

UTILIZAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS (PRP) NA RECUPERAÇÃO DE TECIDOS ÓSSEOS

USING OF PLATELET RICH PLASMA (PRP) ON RECOVERY OF BONE TISSUE

DAYANE ADENIR SHIZUKO TAKATA **RIBEIRO**¹, CLÉVERSON DE OLIVIERA E **SILVA**², FABIANO CARLOS **MARSON**³, ROMUALDO JOSÉ RIBEIRO **GAMA**⁴, MÁRIO DOS ANJOS **NETO FILHO**⁵

1. Acadêmica do curso de graduação em Medicina da Faculdade Ingá; 2. Cirurgião-Dentista, Doutor em Clínica Odontológica, área de Periodontia, docente do curso de graduação em Odontologia da Faculdade Ingá e do Programa de Mestrado Profissional em Odontologia da Faculdade Ingá; 3. Cirurgião-Dentista, Doutor em Dentística, docente do curso de graduação em Odontologia da Faculdade Ingá e do Programa de Mestrado Profissional em Odontologia da Faculdade Ingá; 4. Médico, Coordenador Geral do IPEMCE - Instituto Paulista de Ensino em Medicina e Cirurgia Estética; 5. Prof. Dr. Adjunto da Disciplina de Farmacologia e Terapêutica Medicamentosa da Faculdade Ingá.

* Rodovia PR-317, 6114, Maringá, Paraná, Brasil. CEP 87035-510. marioneto@unigna.br

Recebido em 08/05/2015. Aceito para publicação em 18/06/2015

RESUMO

Em linhas gerais pode-se dizer que o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) é uma preparação com elevada concentração de plaquetas autólogas, em um volume reduzido de plasma. As plaquetas possuem diversos fatores celulares. Por este motivo, conjectura-se que as plaquetas possuem a capacidade de potencialização do processo de cicatrização e aceleração da regeneração óssea, o que contribuiria para diminuição do período pós-operatório, processo inflamatório e perda de sangue. Desta forma, o presente estudo tem por objetivo verificar, com base na literatura, o uso do PRP no reparo de tecidos ósseos, a fim de observar o sucesso desta opção terapêutica.

PALAVRAS-CHAVE: Plasma Rico em Plaquetas, PRP, cicatrização, tecido ósseo.

ABSTRACT

In general terms it can be said that the Platelet Rich Plasma (PRP) is prepared with a high concentration of autologous platelets in a small volume of plasma. Platelets have several cellular factors. For this reason, it is conjectured that the platelets have the capacity enhancement of the healing process and the acceleration of bone regeneration, which would contribute to reduction in the postoperative period, the inflammation and loss of blood. Thus, this study aims to determine, based on the literature, the use of PRP in the repair of bone tissue, in order to observe the success of this treatment option.

KEYWORDS: Platelet Rich Plasma, PRP, healing, bone tissue.

1. INTRODUÇÃO

O Plasma Rico em Plaquetas (PRP) resume-se em uma elevada concentração de plaquetas em um volume reduzido de plasma. É adquirido a partir da centrifugação de sangue autólogo, não induzindo, portanto, sem reação imunogênica, embora existam restrições de uso em pacientes com anemia ou saúde debilitada¹.

O PRP foi descrito inicialmente por Lynch (1989), adotando nomeações como gel de plaquetas, plasma enriquecido em plaquetas, plasma autógeno rico em plaquetas e plasma rico em fatores de crescimento². Há variados métodos para obtenção do PRP em que diferentes concentrações e tempo de centrifugação podem ser empregados. Normalmente, as plaquetas são mantidas no plasma em uma concentração próxima de 150.000 a 400.000/mm³; no PRP essa concentração aumenta para 338%³.

As plaquetas atuam na hemostasia e cicatrização, pois contém proteínas secretórias que atuam na cascata de cicatrização¹. Dentre elas, destacamos os Fatores de Crescimento Transformante Beta e Alfa (TGF-beta, TGF-alfa), Fator de Crescimento Vascular Endotelial (VEGF), o Fator de Crescimento Derivado de plaqueta (PDGF), as Proteínas Morfogenéticas Ósseas (BMPs) e as citocinas que atuam na proliferação celular, reparo e regeneração de tecidos⁵. De acordo com a literatura, é possível atribuir às plaquetas a capacidade de potencialização do processo de cicatrização e a aceleração da regeneração óssea, que contribui para reduzir o período pós-operatório, o processo

inflamatório e a perda de sangue². Vários estudos aludem a eficácia do PRP na traumatologia, em cirurgias, doenças ortopédicas de origem metabólica, idiopática, autoimune, infecciosa, neoplásica, no tratamento de pseudoartroses, osteoartrites e, especialmente, tendinopatias e lesões ligamentosas, comuns em atletas de alto nível^{3,4,5}.

Neste sentido, o PRP vem sendo utilizado como recurso biotecnológico na formação de tecidos ósseos^{6,7} notadamente visando a reconstrução mandibular em cirurgia maxilofacial e como alternativa para viabilizar a fixação de implantes dentários, em decorrência das propriedades osteoindutoras, osteogênicas e osteocondutoras mediada ao menos em parte pelas plaquetas; acredita-se que como o PRP possui elevada concentração de fibrinogênio, a combinação deste com os mediadores e fatores de crescimento, poderia ativar a síntese de colágeno e a angiogênese nestes tecidos⁸.

Desta forma, o presente estudo tem por objetivo verificar, com base na literatura, o uso do PRP no reparo de tecidos ósseos, a fim de observar o sucesso desta opção terapêutica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento desta revisão integrativa optamos pela proposta de Ganong (1987)⁹, obedecendo-se às seguintes etapas: 1) identificação da questão norteadora, seguida pela busca dos descritores ou palavras-chaves; 2) determinação dos critérios de inclusão ou exclusão da pesquisa em bases de dados online; 3) categorização dos estudos, resumindo e organizando as informações relevantes; 4) avaliação dos estudos pela análise crítica dos dados extraídos; 5) discussão e interpretação dos resultados examinados, contextualizando o conhecimento teórico e avaliando quanto sua aplicabilidade; 6) apresentação da revisão integrativa e síntese do conhecimento de cada artigo revisado de maneira sucinta e sistematizada.

No presente estudo a questão norteadora da revisão integrativa foi: qual o potencial da utilização do PRP como forma alternativa de terapia em intervenções ortopédicas ou odontológicas com manipulação de tecido ósseo?

Foram consultadas as bases de dados LILACS (Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde), a biblioteca SciELO (*Scientific Electronic Library on Line*) e PubMed (*National Center for Biotechnology Information - NCBI, U.S. National Library of Medicine*), Google Acadêmico, incluindo-se os estudos que abordaram a temática do PRP, publicados desde 1996 até 2012, independente do idioma de publicação. Foram utilizados os seguintes descritores controlados para a busca e também utilizados como palavras-chave: *PRP (platelet-rich plasma)*, ortopedia

(*orthopedics*), cirurgia (*surgery*), consolidação óssea (*bone consolidation*), cicatrização (*cicatrization*).

3. DESENVOLVIMENTO

3.1 Propriedades plaquetárias relacionadas ao uso terapêutico em tecidos ósseos

As plaquetas são fragmentos citoplasmáticos anucleados, produzidos pela medula óssea. Estão presentes na circulação sanguínea em uma concentração de 150.000 a 450.000 plaquetas por microlitro e em menor concentração no baço. Possui uma meia-vida de 7 a 10 dias^{10,11,12}. Sua estrutura é formada por zonas periférica, sol-gel, de organelas e um sistema membranar. A zona periférica é composta por membranas interna (trilaminar) e externa que possibilitam a agregação plaquetária por conter glicoproteínas que atuam como receptores essenciais para a adesão e um sistema canicular aberto (SCA), responsável pela liberação de substâncias por meio de grânulos após ativação plaquetária. A zona sol-gel contém um citoesqueleto que garante sustentação e um sistema contrátil que permite a mudança de sua forma discóide, o prolongamento de seus pseudópodos, contração interna e liberação de seus grânulos sem que haja lise celular. A zona de organelas é formada por grânulos alfa ricos em fatores de crescimento, trombospondina, vitronectina, proteínas adesinas, inibidor do ativador de plasminogênio e grânulos densos com cálcio, serotonina, trifosfato de adenosina (ATP) e difosfato de adenosina (ADP), além de lisossomos e mitocôndrias. O sistema membranar inclui o sistema tubular denso que contém cálcio o qual é essencial nos processos de contração e um complexo enzimático envolvido na síntese de prostaglandinas^{12,13,14}.

Estas substâncias liberadas pelo sistema canicular aberto são fatores de crescimento (FC) que em níveis elevados estimulam proliferação celular, diferenciação celular e aumento da produção de matriz extracelular por possuírem afinidade por receptores tirosina-quinase, que uma vez ativos conduzem a uma cascata de ativações. Assim, induz o reparo e regeneração tecidual ao atuar na diferenciação de células osteoprogenitoras e osteocondutoras, reduzir a taxa de absorção, estimular a migração epitelial contribuindo para formação óssea e de tecido conectivo^{12,15}.

Os principais FC dentre os diversos existentes são o Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas (PDGF), o Fator de Crescimento Transformador Beta (TGF beta), o Fator de Crescimento Fibroblástico beta (FGF beta), o Fator de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF) e o Fator de Crescimento Endotelial (EGF). O PDGF estimula a síntese de colágeno e reepitelização ao atrair macrófagos e fibroblastos que ao chegarem no local da lesão liberam mais PDGF, TGF beta e FGF. O TGF beta

estimula a proliferação de célula mesenquimal não diferenciada, regula a mitogênese endotelial de fibroblastos e osteoblastos, inibe a proliferação de linfócitos e macrófagos, regula o efeito mitógeno de outros FC e regula a síntese de colágeno e secreção de collagenase. Pertence a uma grande família de isômeros, existindo em suas três formas: beta 1, beta 2 e beta 3. O FGF beta está relacionado ao crescimento e diferenciação de condrócitos e osteoblastos; mitogênico para células mesenquimais. O VEGF aumenta a permeabilidade vascular por induzir angiogênese, atrai fibroblastos para formação de tecido conjuntivo e atua na cascata de produção de fibrinogênio em fibrina que permite o crescimento de células endoteliais e fibroblastos. O EGF estimula a quimiotaxia e angiogênese endotelial, regula a secreção de collagenase, estimula a miogênese epitelial e mesenquimal. Portanto, devido as suas propriedades, as plaquetas em elevada concentração no PRP, associadas a cininas, fibrina e prostaglandinas, estão diretamente relacionadas ao reparo de tecidos ósseos ao atuarem no processo de reparo e cicatrização tecidual^{16,17}.

3.2 Evidências relacionadas ao uso do PRP na reparação de tecidos ósseos.

Floryan & Berghoff (2004)² observaram a eficácia da combinação do PRP com células mesenquimais indiferenciadas do cordão umbilical (UC-MSCs) na regeneração óssea *in vivo*. Os autores observaram maior expressão de alcalino fosfatase (ALP), colágeno 1 e fator 2 de transcrição RUN (RUNX2) resultando em aceleração da regeneração óssea em um estágio anterior comparado ao grupo que utilizou o PRP isolado¹. Em contrapartida, Hernández-Martinez *et al.* (2012)¹⁸ verificaram que o uso do PRP associado a hidroxiapatita não aumentou a velocidade de formação do calo ósseo comparado ao uso da hidroxiapatita isolada em fraturas diafisárias induzidas experimentalmente em rádio de cães¹⁹. Apesar que, de acordo com os métodos adotados, a concentração do PRP obtida não foi a adequada, o que demonstra a necessidade de estudos adicionais para padronização de protocolos de obtenção do PRP e análise do seu efeito na regeneração óssea em procedimentos ortopédicos associados aos enxertos e agentes osteoindutores¹⁸.

Ainda, de acordo com a literatura, ao incluir o PRP para reparar uma falha óssea diafisária no rádio de coelhos da raça Nova Zelândia, com grupos de animais divididos em: grupo 1 no qual a falha foi deixada vazia; grupo 2: em que utilizou-se o PRP em uma concentração média de 1.239.000 plaquetas/mm³, enquanto no sangue

total a concentração média é de 324.000 plaquetas/mm³; e o grupo 3: preenchido com um material inerte (Gelfoam®). Fora observado na décima segunda semana cicatrização total e remodelamento no grupo 2, e parcial nos grupos 1 e 3 na décima segunda semana, tendo sido possível inferir que o aumento da resposta cicatricial se deveu a utilização de PRP nos grupos³. Somado a isto, Malhotra *et al.* (2014)²⁰ afirmaram que ao usar o PRP combinado com fosfato de cálcio bifásico (BCP) em falhas ósseas produzidas na tíbia proximal média e porção distal do fêmur de ovelhas observadas durante quatro semanas, a maior concentração de PRP mostrou melhora na tomografia computadorizada volume/volume total, comparado ao BCP isolado. Os autores concluíram que todas as concentrações de PRP quando combinadas ao BCP são superiores ao uso apenas do PRP²⁰.

No entanto, em discordância, estudo em ratos acompanhados por um período de 21 dias demonstrou que a atividade do BMP-2 na osteogênese não é substituída pelo uso de PRP após avaliar a diferenciação osteogênica em que houve proliferação significativa, mas redução de atividade de alcalino fosfatase (ALP) e de deposição de cálcio. Contudo, Mishra & Pavelko (2006)²¹ em que 140 pacientes humanos com tendinite crônica relatou redução da dor com a introdução do PRP no período pré operatório^{21,22,23}.

Peerbooms *et al.* (2012)²² analisou pesquisa em 41 pacientes humanos submetidos a osteotomia tibial e tratados com PRP. No entanto, não foi identificado em tomografia computadorizada diferenças entre o grupo em que o PRP foi adicionado e o grupo controle. Pelo contrário, após uma semana de pós-operatório a densidade óssea foi significativamente reduzida, após seis semanas de pós-operatório não foi constatado diferença entre os grupos e após doze semanas o grupo que usou o PRP tinha reduzida densidade óssea comparado ao grupo controle. Somado a isto, outro estudo *in vitro* com células humanas ósseas, musculares e tendíneas foi realizado e foi observado proliferação significativa de osteócitos, miócitos e tendinócitos no grupo com reduzida concentração de plaquetas. Somente o grupo de tendinócitos em presença de maior concentração de plaquetas, com o uso do PRP observou-se efeito proliferativo. Quando analisados os dados com miócitos em presença de PRP, foi observada proliferação significativa no grupo com o dobro da concentração de plaquetas do grupo anterior.

Em conjunto os dados sugerem que a teoria sobre a utilização de maior concentração de plaquetas pode não ser o método mais apropriado, o que indica a falta de esclarecimento quanto a concentração adequada para o tratamento de diferentes tipos celulares²⁴. O que fica de fato notório é que a existência de diferenças entre os métodos de obtenção e aplicação do PRP e seus efeitos sobre as características individuais de cada paciente contribuem para uma variedade de resultados, reforçando a busca de novas propostas satisfatórias sobre a aplicabilidade e eficácia do PRP.

4. CONCLUSÕES

Com base nos estudos consultados, parece haver melhores resultados com o uso de PRP *in vitro* ou em animais de estudo do que em seres humanos. Este fato pode estar relacionado com a limitação experimental para a obtenção de dados com seres humanos. Por outro lado, pode ser que, de fato em humanos a resposta ao PRP não seja tão exuberante quanto àquelas obtidas em *in vitro* ou em animais experimentais, sendo necessários mais estudos neste sentido.

De qualquer forma, não se observou relatos de efeitos deletérios ou aquém do padrão normal de reparo do tecido ósseo quando os tecidos lesados foram expostos à concentrações elevadas de plaquetas.

Neste contexto, ao se identificar o potencial de prejuízo ou de retardo no processo de reparação do tecido ósseo de um dado paciente, o PRP pode soar como uma ferramenta terapêutica auxiliar e adicional, porém, como dito, sem a certeza de sucesso garantido, seja porque ainda faltam estudos que estabelecem a concentração ideal de plaquetas concentradas a ser utilizada em cada tecido, seja pela diferente sensibilidade dos tecidos às plaquetas, independente de sua concentração.

REFERÊNCIAS

- [1] Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg* 2005; 16(6): 1043-54.
- [2] Floryan KM, Berghoff WJ. Intraoperative use of autologous platelet-rich and platelet-poor plasma for orthopedic surgery patients. *AORN J* 2004; 80(4).
- [3] Gumieiro EH, Abrahão M, Jahn RS, Segretto H, Alves MT, Nannmark U, Granström G, Dib LL. Platelet-rich plasma in bone repair of irradiated tibiae of Wistar rats. Brazil. Source Department of Otorhinolaryngology and Head and Neck Surgery. *Acta Cir Bras. UNIFESP, São Paulo-SP* 2010; 25(3): 257-63.
- [4] Wilson E.MK, Barbieri CH, Mazzer N. Estimulação da cicatrização óssea pelo plasma autógeno rico em plaquetas. Estudo experimental em coelhos. *Acta Ortopédica Brasileira*. 2006; 14(4).
- [5] Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004; 62(4):489-96.
- [6] Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85:638-46
- [7] Klein CP, Wagner SC, Da Silva JB. Obtenção de plasma rico em plaquetas: avaliação do efeito da centrifugação sobre a concentração de plaquetas através da comparação entre protocolos. *R. bras. Bioci. Porto Alegre-RS* 2011; 9(4):509-13.
- [8] Gunaydin S, McCusker K, Sari T, Onur M, Gurpinar A, Sevim H, Atasoy P, Yorgancioglu C, Zorlutuna Y. Clinical impact and biomaterial evaluation of autologous platelet gel in cardiac surgery. *Perfusion* 2008; 23(3):179-86.
- [9] Ganong LH. Integrative reviews of nursing research. *Res Nurs Health*, 1987; 10(1):1-11.
- [10] Geddius AE. Los ploidy endomitotic megakaryocytes exhibit cleavage furrow regression following furrow ingression. *Cell Cycle*. 2007; 6: 455-46.
- [11] Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge ansinus augmentation utilizing platelet rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontal*. 2000; 16:54-61.
- [12] Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma infection grafts for musculoskeletal Injuries: a review. *Current Reviews in Musculoskeletal Medicine*. 2006; 1:165-74.
- [13] Castro HC et al. Plaquetas: ainda um alvo terapêutico. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2006; 42(5):321-32.
- [14] Pontual MAB, Magini RS. Plasma Rico em Plaquetas e Fatores de Crescimento. São Paulo: Santos. 2004: 189-230.
- [15] Anittua E, Andia I, Andanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of protein for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost*. 2004; 91(1):4-15.
- [16] Jobe CM *et al.* Anterior shoulder instability impingement and rotator cuff tear: theories and concepts. Jobe FW editor. *Operative techniques in upper extremity sports Injuries*. 1996: 164-76.
- [17] Pagliosa GM, Alves GES. Considerações sobre a obtenção e o uso do plasma rico em plaquetas e as células mesenquimais indiferenciadas em enxertos ósseos. *Ciência Rural*. 2007; 37(4):1202-05.
- [18] Hernández-Martínez JC, Vásquez CR, Ceja CB, Fuentes CCE, Sesma JF, Benítez AG. *Acta Ortopédica Mexicana* 2012; 26(3):170-3.
- [19] Silva SB *et al.* Plasma Rico em Plaquetas combinado a hidroxiapatita na formação do calo ósseo em fraturas induzidas experimentalmente no rádio de cães. *Ciência Rural, Santa Maria* 2007; 37(4):1045-51.
- [20] Malhotra A *et al.* Platelet-rich plasma and bone defect healing. *Tissue Eng Part A* 2014.
- [21] Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *American Journal of Sports Medicine, Chicago* 2006; 34(11):1774-8.

- [22] Peerboms JC *et al.* No positive bone healing after using platelet rich plasma in skeletal defect. Observational prospective cohort study. *International Orthopaedics* 20012; 36(10): 2113-19.
- [23] Mazzoca AD *et al.* The positive effects of different platelet-rich plasma methods on human muscle, bone, and tendon cells. *The Am J of Sports Medicine*. 2014.
- [24] Wen Y, *et al.* Platelet-rich plasma enhanced umbilical Cord mesenchymal stem cells-based bone tissue regeneration. *Arch Oral Biol*. 2014; 59(11):1146-54.

The logo for BJSCR (Brazilian Journal of Surgical and Clinical Research) features the letters 'BJSCR' in a bold, yellow, sans-serif font. The letters are set against a dark, circular background with a glowing, ethereal effect. Below the main text, there is a faint, mirrored reflection of the letters.