
EXECUTE.
DATASET NAME ConjuntoDatos1 WINDOW=FRONT.
DESCRIPTIVES VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1Rec
Plq @1difGB @1difGR
  @1difPDW @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2RecPlq @2difGB @2difGR
@2difPDW @2difMPV @2difPLRC
  @2difGran @2difLinf @2Activ @3RecPlq @3difGB @3difGR @3difPDW @3difMPV
@3difPLRC @3difGran @3difLinf
  /STATISTICS=MEAN STDDEV MIN MAX SEMEAN.

```

Descriptivos

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 13:03:56
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	421
Manejo de valores perdidos	Definición de perdidos	Los valores perdidos definidos por el usuario se trata como valores perdidos.
	Casos utilizados	Se utilizan todos los datos no perdidos.
Sintaxis		DESCRIPTIVES VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1RecPlq @1difGB @1difGR @1difPDW @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2RecPlq @2difGB @2difGR @2difPDW @2difMPV @2difPLRC @2difGran @2difLinf @2Activ @3RecPlq @3difGB @3difGR @3difPDW @3difMPV @3difPLRC @3difGran @3difLinf /STATISTICS=MEAN STDDEV MIN MAX SEMEAN.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

[ConjuntoDatos1]

Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media		Desviación estándar
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error estándar	Estadístico
Edad	421	20	80	55,81	,571	11,721
Plq	421	62	871	389,48	6,344	130,174
GB	421	,0	5,7	1,085	,0469	,9628
GR	421	,00	,07	,0133	,00047	,00968
PDW	421	13,8	16,8	15,465	,0203	,4166
MPV	421	6,3	12,5	9,271	,0524	1,0748
PLCR	421	6,9	54,5	31,218	,4343	8,9119
Gran	421	,00	75,80	8,5055	,71825	14,73733
Linf	421	,0	89,7	32,386	1,7525	35,9582
Días Conc	421	1	667	231,10	7,726	158,515
1Rec Plq	421	-,422459893	,7083333333	,0410980982	,0055185867	,1132319312
1difGB	388	-3,90000000	1,700000000	-,411005155	,0272291811	,5363526646
1difGR	399	-,020000000	,0700000000	,0146867168	,0005585111	,0111562498
1dif PDW	421	,0000000000	,1056338028	,0533793030	,0008786067	,0180275028
1dif MPV	421	-,141304348	,8295454545	,2338387510	,0057570870	,1181255493
1dif PLRC	421	-,327814570	3,043478261	,5938730952	,0193276651	,3965705326
1dif Gran	196	-75,8000000	9,300000000	-16,9536735	1,255613890	17,57859446
1Activ	42	11,0	63,4	30,281	2,3540	15,2557
2% Rec Plq	144	-,375675676	,0560000000	-,159829339	,0061792585	,0741511020
2dif GB	134	-1,60000000	,3000000000	-,193283582	,0243002799	,2812960769
2dif GR	142	-,030000000	,0100000000	-,005422535	,0006211345	,0074016712
2dif PDW	144	-,049382716	,1317365269	,0232056166	,0019725350	,0236704200
2dif MPV	144	-,221374046	,0582524272	-,082223045	,0050333834	,0604006006
2dif P-LRC	144	-,432242991	,0890052356	-,156856854	,0090272581	,1083270977
2dif Gran %	19	-1,50000000	5,600000000	,8913033228	,4348339705	1,895397335
2dif % Linf	43	-94,5000000	93,50000000	-30,1467442	7,729149143	50,68342035
2Activ %	51	,110	52,900	20,52602	1,970079	14,069177
3% Rec Plq	36	-,346666667	-,082251082	-,186587293	,0090295514	,0541773082
3dif GB	28	-1,10000000	,1000000000	-,146428571	,0535714286	,2834733548
3dif GR	36	,0000000000	,0300000000	,0019444444	,0009611042	,0057666254
3dif PDW	36	-,012195122	,1858974359	,0313073359	,0053642679	,0321856076
3dif MPV	36	-,100917431	,1485148515	,0001042272	,0097638683	,0585832100
3dif P-LRC	35	-,219239374	,2480314961	-,019816793	,0215558409	,1275260744
3dif Gran	5	2,800000000	6,323255814	4,641510667	,6030912861	1,348553112
3dif Linf	7	-1,00000000	,5587703436	-,474871975	,2554463768	,6758475863
N válido (por lista)	2					

CORRELATIONS

```

/VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1RecPlq @1difG
B @1difGR @1difPDW
    @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2Días80°C @2RecPlq @2difGB @2dif
GR @2difPDW @2difMPV
    @2difPLRC @2difGran @2difLinf @2Activ @3Días80°C @3RecPlq @3difGB @3di
fGR @3difPDW @3difMPV
    @3difPLRC @3difGran @3difLinf
/PRINT=TWOTAIL NOSIG
/MISSING=PAIRWISE.

```

Correlaciones

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 13:07:15
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo Filtro Ponderación Segmentar archivo N de filas en el archivo de datos de trabajo	ConjuntoDatos1 <ninguno> <ninguno> <ninguno> 421
Manejo de valores perdidos	Definición de perdidos Casos utilizados	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos. Las estadísticas para cada par de variables se basan en todos los casos con datos válidos para dicho par.
Sintaxis		CORRELATIONS /VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1RecPlq @1difGB @1difGR @1difPDW @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2Días80°C @2RecPlq @2difGB @2difGR @2difPDW @2difMPV @2difPLRC @2difGran @2difLinf @2Activ @3Días80°C @3RecPlq @3difGB @3difGR @3difPDW @3difMPV @3difPLRC @3difGran @3difLinf /PRINT=TWOTAIL NOSIG /MISSING=PAIRWISE.
Recursos	Tiempo de procesador Tiempo transcurrido	00:00:00,02 00:00:00,05

Anejo 4. Análisis estadístico edad, sexo y grupo sanguíneo

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 13:20:59
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	421
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		GLM Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf BY GS Sex WITH Edad /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Edad=MEAN) /EMMEANS=TABLES(GS) WITH (Edad=MEAN) COMPARE ADJ (LSD) /EMMEANS=TABLES(Sex) WITH (Edad=MEAN) COMPARE ADJ (LSD) /EMMEANS=TABLES(GS*Sex) WITH(Edad=MEAN) /PRINT=DESCRIPTIVE...
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,06
	Tiempo transcurrido	00:00:00,08

Factores inter-sujetos

		N
GS	A-	39
	A+	147
	AB-	3
	AB+	17
	B-	7
	B+	30
	O-	42
	O+	136
Sex	m	283
	v	138

Estadísticos descriptivos

	GS	Sex	Media	Desviación estándar	N
Plq	A-	m	399,47	150,597	30
		v	417,22	115,668	9
		Total	403,56	142,064	39
	A+	m	398,67	145,527	108
		v	347,69	102,839	39
		Total	385,14	137,053	147
	AB-	m	308,67	54,930	3
		Total	308,67	54,930	3
	AB+	m	385,88	44,180	8
		v	363,56	52,766	9
		Total	374,06	48,764	17
	B-	m	435,00	62,225	2
		v	379,20	264,150	5
		Total	395,14	218,869	7
	B+	m	389,43	105,339	21
		v	326,33	107,267	9
		Total	370,50	108,128	30
	O-	m	412,48	156,197	21
v		388,29	110,615	21	
Total		400,38	134,237	42	
O+	m	400,06	135,069	90	
	v	383,24	106,728	46	
	Total	394,37	126,048	136	
Total	m	398,47	137,288	283	
	v	371,04	112,439	138	
	Total	389,48	130,174	421	
GB	A-	m	1,060	,8207	30
		v	2,122	1,5123	9
		Total	1,305	1,0959	39
	A+	m	1,064	,9993	108
		v	1,036	1,1106	39
		Total	1,056	1,0262	147
	AB-	m	1,033	,9292	3
		Total	1,033	,9292	3
	AB+	m	1,063	,6567	8
		v	,800	,6946	9
		Total	,924	,6694	17
	B-	m	,600	,1414	2
		v	,600	,4416	5
		Total	,600	,3651	7

Estadísticos descriptivos

GS	Sex	Media	Desviación estándar	N	
B+	m	,752	,5802	21	
	v	1,111	,7897	9	
	Total	,860	,6574	30	
O-	m	1,129	,7766	21	
	v	1,052	,8177	21	
	Total	1,090	,7886	42	
O+	m	1,100	1,0068	90	
	v	1,237	1,0030	46	
	Total	1,146	1,0039	136	
Total	m	1,053	,9279	283	
	v	1,150	1,0310	138	
	Total	1,085	,9628	421	
GR	A-	m	,0143	,00858	30
		v	,0178	,00833	9
		Total	,0151	,00854	39
A+	m	,0134	,01006	108	
	v	,0128	,00857	39	
	Total	,0133	,00966	147	
AB-	m	,0100	,01000	3	
	Total	,0100	,01000	3	
AB+	m	,0150	,00756	8	
	v	,0100	,00707	9	
	Total	,0124	,00752	17	
B-	m	,0100	,00000	2	
	v	,0100	,00707	5	
	Total	,0100	,00577	7	
B+	m	,0105	,00590	21	
	v	,0089	,00601	9	
	Total	,0100	,00587	30	
O-	m	,0124	,00768	21	
	v	,0114	,00727	21	
	Total	,0119	,00740	42	
O+	m	,0139	,01158	90	
	v	,0154	,01110	46	
	Total	,0144	,01140	136	
Total	m	,0134	,00991	283	
	v	,0133	,00921	138	
	Total	,0133	,00968	421	
PDW	A-	m	15,490	,4342	30
		v	15,844	,1740	9
		Total	15,572	,4161	39

Estadísticos descriptivos

GS	Sex	Media	Desviación estándar	N
A+	m	15,438	,4096	108
	v	15,451	,4334	39
	Total	15,441	,4146	147
AB-	m	15,200	,4583	3
	Total	15,200	,4583	3
AB+	m	15,688	,2167	8
	v	15,311	,3723	9
	Total	15,488	,3569	17
B-	m	15,000	,4243	2
	v	15,480	,5718	5
	Total	15,343	,5503	7
B+	m	15,348	,2960	21
	v	15,500	,5612	9
	Total	15,393	,3903	30
O-	m	15,390	,3923	21
	v	15,310	,4288	21
	Total	15,350	,4080	42
O+	m	15,532	,4316	90
	v	15,493	,3974	46
	Total	15,519	,4193	136
Total	m	15,465	,4113	283
	v	15,464	,4287	138
	Total	15,465	,4166	421
MPV A-	m	9,310	1,0138	30
	v	10,044	,6444	9
	Total	9,479	,9849	39
MPV A+	m	9,293	1,1722	108
	v	9,151	1,0723	39
	Total	9,255	1,1446	147
MPV AB-	m	8,700	,6083	3
	Total	8,700	,6083	3
MPV AB+	m	9,837	,8518	8
	v	8,856	1,0014	9
	Total	9,318	1,0364	17
MPV B-	m	8,350	,9192	2
	v	9,260	1,0114	5
	Total	9,000	1,0100	7
MPV B+	m	9,029	1,0006	21
	v	9,367	1,4705	9
	Total	9,130	1,1454	30

Estadísticos descriptivos

	GS	Sex	Media	Desviación estándar	N	
	O-	m	9,471	1,0016	21	
		v	8,890	1,0295	21	
		Total	9,181	1,0454	42	
	O+	m	9,438	1,0481	90	
		v	9,052	,9829	46	
		Total	9,307	1,0391	136	
	Total	m	9,337	1,0818	283	
		v	9,136	1,0512	138	
		Total	9,271	1,0748	421	
	PLCR	A-	m	31,347	8,3120	30
			v	37,589	5,7003	9
			Total	32,787	8,1649	39
A+		m	31,557	9,5794	108	
		v	30,141	8,9051	39	
		Total	31,182	9,3961	147	
AB-		m	26,267	5,5248	3	
		Total	26,267	5,5248	3	
AB+		m	36,075	6,9391	8	
		v	27,789	8,4995	9	
		Total	31,688	8,6811	17	
B-		m	23,100	6,9296	2	
		v	31,160	8,9659	5	
		Total	28,857	8,7785	7	
B+		m	29,457	8,8734	21	
		v	32,122	12,5326	9	
		Total	30,257	9,9586	30	
O-		m	32,976	8,6274	21	
		v	27,819	8,8432	21	
		Total	30,398	9,0148	42	
O+		m	32,484	8,5552	90	
	v	29,413	8,0558	46		
	Total	31,446	8,4859	136		
Total	m	31,791	8,9193	283		
	v	30,043	8,8126	138		
	Total	31,218	8,9119	421		
Gran	A-	m	8,9033	13,52547	30	
		v	5,3000	6,14471	9	
		Total	8,0718	12,24440	39	
	A+	m	8,5028	15,76693	108	
		v	6,2487	10,43715	39	
		Total	7,9048	14,54442	147	

Estadísticos descriptivos

GS	Sex	Media	Desviación estándar	N	
	AB-	m	24,7333	33,07330	3
		Total	24,7333	33,07330	3
	AB+	m	4,5375	4,88260	8
	v	11,2556	16,24870	9	
	Total	8,0941	12,42525	17	
	B-	m	,0000	,00000	2
		v	4,3800	9,79398	5
	Total		3,1286	8,27742	7
	B+	m	9,4857	18,91804	21
		v	11,0222	19,22998	9
	Total		9,9467	18,69082	30
	O-	m	7,4905	11,17457	21
		v	9,3333	18,35822	21
	Total		8,4119	15,03943	42
	O+	m	6,9256	13,02758	90
		v	12,9417	16,87246	46
	Total		8,9604	14,66093	136
	Total	m	8,0413	14,62178	283
		v	9,4574	14,97997	138
	Total		8,5055	14,73733	421
Linf	A-	m	34,313	36,0321	30
		v	62,722	35,9082	9
	Total		40,869	37,5408	39
	A+	m	31,429	35,9232	108
		v	31,500	36,9780	39
	Total		31,448	36,0785	147
	AB-	m	35,133	39,7633	3
	Total		35,133	39,7633	3
	AB+	m	41,038	43,8983	8
		v	37,033	36,4146	9
	Total		38,918	38,8631	17
	B-	m	,000	,0000	2
		v	13,460	30,0975	5
	Total		9,614	25,4370	7
	B+	m	16,071	28,2326	21
		v	39,122	40,1040	9
	Total		22,987	33,2989	30
	O-	m	35,171	37,6105	21
		v	39,686	38,3532	21
	Total		37,429	37,5871	42

Estadísticos descriptivos

GS	Sex	Media	Desviación estándar	N
O+	m	29,189	35,4024	90
	v	36,850	34,5626	46
	Total	31,780	35,1809	136
Total	m	30,249	35,5540	283
	v	36,770	36,5122	138
	Total	32,386	35,9582	421

Pruebas multivariante^a

Efecto		Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Intersección	Traza de Pillai	,995	9283,607 ^b	8,000	398,000	,000
	Lambda de Wilks	,005	9283,607 ^b	8,000	398,000	,000
	Traza de Hotelling	186,605	9283,607 ^b	8,000	398,000	,000
	Raíz mayor de Roy	186,605	9283,607 ^b	8,000	398,000	,000
GS	Traza de Pillai	,142	1,046	56,000	2828,000	,384
	Lambda de Wilks	,865	1,045	56,000	2148,607	,384
	Traza de Hotelling	,148	1,045	56,000	2774,000	,385
	Raíz mayor de Roy	,061	3,062 ^c	8,000	404,000	,002
Sex	Traza de Pillai	,035	1,782 ^b	8,000	398,000	,079
	Lambda de Wilks	,965	1,782 ^b	8,000	398,000	,079
	Traza de Hotelling	,036	1,782 ^b	8,000	398,000	,079
	Raíz mayor de Roy	,036	1,782 ^b	8,000	398,000	,079
GS * Sex	Traza de Pillai	,112	,958	48,000	2418,000	,556
	Lambda de Wilks	,891	,967	48,000	1962,389	,539
	Traza de Hotelling	,118	,975	48,000	2378,000	,522
	Raíz mayor de Roy	,078	3,934 ^c	8,000	403,000	,000
Edad	Traza de Pillai	,041	2,107 ^b	8,000	398,000	,034
	Lambda de Wilks	,959	2,107 ^b	8,000	398,000	,034
	Traza de Hotelling	,042	2,107 ^b	8,000	398,000	,034
	Raíz mayor de Roy	,042	2,107 ^b	8,000	398,000	,034

a. Diseño : Intersección + GS + Sex + GS * Sex + Edad

b. Estadístico exacto

c. El estadístico es un límite superior en F que genera un límite inferior en el nivel de significación.

Pruebas de efectos inter-sujetos

Origen	Variable dependiente	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	Plq	294215,980 ^a	15	19614,399	1,164	,297
	GB	15,947 ^b	15	1,063	1,153	,306
	GR	,001 ^c	15	7,520E-5	,797	,681
	PDW	4,351 ^d	15	,290	1,714	,046
	MPV	23,194 ^e	15	1,546	1,355	,166
	PLCR	1625,552 ^f	15	108,370	1,383	,152
	Gran	2971,891 ^g	15	198,126	,909	,554
	Linf	22722,556 ^h	15	1514,837	1,179	,285
Intersección	Plq	3285134,856	1	3285134,856	195,006	,000
	GB	13,774	1	13,774	14,941	,000
	GR	,002	1	,002	25,491	,000
	PDW	3633,398	1	3633,398	21472,339	,000
	MPV	1266,623	1	1266,623	1110,359	,000
	PLCR	13282,489	1	13282,489	169,528	,000
	Gran	2539,018	1	2539,018	11,652	,001
	Linf	21596,238	1	21596,238	16,809	,000
GS	Plq	88220,302	7	12602,900	,748	,631
	GB	9,948	7	1,421	1,542	,152
	GR	,001	7	,000	1,459	,180
	PDW	2,447	7	,350	2,066	,046
	MPV	7,722	7	1,103	,967	,455
	PLCR	527,789	7	75,398	,962	,458
	Gran	1650,803	7	235,829	1,082	,374
	Linf	12959,667	7	1851,381	1,441	,187
Sex	Plq	41300,872	1	41300,872	2,452	,118
	GB	1,071	1	1,071	1,162	,282
	GR	7,272E-6	1	7,272E-6	,077	,781
	PDW	,213	1	,213	1,256	,263
	MPV	,002	1	,002	,002	,964
	PLCR	,229	1	,229	,003	,957
	Gran	129,990	1	129,990	,597	,440
	Linf	3652,159	1	3652,159	2,843	,093
GS * Sex	Plq	31841,395	6	5306,899	,315	,929
	GB	8,290	6	1,382	1,499	,177
	GR	,000	6	4,904E-5	,520	,793
	PDW	2,055	6	,342	2,024	,061
	MPV	14,862	6	2,477	2,171	,045
	PLCR	1060,248	6	176,708	2,255	,037
	Gran	1307,334	6	217,889	1,000	,425
	Linf	6705,435	6	1117,573	,870	,517
Edad	Plq	117782,554	1	117782,554	6,992	,009
	GB	,240	1	,240	,260	,610
	GR	3,596E-7	1	3,596E-7	,004	,951
	PDW	,329	1	,329	1,942	,164
	MPV	,452	1	,452	,396	,529
	PLCR	27,955	1	27,955	,357	,551

Pruebas de efectos inter-sujetos

Origen	Variable dependiente	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
	Gran	219,036	1	219,036	1,005	,317
	Linf	378,083	1	378,083	,294	,588
Error	Plq	6822759,098	405	16846,319		
	GB	373,355	405	,922		
	GR	,038	405	9,436E-5		
	PDW	68,531	405	,169		
	MPV	461,997	405	1,141		
	PLCR	31731,678	405	78,350		
	Gran	88247,487	405	217,895		
	Linf	520334,237	405	1284,776		
Total	Plq	70980369,00	421			
	GB	884,730	421			
	GR	,114	421			
	PDW	100756,760	421			
	MPV	36669,060	421			
	PLCR	443656,090	421			
	Gran	121676,080	421			
	Linf	984636,470	421			
Total corregido	Plq	7116975,078	420			
	GB	389,303	420			
	GR	,039	420			
	PDW	72,883	420			
	MPV	485,191	420			
	PLCR	33357,229	420			
	Gran	91219,378	420			
	Linf	543056,793	420			

- a. R al cuadrado = ,041 (R al cuadrado ajustada = ,006)
- b. R al cuadrado = ,041 (R al cuadrado ajustada = ,005)
- c. R al cuadrado = ,029 (R al cuadrado ajustada = -,007)
- d. R al cuadrado = ,060 (R al cuadrado ajustada = ,025)
- e. R al cuadrado = ,048 (R al cuadrado ajustada = ,013)
- f. R al cuadrado = ,049 (R al cuadrado ajustada = ,013)
- g. R al cuadrado = ,033 (R al cuadrado ajustada = -,003)
- h. R al cuadrado = ,042 (R al cuadrado ajustada = ,006)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
Plq	382,056 ^{a,b}	11,400	359,646	404,467
GB	1,051 ^{a,b}	,084	,885	1,217
GR	,012 ^{a,b}	,001	,011	,014
PDW	15,432 ^{a,b}	,036	15,361	15,503
MPV	9,204 ^{a,b}	,094	9,019	9,388
PLCR	30,624 ^{a,b}	,777	29,096	32,153
Gran	8,725 ^{a,b}	1,297	6,176	11,274
Linf	32,165 ^{a,b}	3,148	25,976	38,354

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Edad = 55,81.

b. Se basa en la media marginal de población modificada.

2. GS

Estimaciones

Variable dependiente	GS	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Plq	A-	409,879 ^a	24,671	361,379	458,379
	A+	372,466 ^a	12,127	348,627	396,306
	AB-	318,626 ^{a,b}	75,031	171,128	466,125
	AB+	372,581 ^a	31,544	310,569	434,592
	B-	404,979 ^a	54,302	298,230	511,729
	B+	358,376 ^a	25,856	307,547	409,205
	O-	395,884 ^a	20,100	356,372	435,397
	O+	391,944 ^a	11,763	368,820	415,068
GB	A-	1,589 ^a	,183	1,230	1,948
	A+	1,051 ^a	,090	,875	1,227
	AB-	1,019 ^{a,b}	,555	-,072	2,110
	AB+	,934 ^a	,233	,476	1,393
	B-	,603 ^a	,402	-,187	1,393
	B+	,931 ^a	,191	,555	1,307
	O-	1,097 ^a	,149	,805	1,389
	O+	1,168 ^a	,087	,997	1,339
GR	A-	,016 ^a	,002	,012	,020
	A+	,013 ^a	,001	,011	,015
	AB-	,010 ^{a,b}	,006	-,001	,021
	AB+	,012 ^a	,002	,008	,017
	B-	,010 ^a	,004	,002	,018
	B+	,010 ^a	,002	,006	,013

Estimaciones

Variable dependiente	GS	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
	O-	,012 ^a	,002	,009	,015
	O+	,015 ^a	,001	,013	,016
PDW	A-	15,665 ^a	,078	15,511	15,818
	A+	15,446 ^a	,038	15,370	15,521
	AB-	15,183 ^{a,b}	,238	14,716	15,651
	AB+	15,503 ^a	,100	15,306	15,699
	B-	15,244 ^a	,172	14,905	15,582
	B+	15,423 ^a	,082	15,262	15,584
	O-	15,358 ^a	,064	15,232	15,483
	O+	15,512 ^a	,037	15,439	15,586
MPV	A-	9,674 ^a	,203	9,275	10,073
	A+	9,223 ^a	,100	9,027	9,420
	AB-	8,680 ^{a,b}	,617	7,467	9,894
	AB+	9,351 ^a	,260	8,840	9,861
	B-	8,809 ^a	,447	7,931	9,688
	B+	9,197 ^a	,213	8,778	9,615
	O-	9,190 ^a	,165	8,865	9,515
	O+	9,244 ^a	,097	9,054	9,435
PLCR	A-	34,444 ^a	1,683	31,137	37,752
	A+	30,860 ^a	,827	29,234	32,486
	AB-	26,113 ^{a,b}	5,117	16,054	36,172
	AB+	31,965 ^a	2,151	27,736	36,194
	B-	27,163 ^a	3,703	19,883	34,443
	B+	30,782 ^a	1,763	27,316	34,248
	O-	30,467 ^a	1,371	27,772	33,162
	O+	30,944 ^a	,802	29,367	32,521
Gran	A-	7,168 ^a	2,806	1,652	12,684
	A+	7,345 ^a	1,379	4,634	10,056
	AB-	25,163 ^{a,b}	8,533	8,388	41,938
	AB+	7,804 ^a	3,588	,752	14,857
	B-	2,099 ^a	6,176	-10,042	14,239
	B+	10,275 ^a	2,941	4,495	16,056
	O-	8,218 ^a	2,286	3,724	12,712
	O+	9,946 ^a	1,338	7,317	12,576
Linf	A-	48,605 ^a	6,813	35,211	61,998
	A+	31,424 ^a	3,349	24,841	38,007

Estimaciones

Variable dependiente	GS	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
	AB-	35,698 ^{a,b}	20,721	-5,036	76,431
	AB+	38,914 ^a	8,711	21,789	56,040
	B-	6,610 ^a	14,996	-22,870	36,090
	B+	27,625 ^a	7,140	13,588	41,662
	O-	37,174 ^a	5,551	26,262	48,086
	O+	33,036 ^a	3,248	26,650	39,422

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Edad = 55,81.

b. Se basa en la media marginal de población modificada.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
Plq	A-	A+	37,413	27,496	,174	-16,640	91,466
		AB-	91,253 ^a	78,955	,248	-63,960	246,466
		AB+	37,299	40,058	,352	-41,449	116,047
		B-	4,900	59,652	,935	-112,366	122,166
		B+	51,503	35,735	,150	-18,746	121,753
		O-	13,995	31,853	,661	-48,624	76,614
		O+	17,935	27,330	,512	-35,790	71,661
	A+	A-	-37,413	27,496	,174	-91,466	16,640
		AB-	53,840 ^a	76,018	,479	-95,599	203,279
		AB+	-,114	33,789	,997	-66,537	66,309
		B-	-32,513	55,636	,559	-141,884	76,859
		B+	14,090	28,560	,622	-42,055	70,236
		O-	-23,418	23,455	,319	-69,527	22,691
		O+	-19,478	16,896	,250	-52,693	13,738
	AB-	A-	-91,253 ^b	78,955	,248	-246,466	63,960
		A+	-53,840 ^b	76,018	,479	-203,279	95,599
		AB+	-53,954 ^b	81,429	,508	-214,032	106,123
		B-	-86,353 ^b	92,652	,352	-268,492	95,786
		B+	-39,750 ^b	79,352	,617	-195,743	116,244
		O-	-77,258 ^b	77,759	,321	-230,120	75,603
		O+	-73,318 ^b	75,942	,335	-222,607	75,971
AB+	A-	-37,299	40,058	,352	-116,047	41,449	
	A+	,114	33,789	,997	-66,309	66,537	
	AB-	53,954 ^a	81,429	,508	-106,123	214,032	
	B-	-32,399	62,789	,606	-155,833	91,035	
	B+	14,205	40,791	,728	-65,984	94,393	
	O-	-23,304	37,367	,533	-96,762	50,154	
	O+	-19,364	33,669	,566	-85,551	46,824	
B-	A-	-4,900	59,652	,935	-122,166	112,366	
	A+	32,513	55,636	,559	-76,859	141,884	

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d		
						Límite inferior	Límite superior	
		AB-	86,353 ^a	92,652	,352	-95,786	268,492	
		AB+	32,399	62,789	,606	-91,035	155,833	
		B+	46,603	60,146	,439	-71,635	164,841	
		O-	9,095	57,879	,875	-104,686	122,876	
		O+	13,035	55,563	,815	-96,193	122,264	
	B+	A-	-51,503	35,735	,150	-121,753	18,746	
		A+	-14,090	28,560	,622	-70,236	42,055	
		AB-	39,750 ^a	79,352	,617	-116,244	195,743	
		AB+	-14,205	40,791	,728	-94,393	65,984	
		B-	-46,603	60,146	,439	-164,841	71,635	
	O-	O-	-37,508	32,759	,253	-101,908	26,891	
		O+	-33,568	28,405	,238	-89,408	22,272	
		A-	-13,995	31,853	,661	-76,614	48,624	
		A+	23,418	23,455	,319	-22,691	69,527	
		AB-	77,258 ^a	77,759	,321	-75,603	230,120	
	O+	AB+	23,304	37,367	,533	-50,154	96,762	
		B-	-9,095	57,879	,875	-122,876	104,686	
		B+	37,508	32,759	,253	-26,891	101,908	
		O+	3,940	23,297	,866	-41,857	49,738	
		A-	-17,935	27,330	,512	-71,661	35,790	
	GB	A-	A+	,538 [*]	,203	,008	,138	,938
			AB-	,570 ^a	,584	,330	-,578	1,718
			AB+	,655 [*]	,296	,028	,072	1,237
			B-	,986 [*]	,441	,026	,118	1,853
			B+	,658 [*]	,264	,013	,138	1,178
			O-	,492 [*]	,236	,037	,029	,955
			O+	,421 [*]	,202	,038	,023	,818
A+		A-	-,538 [*]	,203	,008	-,938	-,138	
		AB-	,032 ^a	,562	,955	-1,074	1,137	
		AB+	,117	,250	,641	-,375	,608	
	B-	,448	,412	,277	-,361	1,257		
AB-	B+	,120	,211	,571	-,295	,535		
	O-	-,046	,174	,791	-,387	,295		
	O+	-,117	,125	,349	-,363	,129		
	A-	-,570 ^b	,584	,330	-1,718	,578		
	A+	-,032 ^b	,562	,955	-1,137	1,074		
	AB+	,085 ^b	,602	,888	-1,099	1,269		
	B-	,416 ^b	,685	,544	-,931	1,763		
B+	,088 ^b	,587	,881	-1,066	1,242			
O-	-,078 ^b	,575	,893	-1,209	1,053			
O+	-,149 ^b	,562	,791	-1,253	,955			

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
	AB+	A-	-,655*	,296	,028	-1,237	-,072
		A+	-,117	,250	,641	-,608	,375
		AB-	-,085 ^a	,602	,888	-1,269	1,099
		B-	,331	,464	,476	-,582	1,244
		B+	,003	,302	,991	-,590	,596
		O-	-,163	,276	,557	-,706	,381
		O+	-,234	,249	,349	-,723	,256
	B-	A-	-,986*	,441	,026	-1,853	-,118
		A+	-,448	,412	,277	-1,257	,361
		AB-	-,416 ^a	,685	,544	-1,763	,931
		AB+	-,331	,464	,476	-1,244	,582
		B+	-,328	,445	,461	-1,203	,547
		O-	-,494	,428	,249	-1,336	,348
		O+	-,565	,411	,170	-1,373	,243
	B+	A-	-,658*	,264	,013	-1,178	-,138
		A+	-,120	,211	,571	-,535	,295
		AB-	-,088 ^a	,587	,881	-1,242	1,066
		AB+	-,003	,302	,991	-,596	,590
		B-	,328	,445	,461	-,547	1,203
		O-	-,166	,242	,494	-,642	,311
		O+	-,237	,210	,260	-,650	,176
O-	A-	-,492*	,236	,037	-,955	-,029	
	A+	,046	,174	,791	-,295	,387	
	AB-	,078 ^a	,575	,893	-1,053	1,209	
	AB+	,163	,276	,557	-,381	,706	
	B-	,494	,428	,249	-,348	1,336	
	B+	,166	,242	,494	-,311	,642	
	O+	-,071	,172	,680	-,410	,268	
O+	A-	-,421*	,202	,038	-,818	-,023	
	A+	,117	,125	,349	-,129	,363	
	AB-	,149 ^a	,562	,791	-,955	1,253	
	AB+	,234	,249	,349	-,256	,723	
	B-	,565	,411	,170	-,243	1,373	
	B+	,237	,210	,260	-,176	,650	
	O-	,071	,172	,680	-,268	,410	
GR	A-	A+	,003	,002	,154	-,001	,007
		AB-	,006 ^a	,006	,307	-,006	,018
		AB+	,004	,003	,235	-,002	,009
		B-	,006	,004	,175	-,003	,015
		B+	,006*	,003	,018	,001	,012
		O-	,004	,002	,082	-,001	,009
		O+	,001	,002	,495	-,003	,005
	A+	A-	-,003	,002	,154	-,007	,001
		AB-	,003 ^a	,006	,586	-,008	,014
		AB+	,001	,003	,805	-,004	,006
		B-	,003	,004	,453	-,005	,011
		B+	,003	,002	,108	-,001	,008

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
		O-	,001	,002	,486	-,002	,005
		O+	-,002	,001	,224	-,004	,001
	AB-	A-	-,006 ^b	,006	,307	-,018	,006
		A+	-,003 ^b	,006	,586	-,014	,008
		AB+	-,002 ^b	,006	,684	-,014	,010
		B-	2,111E-5 ^b	,007	,998	-,014	,014
		B+	,000 ^b	,006	,955	-,011	,012
		O-	-,002 ^b	,006	,747	-,013	,010
		O+	-,005 ^b	,006	,414	-,016	,007
	AB+	A-	-,004	,003	,235	-,009	,002
		A+	-,001	,003	,805	-,006	,004
		AB-	,002 ^a	,006	,684	-,010	,014
		B-	,002	,005	,595	-,007	,012
		B+	,003	,003	,357	-,003	,009
		O-	,001	,003	,830	-,005	,006
		O+	-,002	,003	,391	-,007	,003
	B-	A-	-,006	,004	,175	-,015	,003
		A+	-,003	,004	,453	-,011	,005
		AB-	-2,111E-5 ^a	,007	,998	-,014	,014
		AB+	-,002	,005	,595	-,012	,007
		B+	,000	,005	,945	-,009	,009
		O-	-,002	,004	,661	-,010	,007
		O+	-,005	,004	,263	-,013	,004
	B+	A-	-,006 [*]	,003	,018	-,012	-,001
		A+	-,003	,002	,108	-,008	,001
		AB-	,000 ^a	,006	,955	-,012	,011
		AB+	-,003	,003	,357	-,009	,003
		B-	,000	,005	,945	-,009	,009
		O-	-,002	,002	,367	-,007	,003
		O+	-,005 [*]	,002	,020	-,009	-,001
	O-	A-	-,004	,002	,082	-,009	,001
		A+	-,001	,002	,486	-,005	,002
		AB-	,002 ^a	,006	,747	-,010	,013
		AB+	-,001	,003	,830	-,006	,005
		B-	,002	,004	,661	-,007	,010
		B+	,002	,002	,367	-,003	,007
		O+	-,003	,002	,114	-,006	,001
	O+	A-	-,001	,002	,495	-,005	,003
		A+	,002	,001	,224	-,001	,004
		AB-	,005 ^a	,006	,414	-,007	,016
		AB+	,002	,003	,391	-,003	,007
		B-	,005	,004	,263	-,004	,013
		B+	,005 [*]	,002	,020	,001	,009
		O-	,003	,002	,114	-,001	,006
PDW	A-	A+	,219 [*]	,087	,012	,048	,390
		AB-	,481 ^a	,250	,055	-,011	,973
		AB+	,162	,127	,203	-,088	,411

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
		B-	,421*	,189	,026	,049	,793
		B+	,242*	,113	,033	,019	,464
		O-	,307*	,101	,002	,109	,506
		O+	,152	,087	,079	-,018	,323
	A+	A-	-,219*	,087	,012	-,390	-,048
		AB-	,262 ^a	,241	,277	-,211	,736
		AB+	-,057	,107	,594	-,268	,153
		B-	,202	,176	,252	-,144	,549
		B+	,023	,091	,801	-,155	,201
		O-	,088	,074	,236	-,058	,234
		O+	-,067	,054	,215	-,172	,039
	AB-	A-	-,481 ^b	,250	,055	-,973	,011
		A+	-,262 ^b	,241	,277	-,736	,211
		AB+	-,320 ^b	,258	,216	-,827	,188
		B-	-,060 ^b	,294	,838	-,637	,517
		B+	-,240 ^b	,251	,341	-,734	,255
		O-	-,174 ^b	,246	,480	-,659	,310
		O+	-,329 ^b	,241	,172	-,802	,144
	AB+	A-	-,162	,127	,203	-,411	,088
		A+	,057	,107	,594	-,153	,268
		AB-	,320 ^a	,258	,216	-,188	,827
		B-	,259	,199	,193	-,132	,651
		B+	,080	,129	,537	-,174	,334
		O-	,145	,118	,220	-,087	,378
		O+	-,009	,107	,929	-,219	,200
	B-	A-	-,421*	,189	,026	-,793	-,049
		A+	-,202	,176	,252	-,549	,144
		AB-	,060 ^a	,294	,838	-,517	,637
		AB+	-,259	,199	,193	-,651	,132
		B+	-,179	,191	,347	-,554	,195
		O-	-,114	,183	,535	-,475	,247
		O+	-,269	,176	,128	-,615	,077
	B+	A-	-,242*	,113	,033	-,464	-,019
		A+	-,023	,091	,801	-,201	,155
		AB-	,240 ^a	,251	,341	-,255	,734
		AB+	-,080	,129	,537	-,334	,174
		B-	,179	,191	,347	-,195	,554
		O-	,065	,104	,529	-,139	,270
		O+	-,089	,090	,321	-,266	,088
	O-	A-	-,307*	,101	,002	-,506	-,109
		A+	-,088	,074	,236	-,234	,058
		AB-	,174 ^a	,246	,480	-,310	,659
		AB+	-,145	,118	,220	-,378	,087
		B-	,114	,183	,535	-,247	,475
		B+	-,065	,104	,529	-,270	,139
		O+	-,155*	,074	,037	-,300	-,010

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
	O+	A-	-,152	,087	,079	-,323	,018
		A+	,067	,054	,215	-,039	,172
		AB-	,329 ^a	,241	,172	-,144	,802
		AB+	,009	,107	,929	-,200	,219
		B-	,269	,176	,128	-,077	,615
		B+	,089	,090	,321	-,088	,266
		O-	,155 [*]	,074	,037	,010	,300
MPV	A-	A+	,451 [*]	,226	,047	,006	,896
		AB-	,994 ^a	,650	,127	-,283	2,271
		AB+	,324	,330	,327	-,325	,972
		B-	,865	,491	,079	-,100	1,830
		B+	,478	,294	,105	-,101	1,056
		O-	,484	,262	,065	-,031	1,000
		O+	,430	,225	,057	-,012	,872
	A+	A-	-,451 [*]	,226	,047	-,896	-,006
		AB-	,543 ^a	,626	,386	-,687	1,773
		AB+	-,127	,278	,647	-,674	,419
		B-	,414	,458	,366	-,486	1,314
		B+	,027	,235	,910	-,435	,489
		O-	,034	,193	,862	-,346	,413
		O+	-,021	,139	,880	-,294	,252
	AB-	A-	-,994 ^b	,650	,127	-2,271	,283
		A+	-,543 ^b	,626	,386	-1,773	,687
		AB+	-,670 ^b	,670	,318	-1,987	,647
		B-	-,129 ^b	,762	,866	-1,627	1,370
		B+	-,516 ^b	,653	,430	-1,800	,767
		O-	-,509 ^b	,640	,427	-1,767	,749
		O+	-,564 ^b	,625	,367	-1,792	,665
	AB+	A-	-,324	,330	,327	-,972	,325
		A+	,127	,278	,647	-,419	,674
		AB-	,670 ^a	,670	,318	-,647	1,987
		B-	,542	,517	,295	-,474	1,557
		B+	,154	,336	,646	-,506	,814
		O-	,161	,307	,601	-,444	,765
		O+	,106	,277	,701	-,438	,651
B-	A-	-,865	,491	,079	-1,830	,100	
	A+	-,414	,458	,366	-1,314	,486	
	AB-	,129 ^a	,762	,866	-1,370	1,627	
	AB+	-,542	,517	,295	-1,557	,474	
	B+	-,387	,495	,434	-1,360	,585	
	O-	-,381	,476	,425	-1,317	,556	
	O+	-,435	,457	,342	-1,334	,464	
B+	A-	-,478	,294	,105	-1,056	,101	
	A+	-,027	,235	,910	-,489	,435	
	AB-	,516 ^a	,653	,430	-,767	1,800	
	AB+	-,154	,336	,646	-,814	,506	
	B-	,387	,495	,434	-,585	1,360	

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d		
						Límite inferior	Límite superior	
		O-	,007	,270	,980	-,523	,537	
		O+	-,048	,234	,838	-,507	,412	
	O-	A-	-,484	,262	,065	-1,000	,031	
		A+	-,034	,193	,862	-,413	,346	
		AB-	,509 ^a	,640	,427	-,749	1,767	
		AB+	-,161	,307	,601	-,765	,444	
		B-	,381	,476	,425	-,556	1,317	
		B+	-,007	,270	,980	-,537	,523	
		O+	-,055	,192	,776	-,431	,322	
	O+	A-	-,430	,225	,057	-,872	,012	
		A+	,021	,139	,880	-,252	,294	
		AB-	,564 ^a	,625	,367	-,665	1,792	
		AB+	-,106	,277	,701	-,651	,438	
		B-	,435	,457	,342	-,464	1,334	
		B+	,048	,234	,838	-,412	,507	
		O-	,055	,192	,776	-,322	,431	
	PLCR	A-	A+	3,584	1,875	,057	-,102	7,270
			AB-	8,331 ^a	5,385	,123	-2,254	18,916
AB+			2,479	2,732	,365	-2,891	7,850	
B-			7,281	4,068	,074	-,716	15,279	
B+			3,662	2,437	,134	-1,129	8,453	
O-			3,977	2,172	,068	-,293	8,248	
O+			3,500	1,864	,061	-,164	7,164	
A+		A-	-3,584	1,875	,057	-7,270	,102	
		AB-	4,747 ^a	5,184	,360	-5,444	14,938	
		AB+	-1,105	2,304	,632	-5,635	3,425	
		B-	3,698	3,794	,330	-3,761	11,156	
		B+	,078	1,948	,968	-3,751	3,907	
		O-	,393	1,600	,806	-2,751	3,538	
		O+	-,084	1,152	,942	-2,349	2,181	
AB-		A-	-8,331 ^b	5,385	,123	-18,916	2,254	
		A+	-4,747 ^b	5,184	,360	-14,938	5,444	
		AB+	-5,852 ^b	5,553	,293	-16,768	5,065	
		B-	-1,049 ^b	6,319	,868	-13,471	11,372	
		B+	-4,669 ^b	5,412	,389	-15,307	5,969	
		O-	-4,354 ^b	5,303	,412	-14,778	6,071	
		O+	-4,831 ^b	5,179	,351	-15,012	5,350	
AB+		A-	-2,479	2,732	,365	-7,850	2,891	
		A+	1,105	2,304	,632	-3,425	5,635	
		AB-	5,852 ^a	5,553	,293	-5,065	16,768	
		B-	4,802	4,282	,263	-3,616	13,220	
		B+	1,183	2,782	,671	-4,286	6,651	
		O-	1,498	2,548	,557	-3,512	6,508	
		O+	1,021	2,296	,657	-3,493	5,534	
B-		A-	-7,281	4,068	,074	-15,279	,716	
		A+	-3,698	3,794	,330	-11,156	3,761	
	AB-	1,049 ^a	6,319	,868	-11,372	13,471		

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
		AB+	-4,802	4,282	,263	-13,220	3,616
		B+	-3,619	4,102	,378	-11,683	4,444
		O-	-3,304	3,947	,403	-11,064	4,455
		O+	-3,782	3,789	,319	-11,231	3,668
	B+	A-	-3,662	2,437	,134	-8,453	1,129
		A+	-,078	1,948	,968	-3,907	3,751
		AB-	4,669 ^a	5,412	,389	-5,969	15,307
		AB+	-1,183	2,782	,671	-6,651	4,286
		B-	3,619	4,102	,378	-4,444	11,683
		O-	,315	2,234	,888	-4,077	4,707
		O+	-,162	1,937	,933	-3,970	3,646
	O-	A-	-3,977	2,172	,068	-8,248	,293
		A+	-,393	1,600	,806	-3,538	2,751
		AB-	4,354 ^a	5,303	,412	-6,071	14,778
		AB+	-1,498	2,548	,557	-6,508	3,512
		B-	3,304	3,947	,403	-4,455	11,064
		B+	-,315	2,234	,888	-4,707	4,077
		O+	-,477	1,589	,764	-3,601	2,646
	O+	A-	-3,500	1,864	,061	-7,164	,164
		A+	,084	1,152	,942	-2,181	2,349
		AB-	4,831 ^a	5,179	,351	-5,350	15,012
		AB+	-1,021	2,296	,657	-5,534	3,493
		B-	3,782	3,789	,319	-3,668	11,231
		B+	,162	1,937	,933	-3,646	3,970
		O-	,477	1,589	,764	-2,646	3,601
Gran	A-	A+	-,177	3,127	,955	-6,325	5,970
		AB-	-17,995 ^{a,*}	8,979	,046	-35,647	-,343
		AB+	-,637	4,556	,889	-9,593	8,319
		B-	5,069	6,784	,455	-8,267	18,406
		B+	-3,107	4,064	,445	-11,097	4,882
		O-	-1,050	3,623	,772	-8,172	6,071
		O+	-2,779	3,108	,372	-8,889	3,332
	A+	A-	,177	3,127	,955	-5,970	6,325
		AB-	-17,818 ^{a,*}	8,645	,040	-34,813	-,822
		AB+	-,459	3,843	,905	-8,014	7,095
		B-	5,246	6,327	,408	-7,192	17,685
		B+	-2,930	3,248	,368	-9,316	3,455
		O-	-,873	2,668	,744	-6,117	4,371
		O+	-2,601	1,922	,177	-6,379	1,176
	AB-	A-	17,995 ^{b,*}	8,979	,046	,343	35,647
		A+	17,818 ^{b,*}	8,645	,040	,822	34,813
		AB+	17,358 ^b	9,261	,062	-,847	35,564
		B-	23,064 ^{b,*}	10,537	,029	2,350	43,779
		B+	14,888 ^b	9,025	,100	-2,853	32,628
		O-	16,945 ^b	8,843	,056	-,440	34,330
		O+	15,216 ^b	8,637	,079	-1,762	32,195

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
AB+		A-	,637	4,556	,889	-8,319	9,593
		A+	,459	3,843	,905	-7,095	8,014
		AB-	-17,358 ^a	9,261	,062	-35,564	,847
		B-	5,706	7,141	,425	-8,332	19,744
		B+	-2,471	4,639	,595	-11,591	6,649
		O-	-,414	4,250	,923	-8,768	7,941
		O+	-2,142	3,829	,576	-9,669	5,385
B-		A-	-5,069	6,784	,455	-18,406	8,267
		A+	-5,246	6,327	,408	-17,685	7,192
		AB-	-23,064 ^{a,*}	10,537	,029	-43,779	-2,350
		AB+	-5,706	7,141	,425	-19,744	8,332
		B+	-8,177	6,840	,233	-21,624	5,270
		O-	-6,119	6,583	,353	-19,060	6,821
		O+	-7,848	6,319	,215	-20,270	4,575
B+		A-	3,107	4,064	,445	-4,882	11,097
		A+	2,930	3,248	,368	-3,455	9,316
		AB-	-14,888 ^a	9,025	,100	-32,628	2,853
		AB+	2,471	4,639	,595	-6,649	11,591
		B-	8,177	6,840	,233	-5,270	21,624
		O-	2,057	3,726	,581	-5,267	9,381
		O+	,329	3,231	,919	-6,022	6,680
O-		A-	1,050	3,623	,772	-6,071	8,172
		A+	,873	2,668	,744	-4,371	6,117
		AB-	-16,945 ^a	8,843	,056	-34,330	,440
		AB+	,414	4,250	,923	-7,941	8,768
		B-	6,119	6,583	,353	-6,821	19,060
		B+	-2,057	3,726	,581	-9,381	5,267
		O+	-1,728	2,650	,515	-6,937	3,480
O+		A-	2,779	3,108	,372	-3,332	8,889
		A+	2,601	1,922	,177	-1,176	6,379
		AB-	-15,216 ^a	8,637	,079	-32,195	1,762
		AB+	2,142	3,829	,576	-5,385	9,669
		B-	7,848	6,319	,215	-4,575	20,270
		B+	-,329	3,231	,919	-6,680	6,022
		O-	1,728	2,650	,515	-3,480	6,937
Linf	A-	A+	17,181 [*]	7,593	,024	2,253	32,108
		AB-	12,907 ^a	21,804	,554	-29,957	55,771
		AB+	9,690	11,063	,382	-12,057	31,437
		B-	41,995 [*]	16,474	,011	9,611	74,379
		B+	20,980 [*]	9,869	,034	1,580	40,380
		O-	11,431	8,797	,195	-5,862	28,724
		O+	15,568 [*]	7,547	,040	,732	30,405
	A+	A-	-17,181 [*]	7,593	,024	-32,108	-2,253
		AB-	-4,274 ^a	20,993	,839	-45,543	36,995
		AB+	-7,491	9,331	,423	-25,834	10,853
		B-	24,814	15,364	,107	-5,390	55,018
		B+	3,799	7,887	,630	-11,706	19,304

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) GS	(J) GS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^d	95% de intervalo de confianza para diferencia ^d	
						Límite inferior	Límite superior
		O-	-5,750	6,477	,375	-18,483	6,984
		O+	-1,612	4,666	,730	-10,785	7,560
	AB-	A-	-12,907 ^b	21,804	,554	-55,771	29,957
		A+	4,274 ^b	20,993	,839	-36,995	45,543
		AB+	-3,217 ^b	22,488	,886	-47,424	40,990
		B-	29,088 ^b	25,587	,256	-21,212	79,387
		B+	8,073 ^b	21,914	,713	-35,006	51,152
		O-	-1,476 ^b	21,474	,945	-43,690	40,738
		O+	2,661 ^b	20,972	,899	-38,566	43,889
	AB+	A-	-9,690	11,063	,382	-31,437	12,057
		A+	7,491	9,331	,423	-10,853	25,834
		AB-	3,217 ^a	22,488	,886	-40,990	47,424
		B-	32,305	17,340	,063	-1,783	66,392
		B+	11,290	11,265	,317	-10,855	33,434
		O-	1,741	10,319	,866	-18,545	22,027
		O+	5,878	9,298	,528	-12,400	24,157
	B-	A-	-41,995 [*]	16,474	,011	-74,379	-9,611
		A+	-24,814	15,364	,107	-55,018	5,390
		AB-	-29,088 ^a	25,587	,256	-79,387	21,212
		AB+	-32,305	17,340	,063	-66,392	1,783
		B+	-21,015	16,610	,207	-53,668	11,638
		O-	-30,564	15,984	,057	-61,986	,858
		O+	-26,426	15,344	,086	-56,591	3,738
	B+	A-	-20,980 [*]	9,869	,034	-40,380	-1,580
		A+	-3,799	7,887	,630	-19,304	11,706
		AB-	-8,073 ^a	21,914	,713	-51,152	35,006
		AB+	-11,290	11,265	,317	-33,434	10,855
		B-	21,015	16,610	,207	-11,638	53,668
		O-	-9,549	9,047	,292	-27,334	8,236
		O+	-5,411	7,844	,491	-20,832	10,009
	O-	A-	-11,431	8,797	,195	-28,724	5,862
		A+	5,750	6,477	,375	-6,984	18,483
		AB-	1,476 ^a	21,474	,945	-40,738	43,690
		AB+	-1,741	10,319	,866	-22,027	18,545
		B-	30,564	15,984	,057	-,858	61,986
		B+	9,549	9,047	,292	-8,236	27,334
		O+	4,138	6,434	,521	-8,510	16,785
	O+	A-	-15,568 [*]	7,547	,040	-30,405	-,732
		A+	1,612	4,666	,730	-7,560	10,785
		AB-	-2,661 ^a	20,972	,899	-43,889	38,566
		AB+	-5,878	9,298	,528	-24,157	12,400
		B-	26,426	15,344	,086	-3,738	56,591
		B+	5,411	7,844	,491	-10,009	20,832
		O-	-4,138	6,434	,521	-16,785	8,510

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

a. Una estimación de la media marginal de población modificada (J).

b. Una estimación de la media marginal de población modificada (I).

d. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas multivariante

	Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Traza de Pillai	,141	1,035	56,000	2828,000	,405
Lambda de Wilks	,866	1,035	56,000	2148,607	,405
Traza de Hotelling	,146	1,035	56,000	2774,000	,405
Raíz mayor de Roy	,062	3,112 ^a	8,000	404,000	,002

Cada F prueba el efecto multivariante de GS. Estas pruebas se basan en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

a. El estadístico es un límite superior en F que genera un límite inferior en el nivel de significación.

Pruebas univariadas

Variable dependiente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Plq	Contraste	81456,691	7	11636,670	,691	,680
	Error	6822759,098	405	16846,319		
GB	Contraste	9,965	7	1,424	1,544	,151
	Error	373,355	405	,922		
GR	Contraste	,001	7	,000	1,445	,186
	Error	,038	405	9,436E-5		
PDW	Contraste	2,474	7	,353	2,089	,044
	Error	68,531	405	,169		
MPV	Contraste	7,539	7	1,077	,944	,472
	Error	461,997	405	1,141		
PLCR	Contraste	513,975	7	73,425	,937	,477
	Error	31731,678	405	78,350		
Gran	Contraste	1604,842	7	229,263	1,052	,394
	Error	88247,487	405	217,895		
Linf	Contraste	12901,719	7	1843,103	1,435	,190
	Error	520334,237	405	1284,776		

F prueba el efecto de GS. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

3. Sex

Estimaciones

Variable dependiente	Sex	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
				Límite inferior	Límite superior
Plq	m	393,163 ^a	17,088	359,570	426,756
	v	369,363 ^{a,b}	14,737	340,392	398,334
GB	m	,972 ^a	,126	,724	1,221
	v	1,141 ^{a,b}	,109	,927	1,355
GR	m	,012 ^a	,001	,010	,015
	v	,012 ^{a,b}	,001	,010	,014
PDW	m	15,382 ^a	,054	15,276	15,489
	v	15,489 ^{a,b}	,047	15,397	15,581
MPV	m	9,175 ^a	,141	8,898	9,451
	v	9,237 ^{a,b}	,121	8,999	9,476
PLCR	m	30,378 ^a	1,165	28,087	32,669
	v	30,906 ^{a,b}	1,005	28,930	32,882
Gran	m	8,907 ^a	1,943	5,086	12,727
	v	8,517 ^{a,b}	1,676	5,222	11,812
Linf	m	27,904 ^a	4,719	18,627	37,181
	v	37,034 ^{a,b}	4,070	29,034	45,035

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Edad = 55,81.

b. Se basa en la media marginal de población modificada.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente	(I) Sex	(J) Sex	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^c	95% de intervalo de confianza para diferencia ^c	
						Límite inferior	Límite superior
Plq	m	v	23,800 ^a	22,601	,293	-20,630	68,229
	v	m	-23,800 ^b	22,601	,293	-68,229	20,630
GB	m	v	-,169 ^a	,167	,313	-,497	,160
	v	m	,169 ^b	,167	,313	-,160	,497
GR	m	v	,000 ^a	,002	,948	-,003	,003
	v	m	,000 ^b	,002	,948	-,003	,003
PDW	m	v	-,107 ^a	,072	,138	-,247	,034
	v	m	,107 ^b	,072	,138	-,034	,247
MPV	m	v	-,062 ^a	,186	,737	-,428	,303
	v	m	,062 ^b	,186	,737	-,303	,428
PLCR	m	v	-,528 ^a	1,541	,732	-3,558	2,502
	v	m	,528 ^b	1,541	,732	-2,502	3,558
Gran	m	v	,390 ^a	2,570	,880	-4,663	5,443
	v	m	-,390 ^b	2,570	,880	-5,443	4,663
Linf	m	v	-9,130 ^a	6,241	,144	-21,400	3,139
	v	m	9,130 ^b	6,241	,144	-3,139	21,400

Se basa en medias marginales estimadas

- a. Una estimación de la media marginal de población modificada (J).
- b. Una estimación de la media marginal de población modificada (I).
- c. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas multivariante

	Valor	F	Gl de hipótesis	gl de error	Sig.
Traza de Pillai	,029	1,479 ^a	8,000	398,000	,163
Lambda de Wilks	,971	1,479 ^a	8,000	398,000	,163
Traza de Hotelling	,030	1,479 ^a	8,000	398,000	,163
Raíz mayor de Roy	,030	1,479 ^a	8,000	398,000	,163

Cada F prueba el efecto multivariante de Sex. Estas pruebas se basan en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

- a. Estadístico exacto

Pruebas univariadas

Variable dependiente		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Plq	Contraste	18681,265	1	18681,265	1,109	,293
	Error	6822759,098	405	16846,319		
GB	Contraste	,939	1	,939	1,018	,313
	Error	373,355	405	,922		
GR	Contraste	4,048E-7	1	4,048E-7	,004	,948
	Error	,038	405	9,436E-5		
PDW	Contraste	,375	1	,375	2,214	,138
	Error	68,531	405	,169		
MPV	Contraste	,129	1	,129	,113	,737
	Error	461,997	405	1,141		
PLCR	Contraste	9,198	1	9,198	,117	,732
	Error	31731,678	405	78,350		
Gran	Contraste	5,009	1	5,009	,023	,880
	Error	88247,487	405	217,895		
Linf	Contraste	2749,386	1	2749,386	2,140	,144
	Error	520334,237	405	1284,776		

F prueba el efecto de Sex. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

4. GS * Sex

Variable dependiente	GS	Sex	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Plq	A-	m	406,134 ^a	23,831	359,286	452,981
		v	413,625 ^a	43,286	328,532	498,718
	A+	m	398,082 ^a	12,491	373,526	422,638
		v	346,851 ^a	20,786	305,989	387,713
	AB-	m	318,626 ^a	75,031	171,128	466,125
		v	a,b	.	.	.
	AB+	m	387,785 ^a	45,895	297,564	478,006
		v	357,376 ^a	43,328	272,201	442,551
	B-	m	431,645 ^a	91,787	251,207	612,082
		v	378,314 ^a	58,046	264,204	492,424
	B+	m	389,981 ^a	28,324	334,301	445,662
		v	326,771 ^a	43,265	241,719	411,822
	O-	m	410,816 ^a	28,330	355,123	466,508
		v	380,953 ^a	28,459	325,008	436,898
	O+	m	402,236 ^a	13,706	375,292	429,180
		v	381,652 ^a	19,146	344,013	419,291
GB	A-	m	1,050 ^a	,176	,704	1,397
		v	2,127 ^a	,320	1,498	2,757

4. GS * Sex

Variable dependiente	GS	Sex	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
	A+	m	1,065 ^a	,092	,883	1,246
		v	1,037 ^a	,154	,735	1,339
	AB-	m	1,019 ^a	,555	-,072	2,110
		v	. a,b	.	.	.
	AB+	m	1,060 ^a	,340	,392	1,727
		v	,809 ^a	,321	,179	1,439
	B-	m	,605 ^a	,679	-,730	1,940
		v	,601 ^a	,429	-,243	1,445
	B+	m	,752 ^a	,210	,340	1,163
		v	1,110 ^a	,320	,481	1,740
	O-	m	1,131 ^a	,210	,719	1,543
		v	1,063 ^a	,211	,649	1,477
	O+	m	1,097 ^a	,101	,898	1,296
		v	1,239 ^a	,142	,961	1,518
GR	A-	m	,014 ^a	,002	,011	,018
		v	,018 ^a	,003	,011	,024
	A+	m	,013 ^a	,001	,012	,015
		v	,013 ^a	,002	,010	,016
	AB-	m	,010 ^a	,006	-,001	,021
		v	. a,b	.	.	.
	AB+	m	,015 ^a	,003	,008	,022
		v	,010 ^a	,003	,004	,016
	B-	m	,010 ^a	,007	-,004	,023
		v	,010 ^a	,004	,001	,019
	B+	m	,010 ^a	,002	,006	,015
		v	,009 ^a	,003	,003	,015
	O-	m	,012 ^a	,002	,008	,017
		v	,011 ^a	,002	,007	,016
O+	m	,014 ^a	,001	,012	,016	
	v	,015 ^a	,001	,013	,018	
PDW	A-	m	15,479 ^a	,076	15,330	15,627
		v	15,850 ^a	,137	15,581	16,120
	A+	m	15,439 ^a	,040	15,361	15,517
		v	15,453 ^a	,066	15,323	15,582
	AB-	m	15,183 ^a	,238	14,716	15,651
		v	. a,b	.	.	.
	AB+	m	15,684 ^a	,145	15,398	15,970
		v	15,321 ^a	,137	15,051	15,591
	B-	m	15,006 ^a	,291	14,434	15,577
		v	15,481 ^a	,184	15,120	15,843

4. GS * Sex

Variable dependiente	GS	Sex	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
	B+	m	15,347 ^a	,090	15,170	15,523
		v	15,499 ^a	,137	15,230	15,769
	O-	m	15,393 ^a	,090	15,217	15,570
		v	15,322 ^a	,090	15,144	15,499
	O+	m	15,529 ^a	,043	15,443	15,614
		v	15,496 ^a	,061	15,377	15,615
MPV	A-	m	9,297 ^a	,196	8,911	9,682
		v	10,051 ^a	,356	9,351	10,752
	A+	m	9,294 ^a	,103	9,092	9,496
		v	9,153 ^a	,171	8,817	9,489
	AB-	m	8,680 ^a	,617	7,467	9,894
		v	a,b	.	.	.
	AB+	m	9,834 ^a	,378	9,091	10,576
		v	8,868 ^a	,357	8,167	9,569
	B-	m	8,357 ^a	,755	6,872	9,841
		v	9,262 ^a	,478	8,323	10,201
	B+	m	9,027 ^a	,233	8,569	9,486
		v	9,366 ^a	,356	8,666	10,066
	O-	m	9,475 ^a	,233	9,016	9,933
		v	8,905 ^a	,234	8,444	9,365
O+	m	9,434 ^a	,113	9,212	9,655	
	v	9,055 ^a	,158	8,746	9,365	
PLCR	A-	m	31,244 ^a	1,625	28,049	34,439
		v	37,644 ^a	2,952	31,841	43,447
	A+	m	31,566 ^a	,852	29,892	33,241
		v	30,154 ^a	1,418	27,367	32,941
	AB-	m	26,113 ^a	5,117	16,054	36,172
		v	a,b	.	.	.
	AB+	m	36,046 ^a	3,130	29,893	42,198
		v	27,884 ^a	2,955	22,075	33,693
	B-	m	23,152 ^a	6,260	10,846	35,457
		v	31,174 ^a	3,959	23,392	38,956
	B+	m	29,449 ^a	1,932	25,651	33,246
		v	32,115 ^a	2,951	26,315	37,916
	O-	m	33,002 ^a	1,932	29,204	36,800
		v	27,932 ^a	1,941	24,117	31,747
O+	m	32,451 ^a	,935	30,613	34,288	
	v	29,437 ^a	1,306	26,871	32,004	
Gran	A-	m	9,191 ^a	2,710	3,863	14,519
		v	5,145 ^a	4,923	-4,533	14,822

4. GS * Sex

Variable dependiente	GS	Sex	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
	A+	m	8,478 ^a	1,421	5,685	11,270
		v	6,212 ^a	2,364	1,565	10,860
	AB-	m	25,163 ^a	8,533	8,388	41,938
		v	a,b	.	.	.
	AB+	m	4,620 ^a	5,220	-5,641	14,881
		v	10,989 ^a	4,928	1,302	20,676
	B-	m	-,145 ^a	10,439	-20,666	20,376
		v	4,342 ^a	6,602	-8,636	17,319
	B+	m	9,510 ^a	3,221	3,177	15,842
		v	11,041 ^a	4,920	1,368	20,714
	O-	m	7,419 ^a	3,222	1,085	13,753
		v	9,017 ^a	3,237	2,655	15,380
	O+	m	7,020 ^a	1,559	3,955	10,084
		v	12,873 ^a	2,178	8,593	17,154
Linf	A-	m	34,691 ^a	6,581	21,754	47,628
		v	62,518 ^a	11,954	39,019	86,018
	A+	m	31,396 ^a	3,450	24,614	38,177
		v	31,452 ^a	5,740	20,168	42,737
	AB-	m	35,698 ^a	20,721	-5,036	76,431
		v	a,b	.	.	.
	AB+	m	41,146 ^a	12,674	16,230	66,061
		v	36,683 ^a	11,965	13,161	60,205
	B-	m	-,190 ^a	25,348	-50,020	49,640
		v	13,410 ^a	16,030	-18,103	44,922
	B+	m	16,103 ^a	7,822	,726	31,479
		v	39,147 ^a	11,948	15,659	62,635
	O-	m	35,077 ^a	7,824	19,697	50,457
		v	39,270 ^a	7,859	23,820	54,720
O+	m	29,312 ^a	3,785	21,871	36,753	
	v	36,760 ^a	5,287	26,366	47,154	

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Edad = 55,81.

b. Esta combinación de niveles de factores no se observa, por lo tanto, la media marginal de población correspondiente no se puede estimar.

Anejo 5. Análisis estadístico del efecto de los ciclos de congelación-descongelación

```

UNIANOVA RecPlq BY Ciclo WITH Díasa80
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
/EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=Díasa80 Ciclo.
    
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:16:09
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo Filtro Ponderación Segmentar archivo N de filas en el archivo de datos de trabajo	ConjuntoDatos1 <ninguno> <ninguno> <ninguno> 1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia Casos utilizados	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos. Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA RecPlq BY Ciclo WITH Díasa80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador Tiempo transcurrido	00:00:00,00 00:00:00,00

Factores inter-sujetos

		N
Ciclo	1,0	421
	2,0	144
	3,0	36

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Rec Plq

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	4,110%	11,3232%	421
2,0	-15,983%	7,4151%	144
3,0	-18,659%	5,4177%	36
Total	-2,068%	13,9403%	601

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Rec Plq

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	53927,053 ^a	3	17975,684	171,233	,000
Intersección	20059,112	1	20059,112	191,079	,000
Días a 80	68,309	1	68,309	,651	,420
Ciclo	40851,421	2	20425,711	194,571	,000
Error	62671,871	597	104,978		
Total	119169,832	601			
Total corregido	116598,924	600			

a. R al cuadrado = ,463 (R al cuadrado ajustada = ,460)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: Rec Plq

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-10,369 ^a	,699	-11,743	-8,995

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,692.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: Rec Plq

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	4,244 ^a	,526	3,210	5,278
2,0	-16,271 ^a	,925	-18,088	-14,453
3,0	-19,081 ^a	1,786	-22,589	-15,573

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,692.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: Rec Plq

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	20,515 [*]	1,119	,000	17,828	23,201
	3,0	23,326 [*]	1,908	,000	18,744	27,907
2,0	1,0	-20,515 [*]	1,119	,000	-23,201	-17,828
	3,0	2,811	1,917	,429	-1,790	7,412
3,0	1,0	-23,326 [*]	1,908	,000	-27,907	-18,744
	2,0	-2,811	1,917	,429	-7,412	1,790

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: Rec Plq

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	40851,421	2	20425,711	194,571	,000
Error	62671,871	597	104,978		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difGB BY Ciclo WITH Días80
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Días80=MEAN)
/EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Días80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
```

```

/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=Días80 Ciclo.

```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:17:14
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difGB BY Ciclo WITH Días80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Días80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Días80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Días80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,01

Factores inter-sujetos

	N
Ciclo 1,0	388
2,0	134
3,0	28

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif GB

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	-,411	,5364	388
2,0	-,193	,2813	134
3,0	-,146	,2835	28
Total	-,344	,4864	550

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif GB

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5,938 ^a	3	1,979	8,718	,000
Intersección	10,778	1	10,778	47,471	,000
Días a 80	,059	1	,059	,262	,609
Ciclo	4,577	2	2,288	10,079	,000
Error	123,964	546	,227		
Total	195,173	550			
Total corregido	129,902	549			

a. R al cuadrado = ,046 (R al cuadrado ajustada = ,040)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif GB

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-,243 ^a	,036	-,315	-,172

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 190,947.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: dif GB

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	-,416 ^a	,026	-,466	-,365
2,0	-,183 ^a	,046	-,273	-,093
3,0	-,132 ^a	,095	-,317	,054

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 190,947.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif GB

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	-,232 [*]	,056	,000	-,366	-,099
	3,0	-,284 [*]	,101	,015	-,525	-,042
2,0	1,0	,232 [*]	,056	,000	,099	,366
	3,0	-,052	,099	1,000	-,290	,187
3,0	1,0	,284 [*]	,101	,015	,042	,525
	2,0	,052	,099	1,000	-,187	,290

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif GB

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	4,577	2	2,288	10,079	,000
Error	123,964	546	,227		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```

UNIANOVA difGR BY Ciclo WITH Díasa80
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
  /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
    
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:26:29
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		<pre> UNIANOVA difGR BY Ciclo WITH Días80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Días80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Días80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Días80 Ciclo. </pre>
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

	N
Ciclo 1,0	399
2,0	142
3,0	36

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif GR

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	,0146867168	,0111562498	399
2,0	-,005422535	,0074016712	142
3,0	,0019444444	,0057666254	36
Total	,0089428076	,0133499319	577

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif GR

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,044 ^a	3	,015	144,760	,000
Intersección	,002	1	,002	24,504	,000
Días a 80	2,815E-5	1	2,815E-5	,276	,599
Ciclo	,031	2	,015	151,411	,000
Error	,058	573	,000		
Total	,149	577			
Total corregido	,103	576			

a. R al cuadrado = ,431 (R al cuadrado ajustada = ,428)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif GR

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
,004 ^a	,001	,002	,005

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 181,480.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: dif GR

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	,015 ^a	,001	,014	,016
2,0	-,005 ^a	,001	-,007	-,003
3,0	,002 ^a	,002	-,001	,006

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 181,480.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif GR

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	,020 [*]	,001	,000	,017	,023
	3,0	,012 [*]	,002	,000	,008	,017
2,0	1,0	-,020 [*]	,001	,000	-,023	-,017
	3,0	-,007 [*]	,002	,000	-,012	-,003
3,0	1,0	-,012 [*]	,002	,000	-,017	-,008
	2,0	,007 [*]	,002	,000	,003	,012

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif GR

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	,031	2	,015	151,411	,000
Error	,058	573	,000		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difPDW BY Ciclo WITH Díasa80
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
/EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=Díasa80 Ciclo.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:27:32
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difPDW BY Ciclo WITH Díasa80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

	N
Ciclo 1,0	421
2,0	144
3,0	36

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif PDW

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	5,338%	1,8028%	421
2,0	2,321%	2,3670%	144
3,0	3,131%	3,2186%	36
Total	4,483%	2,4412%	601

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif PDW

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1073,655 ^a	3	357,885	85,395	,000
Intersección	2843,232	1	2843,232	678,422	,000
Días a 80	26,749	1	26,749	6,383	,012
Ciclo	931,399	2	465,699	111,120	,000
Error	2501,995	597	4,191		
Total	15652,802	601			
Total corregido	3575,650	600			

a. R al cuadrado = ,300 (R al cuadrado ajustada = ,297)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif PDW

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
3,476 ^a	,140	3,202	3,751

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,692.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: dif PDW

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	5,422 ^a	,105	5,216	5,629
2,0	2,141 ^a	,185	1,777	2,504
3,0	2,866 ^a	,357	2,165	3,567

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,692.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif PDW

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	3,282*	,224	,000	2,745	3,818
	3,0	2,556*	,381	,000	1,640	3,471
2,0	1,0	-3,282*	,224	,000	-3,818	-2,745
	3,0	-,726	,383	,176	-1,645	,194
3,0	1,0	-2,556*	,381	,000	-3,471	-1,640
	2,0	,726	,383	,176	-,194	1,645

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif PDW

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	931,399	2	465,699	111,120	,000
Error	2501,995	597	4,191		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difMPV BY Ciclo WITH Díasa80
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
/EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=Díasa80 Ciclo.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:30:10
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difMPV BY Ciclo WITH Díasa80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

	N
Ciclo 1,0	421
2,0	144
3,0	36

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif MPV

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	23,384%	11,8126%	421
2,0	-8,222%	6,0401%	144
3,0	0,010%	5,8583%	36
Total	14,411%	17,3278%	601

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif MPV

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	115129,348 ^a	3	38376,449	352,355	,000
Intersección	5265,188	1	5265,188	48,342	,000
Días a 80	1,660	1	1,660	,015	,902
Ciclo	86109,804	2	43054,902	395,310	,000
Error	65021,821	597	108,914		
Total	304963,954	601			
Total corregido	180151,169	600			

a. R al cuadrado = ,639 (R al cuadrado ajustada = ,637)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif MPV

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
5,027 ^a	,712	3,628	6,427

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,692.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: dif MPV

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	23,405 ^a	,536	22,352	24,458
2,0	-8,267 ^a	,942	-10,118	-6,416
3,0	-,055 ^a	1,819	-3,629	3,518

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,692.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif MPV

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	31,672 [*]	1,140	,000	28,936	34,408
	3,0	23,460 [*]	1,944	,000	18,793	28,127
2,0	1,0	-31,672 [*]	1,140	,000	-34,408	-28,936
	3,0	-8,212 [*]	1,952	,000	-12,898	-3,525
3,0	1,0	-23,460 [*]	1,944	,000	-28,127	-18,793
	2,0	8,212 [*]	1,952	,000	3,525	12,898

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif MPV

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	86109,804	2	43054,902	395,310	,000
Error	65021,821	597	108,914		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difPLRC BY Ciclo WITH Díasa80
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
  /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:43:35
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difPLRC BY Ciclo WITH Díasa80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

	N
Ciclo 1,0	421
2,0	144
3,0	35

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif PLRC

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	59,387%	39,6571%	421
2,0	-15,686%	10,8327%	144
3,0	-1,982%	12,7526%	35
Total	37,790%	47,4097%	600

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif PLRC

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	668651,451 ^a	3	222883,817	196,011	,000
Intersección	50648,741	1	50648,741	44,542	,000
Días a 80	5126,648	1	5126,648	4,509	,034
Ciclo	543299,831	2	271649,915	238,898	,000
Error	677709,831	596	1137,097		
Total	2203208,707	600			
Total corregido	1346361,282	599			

a. R al cuadrado = ,497 (R al cuadrado ajustada = ,494)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif PLRC

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
12,238 ^a	2,325	7,673	16,804

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,983.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: dif PLRC

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	60,546 ^a	1,732	57,145	63,948
2,0	-18,184 ^a	3,046	-24,167	-12,201
3,0	-5,648 ^a	5,956	-17,344	6,049

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 175,983.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif PLRC

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	78,730*	3,683	,000	69,888	87,572
	3,0	66,194*	6,352	,000	50,943	81,445
2,0	1,0	-78,730*	3,683	,000	-87,572	-69,888
	3,0	-12,536	6,379	,150	-27,850	2,778
3,0	1,0	-66,194*	6,352	,000	-81,445	-50,943
	2,0	12,536	6,379	,150	-2,778	27,850

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif PLRC

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	543299,831	2	271649,915	238,898	,000
Error	677709,831	596	1137,097		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difGran BY Ciclo WITH Díasa80
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
/EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=Díasa80 Ciclo.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:46:08
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difGran BY Ciclo WITH Díasa80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

	N
Ciclo 1,0	196
2,0	19
3,0	5

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif Gran

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	-16,9536735	17,57859446	196
2,0	,8913033228	1,895397335	19
3,0	4,641510667	1,348553112	5
Total	-14,9217167	17,59541967	220

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif Gran

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	7496,665 ^a	3	2498,888	8,950	,000
Intersección	411,840	1	411,840	1,475	,226
Días a 80	22,830	1	22,830	,082	,775
Ciclo	6195,738	2	3097,869	11,096	,000
Error	60305,471	216	279,192		
Total	116786,814	220			
Total corregido	67802,136	219			

a. R al cuadrado = ,111 (R al cuadrado ajustada = ,098)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif Gran

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-4,063 ^a	2,965	-9,907	1,782

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 217,664.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: dif Gran

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	-16,910 ^a	1,203	-19,282	-14,538
2,0	,567 ^a	3,997	-7,312	8,446
3,0	4,155 ^a	7,664	-10,950	19,260

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 217,664.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif Gran

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	-17,477*	4,216	,000	-27,649	-7,304
	3,0	-21,065*	7,791	,022	-39,863	-2,267
2,0	1,0	17,477*	4,216	,000	7,304	27,649
	3,0	-3,588	8,417	1,000	-23,898	16,721
3,0	1,0	21,065*	7,791	,022	2,267	39,863
	2,0	3,588	8,417	1,000	-16,721	23,898

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif Gran

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	6195,738	2	3097,869	11,096	,000
Error	60305,471	216	279,192		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```

GET DATA /TYPE=XLSX
  /FILE='C:\Users\Jvicent\Desktop\Sangre.xlsx'
  /SHEET=name 'Hoja3'
  /CELLRANGE=full
  /READNAMES=on
  /ASSUMEDSTRWIDTH=32767.

EXECUTE.

DATASET NAME ConjuntoDatos2 WINDOW=FRONT.
DATASET ACTIVATE ConjuntoDatos1.
DATASET CLOSE ConjuntoDatos2.
UNIANOVA VAR00002 BY Ciclo WITH Díasa80
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
  /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)

```

/DESIGN=Díasas80 Ciclo.

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:52:47
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA VAR00002 BY Ciclo WITH Díasas80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasas80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Díasas80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasas80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

		N
Ciclo	1,0	227
	2,0	41

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: VAR00002

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	-5,1185	40,94860	227
2,0	-31,5100	51,53842	41
Total	-9,1560	43,67872	268

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: VAR00002

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	24189,993 ^a	2	12094,996	6,606	,002
Intersección	27776,666	1	27776,666	15,171	,000
Días a 80	1,743	1	1,743	,001	,975
Ciclo	22095,710	1	22095,710	12,068	,001
Error	485200,668	265	1830,946		
Total	531857,580	268			
Total corregido	509390,661	267			

a. R al cuadrado = ,047 (R al cuadrado ajustada = ,040)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: VAR00002

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-18,339 ^a	3,717	-25,658	-11,019

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 210,638.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: VAR00002

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	-5,108 ^a	2,862	-10,742	,527
2,0	-31,570 ^a	6,962	-45,277	-17,863

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 210,638.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: VAR00002

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	26,463 [*]	7,618	,001	11,464	41,461
2,0	1,0	-26,463 [*]	7,618	,001	-41,461	-11,464

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: VAR00002

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	22095,710	1	22095,710	12,068	,001
Error	485200,668	265	1830,946		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA VAR00002 BY Ciclo WITH Díasa80
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
/EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=Díasa80 Ciclo.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 12:54:07
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA VAR00002 BY Ciclo WITH Díasa80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

	N
Ciclo 1,0	227
2,0	43
3,0	4

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: VAR00002

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	-5,1185	40,94860	227
2,0	-30,1467	50,68342	43
3,0	-,0810	,65648	4
Total	-8,9727	43,21394	274

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: VAR00002

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	22978,467 ^a	3	7659,489	4,248	,006
Intersección	4107,284	1	4107,284	2,278	,132
Días a 80	11,467	1	11,467	,006	,936
Ciclo	21301,952	2	10650,976	5,907	,003
Error	486833,855	270	1803,088		
Total	531871,959	274			
Total corregido	509812,322	273			

a. R al cuadrado = ,045 (R al cuadrado ajustada = ,034)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: VAR00002

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-11,918 ^a	7,651	-26,981	3,145

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 206,128.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: VAR00002

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	-5,084 ^a	2,851	-10,697	,528
2,0	-30,300 ^a	6,756	-43,602	-16,999
3,0	-,370 ^a	21,538	-42,773	42,034

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 206,128.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: VAR00002

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	25,216*	7,445	,002	7,282	43,150
	3,0	-4,715	21,797	1,000	-57,223	47,794
2,0	1,0	-25,216*	7,445	,002	-43,150	-7,282
	3,0	-29,931	22,261	,540	-83,558	23,697
3,0	1,0	4,715	21,797	1,000	-47,794	57,223
	2,0	29,931	22,261	,540	-23,697	83,558

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: VAR00002

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	21301,952	2	10650,976	5,907	,003
Error	486833,855	270	1803,088		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA Activ BY Ciclo WITH Díasa80
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN)
/EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH(Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ(BONFERRONI)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=Díasa80 Ciclo.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 13:00:11
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	1263
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA Activ BY Ciclo WITH Díasa80 /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) WITH(Díasa80=MEAN) /EMMEANS=TABLES(Ciclo) WITH (Díasa80=MEAN) COMPARE ADJ (BONFERRONI) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=Díasa80 Ciclo.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

		N
Ciclo	1,0	42
	2,0	51

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Activ

Ciclo	Media	Desviación estándar	N
1,0	30,2810	15,25569	42
2,0	20,5260	14,06918	51
Total	24,9315	15,33361	93

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Activ

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	3087,561 ^a	2	1543,781	7,493	,001
Intersección	17111,691	1	17111,691	83,051	,000
Días a 80	895,841	1	895,841	4,348	,040
Ciclo	2884,095	1	2884,095	13,998	,000
Error	18543,430	90	206,038		
Total	79437,778	93			
Total corregido	21630,991	92			

a. R al cuadrado = ,143 (R al cuadrado ajustada = ,124)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: Activ

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
25,732 ^a	1,504	22,745	28,720

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 248,022.

2. Ciclo

Estimaciones

Variable dependiente: Activ

Ciclo	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
1,0	34,009 ^a	2,846	28,354	39,664
2,0	17,456 ^a	2,492	12,506	22,406

a. Las covariables que aparecen en el modelo se evalúan en los valores siguientes: Días a 80 = 248,022.

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: Activ

(I) Ciclo	(J) Ciclo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
1,0	2,0	16,553 [*]	4,424	,000	7,763	25,343
2,0	1,0	-16,553 [*]	4,424	,000	-25,343	-7,763

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: Bonferroni.

Pruebas univariadas

Variable dependiente: Activ

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	2884,095	1	2884,095	13,998	,000
Error	18543,430	90	206,038		

F prueba el efecto de Ciclo. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```

GET DATA /TYPE=XLSX
  /FILE='C:\Users\Jvicent\Desktop\Sangre.xlsx'
  /SHEET=name 'Hoja1'
  /CELLRANGE=full
  /READNAMES=on
  /ASSUMEDSTRWIDTH=32767.
EXECUTE.
DATASET NAME ConjuntoDatos1 WINDOW=FRONT.
DESCRIPTIVES VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1Rec
Plq @1difGB @1difGR
  @1difPDW @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2RecPlq @2difGB @2difGR
@2difPDW @2difMPV @2difPLRC
  @2difGran @2difLinf @2Activ @3RecPlq @3difGB @3difGR @3difPDW @3difMPV
@3difPLRC @3difGran @3difLinf
  /STATISTICS=MEAN STDDEV MIN MAX SEMEAN.

```

Descriptivos

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 13:03:56
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	421
Manejo de valores perdidos	Definición de perdidos	Los valores perdidos definidos por el usuario se trata como valores perdidos.
	Casos utilizados	Se utilizan todos los datos no perdidos.
Sintaxis		DESCRIPTIVES VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1RecPlq @1difGB @1difGR @1difPDW @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2RecPlq @2difGB @2difGR @2difPDW @2difMPV @2difPLRC @2difGran @2difLinf @2Activ @3RecPlq @3difGB @3difGR @3difPDW @3difMPV @3difPLRC @3difGran @3difLinf /STATISTICS=MEAN STDDEV MIN MAX SEMEAN.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

[ConjuntoDatos1]

Estadísticos descriptivos

	N	Mínimo	Máximo	Media		Desviación estándar
	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Estadístico	Error estándar	Estadístico
Edad	421	20	80	55,81	,571	11,721
Plq	421	62	871	389,48	6,344	130,174
GB	421	,0	5,7	1,085	,0469	,9628
GR	421	,00	,07	,0133	,00047	,00968
PDW	421	13,8	16,8	15,465	,0203	,4166
MPV	421	6,3	12,5	9,271	,0524	1,0748
PLCR	421	6,9	54,5	31,218	,4343	8,9119
Gran	421	,00	75,80	8,5055	,71825	14,73733
Linf	421	,0	89,7	32,386	1,7525	35,9582
Días Conc	421	1	667	231,10	7,726	158,515
1Rec Plq	421	-,422459893	,7083333333	,0410980982	,0055185867	,1132319312
1difGB	388	-3,90000000	1,700000000	-,411005155	,0272291811	,5363526646
1difGR	399	-,020000000	,0700000000	,0146867168	,0005585111	,0111562498
1dif PDW	421	,0000000000	,1056338028	,0533793030	,0008786067	,0180275028
1dif MPV	421	-,141304348	,8295454545	,2338387510	,0057570870	,1181255493
1dif PLRC	421	-,327814570	3,043478261	,5938730952	,0193276651	,3965705326
1dif Gran	196	-75,80000000	9,300000000	-16,9536735	1,255613890	17,57859446
1Activ	42	11,0	63,4	30,281	2,3540	15,2557
2% Rec Plq	144	-,375675676	,0560000000	-,159829339	,0061792585	,0741511020
2dif GB	134	-1,60000000	,3000000000	-,193283582	,0243002799	,2812960769
2dif GR	142	-,030000000	,0100000000	-,005422535	,0006211345	,0074016712
2dif PDW	144	-,049382716	,1317365269	,0232056166	,0019725350	,0236704200
2dif MPV	144	-,221374046	,0582524272	-,082223045	,0050333834	,0604006006
2dif P-LRC	144	-,432242991	,0890052356	-,156856854	,0090272581	,1083270977
2dif Gran %	19	-1,50000000	5,600000000	,8913033228	,4348339705	1,895397335
2dif % Linf	43	-94,50000000	93,50000000	-30,1467442	7,729149143	50,68342035
2Activ %	51	,110	52,900	20,52602	1,970079	14,069177
3% Rec Plq	36	-,346666667	-,082251082	-,186587293	,0090295514	,0541773082
3dif GB	28	-1,10000000	,1000000000	-,146428571	,0535714286	,2834733548
3dif GR	36	,0000000000	,0300000000	,0019444444	,0009611042	,0057666254
3dif PDW	36	-,012195122	,1858974359	,0313073359	,0053642679	,0321856076
3dif MPV	36	-,100917431	,1485148515	,0001042272	,0097638683	,0585832100
3dif P-LRC	35	-,219239374	,2480314961	-,019816793	,0215558409	,1275260744
3dif Gran	5	2,800000000	6,323255814	4,641510667	,6030912861	1,348553112
3dif Linf	7	-1,00000000	,5587703436	-,474871975	,2554463768	,6758475863
N válido (por lista)	2					

CORRELATIONS

```

/VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1RecPlq @1difG
B @1difGR @1difPDW
    @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2Días80°C @2RecPlq @2difGB @2dif
GR @2difPDW @2difMPV
    @2difPLRC @2difGran @2difLinf @2Activ @3Días80°C @3RecPlq @3difGB @3di
fGR @3difPDW @3difMPV
    @3difPLRC @3difGran @3difLinf
/PRINT=TWOTAIL NOSIG
/MISSING=PAIRWISE.

```

Correlaciones

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 13:07:15
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo Filtro Ponderación Segmentar archivo N de filas en el archivo de datos de trabajo	ConjuntoDatos1 <ninguno> <ninguno> <ninguno> 421
Manejo de valores perdidos	Definición de perdidos Casos utilizados	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos. Las estadísticas para cada par de variables se basan en todos los casos con datos válidos para dicho par.
Sintaxis		CORRELATIONS /VARIABLES=Edad Plq GB GR PDW MPV PLCR Gran Linf DíasConc @1RecPlq @1difGB @1difGR @1difPDW @1difMPV @1difPLRC @1difGran @1Activ @2Días80°C @2RecPlq @2difGB @2difGR @2difPDW @2difMPV @2difPLRC @2difGran @2difLinf @2Activ @3Días80°C @3RecPlq @3difGB @3difGR @3difPDW @3difMPV @3difPLRC @3difGran @3difLinf /PRINT=TWOTAIL NOSIG /MISSING=PAIRWISE.
Recursos	Tiempo de procesador Tiempo transcurrido	00:00:00,02 00:00:00,05

Anejo 5. Análisis estadístico: -80°C vs nitrógeno líquido

```

UNIANOVA RecPlq BY NL
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL)
/EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=NL.
    
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:09:41
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA RecPlq BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: Rec Plq

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	8,442%	11,2459%	24
NL	7,467%	10,7273%	24
Total	7,954%	10,8833%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: Rec Plq

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	11,418 ^a	1	11,418	,095	,760
Intersección	3037,132	1	3037,132	25,148	,000
NL	11,418	1	11,418	,095	,760
Error	5555,531	46	120,772		
Total	8604,081	48			
Total corregido	5566,949	47			

a. R al cuadrado = ,002 (R al cuadrado ajustada = -,020)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: Rec Plq

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
7,954	1,586	4,762	11,147

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: Rec Plq

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	8,442	2,243	3,927	12,958
NL	7,467	2,243	2,951	11,982

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: Rec Plq

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^a	95% de intervalo de confianza para diferencia ^a	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	,975	3,172	,760	-5,410	7,361
NL	-80°C	-,975	3,172	,760	-7,361	5,410

Se basa en medias marginales estimadas

a. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: Rec Plq

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	11,418	1	11,418	,095	,760
Error	5555,531	46	120,772		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difGB BY NL
/METHOD=SSTYPE(3)
/INTERCEPT=INCLUDE
/EMMEANS=TABLES(OVERALL)
/EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
/PRINT=DESCRIPTIVE
/CRITERIA=ALPHA(.05)
/DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:10:06
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		<pre> UNIANOVA difGB BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL. </pre>
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,02
	Tiempo transcurrido	00:00:00,02

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	15
	NL	14

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif GB

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	-,047	,0834	15
NL	,043	,0646	14
Total	-,003	,0865	29

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif GB

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,058 ^a	1	,058	10,335	,003
Intersección	,000	1	,000	,019	,892
NL	,058	1	,058	10,335	,003
Error	,152	27	,006		
Total	,210	29			
Total corregido	,210	28			

a. R al cuadrado = ,277 (R al cuadrado ajustada = ,250)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif GB

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-,002	,014	-,030	,027

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif GB

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	-,047	,019	-,086	-,007
NL	,043	,020	,002	,084

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif GB

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	-,090 [*]	,028	,003	-,147	-,032
NL	-80°C	,090 [*]	,028	,003	,032	,147

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif GB

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	,058	1	,058	10,335	,003
Error	,152	27	,006		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difGR BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:10:50
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difGR BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	22
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif GR

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	0,8636364%	0,4675625%	22
NL	1,5833333%	0,7172815%	24
Total	1,2391304%	0,7050542%	46

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif GR

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5,945 ^a	1	5,945	15,927	,000
Intersección	68,728	1	68,728	184,120	,000
NL	5,945	1	5,945	15,927	,000
Error	16,424	44	,373		
Total	93,000	46			
Total corregido	22,370	45			

a. R al cuadrado = ,266 (R al cuadrado ajustada = ,249)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif GR

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
1,223	,090	1,042	1,405

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif GR

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	,864	,130	,601	1,126
NL	1,583	,125	1,332	1,835

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif GR

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	-,720*	,180	,000	-1,083	-,356
NL	-80°C	,720*	,180	,000	,356	1,083

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif GR

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	5,945	1	5,945	15,927	,000
Error	16,424	44	,373		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difPDW BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:11:11
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difPDW BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,02
	Tiempo transcurrido	00:00:00,02

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif PDW

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	5,549%	1,8306%	24
NL	9,363%	2,1687%	24
Total	7,456%	2,7671%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif PDW

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	174,617 ^a	1	174,617	43,359	,000
Intersección	2668,435	1	2668,435	662,595	,000
NL	174,617	1	174,617	43,359	,000
Error	185,253	46	4,027		
Total	3028,305	48			
Total corregido	359,871	47			

a. R al cuadrado = ,485 (R al cuadrado ajustada = ,474)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif PDW

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
7,456	,290	6,873	8,039

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif PDW

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	5,549	,410	4,724	6,373
NL	9,363	,410	8,539	10,188

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif PDW

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	-3,815 [*]	,579	,000	-4,981	-2,649
NL	-80°C	3,815 [*]	,579	,000	2,649	4,981

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif PDW

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	174,617	1	174,617	43,359	,000
Error	185,253	46	4,027		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difMPV BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:11:26
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difMPV BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,01

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif MPV

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	26,656%	9,4620%	24
NL	37,477%	16,0510%	24
Total	32,067%	14,1346%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif MPV

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1405,306 ^a	1	1405,306	8,096	,007
Intersección	49356,669	1	49356,669	284,343	,000
NL	1405,306	1	1405,306	8,096	,007
Error	7984,736	46	173,581		
Total	58746,712	48			
Total corregido	9390,042	47			

a. R al cuadrado = ,150 (R al cuadrado ajustada = ,131)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif MPV

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
32,067	1,902	28,239	35,894

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif MPV

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	26,656	2,689	21,242	32,069
NL	37,477	2,689	32,064	42,891

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif MPV

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	-10,822 [*]	3,803	,007	-18,477	-3,166
NL	-80°C	10,822 [*]	3,803	,007	3,166	18,477

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif MPV

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	1405,306	1	1405,306	8,096	,007
Error	7984,736	46	173,581		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

UNIANOVA difPLRC BY NL

/METHOD=SSTYPE(3)

/INTERCEPT=INCLUDE

/EMMEANS=TABLES(OVERALL)

/EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)

/PRINT=DESCRIPTIVE

/CRITERIA=ALPHA(.05)

/DESIGN=NL.

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:11:47
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difPLRC BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,02

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif P-LRC

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	77,443%	31,2274%	24
NL	108,691%	43,9089%	24
Total	93,067%	40,8655%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif P-LRC

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	11717,106 ^a	1	11717,106	8,072	,007
Intersección	415751,528	1	415751,528	286,415	,000
NL	11717,106	1	11717,106	8,072	,007
Error	66772,215	46	1451,570		
Total	494240,849	48			
Total corregido	78489,321	47			

a. R al cuadrado = ,149 (R al cuadrado ajustada = ,131)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif P-LRC

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
93,067	5,499	81,998	104,136

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif P-LRC

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	77,443	7,777	61,789	93,098
NL	108,691	7,777	93,037	124,345

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif P-LRC

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	-31,248 [*]	10,998	,007	-53,386	-9,109
NL	-80°C	31,248 [*]	10,998	,007	9,109	53,386

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif P-LRC

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	11717,106	1	11717,106	8,072	,007
Error	66772,215	46	1451,570		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA RecPlq_A BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:12:14
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo Filtro Ponderación Segmentar archivo N de filas en el archivo de datos de trabajo	ConjuntoDatos1 <ninguno> <ninguno> <ninguno> 52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia Casos utilizados	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos. Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA RecPlq_A BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador Tiempo transcurrido	00:00:00,00 00:00:00,00

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: % Rec Plq

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	-10,857%	7,2496%	24
NL	-8,021%	4,2328%	24
Total	-9,439%	6,0447%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: % Rec Plq

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	96,456 ^a	1	96,456	2,737	,105
Intersección	4276,601	1	4276,601	121,369	,000
NL	96,456	1	96,456	2,737	,105
Error	1620,870	46	35,236		
Total	5993,927	48			
Total corregido	1717,326	47			

a. R al cuadrado = ,056 (R al cuadrado ajustada = ,036)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: % Rec Plq

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-9,439	,857	-11,164	-7,714

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: % Rec Plq

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	-10,857	1,212	-13,296	-8,418
NL	-8,021	1,212	-10,460	-5,582

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: % Rec Plq

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^a	95% de intervalo de confianza para diferencia ^a	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	-2,835	1,714	,105	-6,284	,614
NL	-80°C	2,835	1,714	,105	-,614	6,284

Se basa en medias marginales estimadas

a. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: % Rec Plq

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	96,456	1	96,456	2,737	,105
Error	1620,870	46	35,236		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difGB_A BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:12:34
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difGB_A BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,01

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	15
	NL	19

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif GB

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	-,053	,0743	15
NL	-,032	,0820	19
Total	-,041	,0783	34

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif GB

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,004 ^a	1	,004	,640	,430
Intersección	,060	1	,060	9,749	,004
NL	,004	1	,004	,640	,430
Error	,198	32	,006		
Total	,260	34			
Total corregido	,202	33			

a. R al cuadrado = ,020 (R al cuadrado ajustada = -,011)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif GB

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-,042	,014	-,070	-,015

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif GB

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	-,053	,020	-,095	-,012
NL	-,032	,018	-,068	,005

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif GB

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^a	95% de intervalo de confianza para diferencia ^a	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	-,022	,027	,430	-,077	,034
NL	-80°C	,022	,027	,430	-,034	,077

Se basa en medias marginales estimadas

a. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif GB

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	,004	1	,004	,640	,430
Error	,198	32	,006		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difGR_A BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:12:48
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difGR_A BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,02

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	22
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif GR

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	-,001363636	,0035125009	22
NL	-,008750000	,0061237244	24
Total	-,005217391	,0062322211	46

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif GR

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,001 ^a	1	,001	24,567	,000
Intersección	,001	1	,001	46,058	,000
NL	,001	1	,001	24,567	,000
Error	,001	44	2,549E-5		
Total	,003	46			
Total corregido	,002	45			

a. R al cuadrado = ,358 (R al cuadrado ajustada = ,344)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif GR

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-,005	,001	-,007	-,004

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif GR

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	-,001	,001	-,004	,001
NL	-,009	,001	-,011	-,007

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif GR

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	,007 [*]	,001	,000	,004	,010
NL	-80°C	-,007 [*]	,001	,000	-,010	-,004

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif GR

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	,001	1	,001	24,567	,000
Error	,001	44	2,549E-5		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difPDW_A BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:13:39
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difPDW_A BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,00

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif PDW

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	1,518%	2,1438%	24
NL	-2,206%	3,0310%	24
Total	-0,344%	3,2073%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif PDW

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	166,487 ^a	1	166,487	24,159	,000
Intersección	5,680	1	5,680	,824	,369
NL	166,487	1	166,487	24,159	,000
Error	317,001	46	6,891		
Total	489,168	48			
Total corregido	483,488	47			

a. R al cuadrado = ,344 (R al cuadrado ajustada = ,330)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif PDW

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-,344	,379	-1,107	,419

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif PDW

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	1,518	,536	,440	2,597
NL	-2,206	,536	-3,285	-1,128

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif PDW

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	3,725 [*]	,758	,000	2,199	5,250
NL	-80°C	-3,725 [*]	,758	,000	-5,250	-2,199

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif PDW

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	166,487	1	166,487	24,159	,000
Error	317,001	46	6,891		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difMPV_A BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:14:01
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difMPV_A BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,00
	Tiempo transcurrido	00:00:00,01

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif MPV

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	-3,819%	4,0980%	24
NL	-11,562%	5,5773%	24
Total	-7,691%	6,2248%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif MPV

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	719,451 ^a	1	719,451	30,040	,000
Intersección	2839,033	1	2839,033	118,541	,000
NL	719,451	1	719,451	30,040	,000
Error	1101,694	46	23,950		
Total	4660,177	48			
Total corregido	1821,144	47			

a. R al cuadrado = ,395 (R al cuadrado ajustada = ,382)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif MPV

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-7,691	,706	-9,113	-6,269

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif MPV

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	-3,819	,999	-5,830	-1,808
NL	-11,562	,999	-13,573	-9,551

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif MPV

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	7,743*	1,413	,000	4,899	10,587
NL	-80°C	-7,743*	1,413	,000	-10,587	-4,899

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif MPV

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	719,451	1	719,451	30,040	,000
Error	1101,694	46	23,950		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.

```
UNIANOVA difPLRC_A BY NL
  /METHOD=SSTYPE(3)
  /INTERCEPT=INCLUDE
  /EMMEANS=TABLES(OVERALL)
  /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD)
  /PRINT=DESCRIPTIVE
  /CRITERIA=ALPHA(.05)
  /DESIGN=NL.
```

Análisis univariado de varianza

Notas

Salida creada		13-JUN-2024 14:14:23
Comentarios		
Entrada	Conjunto de datos activo	ConjuntoDatos1
	Filtro	<ninguno>
	Ponderación	<ninguno>
	Segmentar archivo	<ninguno>
	N de filas en el archivo de datos de trabajo	52
Control de valores perdidos	Definición de ausencia	Los valores perdidos definidos por el usuario se tratan como perdidos.
	Casos utilizados	Las estadísticas se basan en todos los casos con datos válidos para todas las variables del modelo.
Sintaxis		UNIANOVA difPLRC_A BY NL /METHOD=SSTYPE(3) /INTERCEPT=INCLUDE /EMMEANS=TABLES(OVERALL) /EMMEANS=TABLES(NL) COMPARE ADJ(LSD) /PRINT=DESCRIPTIVE /CRITERIA=ALPHA(.05) /DESIGN=NL.
Recursos	Tiempo de procesador	00:00:00,02
	Tiempo transcurrido	00:00:00,01

Factores inter-sujetos

		N
NL	-80°C	24
	NL	24

Estadísticos descriptivos

Variable dependiente: dif P-LRC

NL	Media	Desviación estándar	N
-80°C	-7,606%	9,0396%	24
NL	-21,824%	6,7905%	24
Total	-14,715%	10,6849%	48

Pruebas de efectos inter-sujetos

Variable dependiente: dif P-LRC

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	2425,876 ^a	1	2425,876	37,956	,000
Intersección	10393,531	1	10393,531	162,621	,000
NL	2425,876	1	2425,876	37,956	,000
Error	2939,982	46	63,913		
Total	15759,388	48			
Total corregido	5365,857	47			

a. R al cuadrado = ,452 (R al cuadrado ajustada = ,440)

Medias marginales estimadas

1. Gran media

Variable dependiente: dif P-LRC

Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
		Límite inferior	Límite superior
-14,715	1,154	-17,038	-12,392

2. NL

Estimaciones

Variable dependiente: dif P-LRC

NL	Media	Error estándar	Intervalo de confianza al 95%	
			Límite inferior	Límite superior
-80°C	-7,606	1,632	-10,891	-4,321
NL	-21,824	1,632	-25,109	-18,539

Comparaciones por parejas

Variable dependiente: dif P-LRC

(I) NL	(J) NL	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig. ^b	95% de intervalo de confianza para diferencia ^b	
					Límite inferior	Límite superior
-80°C	NL	14,218 [*]	2,308	,000	9,573	18,864
NL	-80°C	-14,218 [*]	2,308	,000	-18,864	-9,573

Se basa en medias marginales estimadas

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel ,05.

b. Ajuste para varias comparaciones: menor diferencia significativa (equivalente a sin ajustes).

Pruebas univariadas

Variable dependiente: dif P-LRC

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Contraste	2425,876	1	2425,876	37,956	,000
Error	2939,982	46	63,913		

F prueba el efecto de NL. Esta prueba se basa en las comparaciones por parejas linealmente independientes entre las medias marginales estimadas.