

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**ESTUDO DA EFICÁCIA DO USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS
NO TRATAMENTO DAS DOENÇAS OSTEOARTICULARES**

RONALD BISPO BARRETO DA SILVA

Aracaju
Março – 2019

UNIVERSIDADE TIRADENTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E AMBIENTE

**ESTUDO DA EFICÁCIA DO USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS
NO TRATAMENTO DAS DOENÇAS OSTEOARTICULARES**

Tese de Doutorado submetida à banca
examinadora para a obtenção do título de
Doutor em Saúde e Ambiente, na área de
concentração Saúde e Ambiente.

RONALD BISPO BARRETO DA SILVA

Orientadora:
Juliana Cordeiro Cardoso, Ph.D.

Aracaju
Março – 2019

S586e Silva, Ronald Bispo Barreto da
Estudo da eficácia do uso do plasma rico em plaquetas no tratamento
das doenças osteoarticulares / Ronald Bispo Barreto da Silva; orientação [de] Prof.^a
Dr.^a Juliana Cordeiro Cardoso – Aracaju: UNIT, 2019.

145 f. il ; 30 cm

Tese (Doutorado em Saúde e Ambiente) - Universidade Tiradentes, 2019
Inclui bibliografia.

1. Plasma rico em plaquetas. 2. Ensaio clínico. 3. Sistema músculo
esquelético 4. Terapia regenerativa I. Silva, Ronald Bispo Barreto da. II. Cardoso,
Juliana Cordeiro. (orient.). III. Universidade Tiradentes. IV. Título.

CDU: 617.3

SIB- Sistema Integrado de Bibliotecas

ESTUDO DA EFICÁCIA DO USO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO TRATAMENTO DAS DOENÇAS OSTEOARTICULARES

Ronald Bispo Barreto da Silva

TESE DE DOUTORADO SUBMETIDA À BANCA EXAMINADORA PARA A OBTENÇÃO
DO TÍTULO DE DOUTOR EM SAÚDE E AMBIENTE, NA ÁREA DE CONCENTRAÇÃO
SAÚDE E AMBIENTE.

Aprovada por:

Juliana Cordeiro Cardoso, Ph.D.
Orientadora

Ricardo Luiz C. de Albuquerque Júnior, Ph.D.
Universidade Tiradentes

Sonia Oliveira Lima, Ph.D.
Universidade Tiradentes

Patrícia Severino, Ph.D.
Universidade Tiradentes

Maria Helena Andrade Santana, Ph.D.
Universidade Estadual de Campinas

DEDICATÓRIA

Este trabalho é dedicado com muito AMOR à
minha esposa Bárbara e aos meus filhos Alice e Rafael.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a DEUS, energia e força Superior.

Agradeço especialmente à minha esposa, Bárbara, que durante toda essa longa jornada me apoiou, me estimulou, me acalmou, me motivou, me ensinou, e ainda manteve a unidade familiar íntegra. Pois, nos meus vários momentos de ausência dedicados a este trabalho, ela conseguiu suavizar a minha falta em relação a percepção dos nossos filhos e em relação a ela mesma.

Agradeço aos meus filhos, Alice e Rafael, que mesmo sem saber o que estava escrito na tela, sempre encheram o nosso ambiente com alegria e humor na hora que o Papai estava “brincando com as letrinhas” e faziam questão para sentar no meu colo para brincarem também.

Agradeço à professora Juliana, minha orientadora, que confiou no meu trabalho, que sempre tinha uma palavra precisa e certa naqueles momentos de dificuldade, sempre me motivando e encorajando a continuar na busca do conhecimento sobre este tema desafiador.

Agradeço ao professor Ricardo, meu “ex-orientador”, que nunca deixou de me orientar.

Agradeço a Arthur, Mayvelise, Marianna, Erick, Bruna e Beatriz, estudantes tão dedicados, proativos e competentes que tornaram este trabalho mais leve de ser conduzido. Com certeza serão profissionais diferenciados.

Agradeço à Universidade Tiradentes, em nome do professor Hesmoney, por ceder o espaço da UNIT-Med e do UNIT-Lab, estrutura fundamental para a execução da pesquisa.

.....

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 OBJETIVO GERAL.....	3
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
CAPÍTULO I - REVISÃO DA LITERATURA.....	4
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	5
3.1 DEFINIÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS	5
3.2 TIPOS DE PRP	5
3.3 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO PAW	7
3.4 COMPONENTES BIOQUÍMICOS E BIOATIVOS DO PRP	9
3.4.1 Plaquetas	10
3.4.2 Plasma	12
3.4.3 Leucócitos	14
3.5 O PROCESSO NATURAL DE CICATRIZAÇÃO EM LESÕES DOS TECIDOS MOLES.....	16
3.6 MECANISMO DE AÇÃO DO PRP	18
3.7 MÉTODOS DE OBTENÇÃO E PREPARAÇÃO DO PRP	19
3.7.1 Princípios da preparação do PRP	20
3.7.2 Métodos de obtenção do PRP	20
3.7.3 Fatores que interferem na produção do PRP.....	24
3.7.4 Contagem Plaquetária.....	30
3.7.5 Custo benefício dos sistemas de PRP	31
3.8 FORMAS DE APRESENTAÇÃO DO PRP	32
4 USO DO PRP NA ORTOPEDIA E MEDICINA ESPORTIVA	35
4.1 USO DO PRP NAS LESÕES CONDRAIS FOCAIS E NA ARTROSE	35
4.2 USO DO PRP NA CONSOLIDAÇÃO ÓSSEA.....	39
4.2.1 Falhas ósseas	39
4.2.2 Pseudoartroses	40
4.2.3 Artrodeses	40

4.2.4	Osteotomias	41
4.2.5	Fraturas	42
4.3	USO DO PRP NO TRATAMENTO DAS TENDINOPATIAS	43
4.3.1	Tendinopatias crônicas	43
4.3.2	Reparo do Tendão de Aquiles.....	44
4.3.3	Reparo do tendão patelar.....	45
4.3.4	Reparo de manguito rotador	46
4.4	LESÕES LIGAMENTARES	48
4.4.1	Tratamento não cirúrgico de lesões ligamentares – Entorse do tornozelo	48
4.4.2	Fasceíte plantar.....	49
4.4.3	Reconstrução do ligamento cruzado anterior.....	50
4.5	LESÕES MUSCULARES	52
4.6	RESUMO DAS RECOMENDAÇÕES	53
5	O USO DOS CORTICÓIDES NA ORTOPEDIA E NA MEDICINA ESPORTIVA .	54
5.1	O EFEITO DO CORTICOIDE NAS LESÕES DA CARTILAGEM ARTICULARES.....	54
5.2	O USO DO CORTICOIDE NAS LESÕES MUSCULARES E LIGAMENTARES	57
5.3	O USO DO CORTICOIDE NAS LESÕES DE TENDÃO	59
6	LEGISLAÇÃO PARA O USO DO PRP	60
7	MATERIAIS E MÉTODOS	62
7.1	DESENHO DE ESTUDO	62
7.2	POPULAÇÃO DE ESTUDO	62
7.2.1	Objeto de estudo – Artigo 1.....	62
7.2.2	Objeto de estudo – Artigo 2.....	62
7.3	ALOCUÇÃO, CÁLCULO AMOSTRAL E RANDOMIZAÇÃO	62
7.4	CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	63
7.4.1	Critérios de inclusão – Artigo 1	63
7.4.2	Critérios de inclusão – Artigo 2	63
7.5	CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	63
7.6	PREPARO DO PRP	64
7.7	INJEÇÃO DO CORTICOIDE	64
7.7.1	Corticoide – Artigo 1	64

7.7.2 Corticoide – Artigo 2	64
7.8 AVALIAÇÃO CLÍNICA	65
7.8.1 Avaliação clínica – Artigo 1	65
7.8.2 Avaliação clínica – Artigo 2	65
7.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA	66
7.10 COMITÊ DE ÉTICA	66
REFERÊNCIAS	67
CAPÍTULO II – ARTIGO 1	68
CAPÍTULO III – ARTIGO 2	84
CAPÍTULO IV – PATENTE	104
RESUMO.....	105
REFERENCIAL TEÓRICO	106
REIVINDICAÇÕES.....	119
FIGURA 1 - ÊMBOLO PRINCIPAL.....	122
FIGURA 2 – HASTE DO ÊMBOLO	122
FIGURA 3 – TAMPA DO ÊMBOLO.....	123
FIGURA 4 – TAMPA-APOIO DA SERINGA.....	123
FIGURA 5 - FOTO DO PROTÓTIPO.....	124
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	125
APÊNDICES/ANEXOS.....	126
ANEXO I	127
ANEXO II	128
ANEXO III	129

LISTA DE SIGLAS E ABREVIações

ACD-A	-	Anticoagulante Citrato Dextrose-A
ADP	-	Adenosina Difosfato
AEMPS	-	Agência Espanhola de Medicamentos e Dispositivos Médicos
ANVISA	-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BMP	-	Proteínas Morfogênicas do Osso
CFM	-	Conselho Federal de Medicina
CFO	-	Conselho Federal de Odontologia
COMP	-	Proteína oligomérica da matriz da cartilagem
CPD	-	Citrato Fosfato Dextrose
cPRP	-	Plasma Rico em Concentrado de Plaquetas Autólogas
CTGR	-	Fator de Crescimento de Tecido Conectivo
EDTA	-	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EGF	-	Fator de Crescimento Epidermal
EGF	-	Fator de Crescimento Epidermal
EUA	-	Estados Unidos da América
FDA	-	Food and Drug Administration
FGF	-	Fator de Crescimento de Fibroblastos
GM-CSF	-	Fator de Estimulador de Colônias de Granulócitos
HA	-	Ácido Hialurônico
HGF	-	Fator de Crescimento Hepático
IGF	-	Fator de Crescimento de Insulina
IL-8	-	Interleucina-8
KGF	-	Fator de Crescimento dos Queratinócitos
LP-PRP	-	Plasma Rico em Plaquetas Pobre em Leucócitos
L-PRF	-	Plasma Rico em Fibrina Rico em Leucócitos
LR-PRP	-	Plasma Rico em Plaquetas Rico em Leucócitos
MEC	-	Matriz Extra Celular
MMP	-	Metaloproteinases
NF-κB	-	Fator Nuclear Kappa Beta

PDEGF	-	Fator de Crescimento Epidermal Derivado de Plaquetas
PDGF	-	Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas
PECAM	-	Molécula de Adesão Celular Endotelial de Plaquetas
P-PRF	-	Plasma Rico em Fibrina Puro
P-PRP	-	Plasma Rico em Plaquetas Puro
PRGF	-	Plasma Rico em Fatores de Crescimento
PRP	-	Plasma Rico em Plaquetas
RCF	-	Força Centrífuga Relativa
SOC	-	Síndrome do Olho Seco
SS	-	Síndrome de Sjögren
TGF- α	-	Fator de Crescimento Transformador – Alfa
TGF- β	-	Fator de Crescimento Transformador – Beta
TIMP	-	Inibidores Teciduais de Metaloproteinases
TNF- α	-	Fator de Necrose Tumoral-Alfa
TXA ₂	-	Tromboxano A ₂
UPD	-	Úlceras do Pé Diabético
VEGF	-	Fator de Crescimento Endotelial Vascular

RESUMO

As doenças osteoarticulares são um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo. Dentre elas, a artrose do joelho e as lesões tendíneas do ombro, são muito frequentes. As injeções intra-articulares de corticoides são utilizadas há muitos anos, no entanto apresenta falta de eficiência clínica duradoura e pode prejudicar a estrutura tecidual da articulação. O uso do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) apresenta resultados promissores dentro da medicina regenerativa articular, embora, no Brasil, ainda seja considerado de uso experimental, devido à falta de padronização do seu processamento. O objetivo deste trabalho foi analisar o efeito do uso do PRP no tratamento da osteoartrite do joelho e da síndrome do impacto do manguito rotador, além de desenvolver um dispositivo novo para produzir PRP. Para tanto, foram realizados dois estudos clínicos randomizados controlados com o seguimento de 180 dias de 50 pacientes em cada um dos ensaios. No primeiro, os pacientes com artrose de joelhos foram divididos em 02 grupos de tratamento (PRP pobre em leucócitos versus triancinolona). No segundo, foi comparado o tratamento da tendinopatia do ombro com PRP e betametasona. Os pacientes com artrose de joelhos tratado com injeção de PRP apresentaram redução média de 41,14 pontos no WOMAC Score e aumento de 32,92 pontos no Knee Society Score (KSS) após 180 dias do tratamento. Os tratados com triancinolona, a redução do WOMAC foi de 16,57 pontos e o aumento do KSS foi de 16,96 pontos ($p < 0,001$). Os pacientes com tendinopatia do ombro submetidos ao tratamento tanto com PRP, quanto com betametasona apresentaram melhoras significativas e semelhantes entre si, durante os 180 dias de observação com as escalas DASH e UCLA. Entretanto, ao avaliar estes pacientes com o Constant Shoulder Score, apenas aqueles tratados com PRP obtiveram melhora significativa (17 pontos) após os 180 dias passados da injeção. Desta forma, ficou demonstrado aqui que o tratamento com PRP da artrose de joelho e da tendinopatia do manguito rotador é eficaz durante os 180 dias iniciais. Além dos dois estudos clínicos, foi apresentada a reinvidicação de patente de um dispositivo para produzir o PRP, cujo custo de produção será inferior ao preço dos outros dispositivos disponíveis no mercado brasileiro.

Palavras-chave: Plasma Rico em Plaquetas, ensaio clínico, sistema músculo esquelético, terapia regenerativa

ABSTRACT

Osteoarticular diseases are one of the biggest public health problems in the world. Among them, knee arthrosis and shoulder tendon injuries are very common. Intra-articular injections of corticosteroids have been used for many years, but they lack lasting clinical efficiency and may impair the tissue structure of the joint. The use of Platelet Rich Plasma (PRP) has promising results within joint regenerative medicine, although, in Brazil, it is still considered experimental use due to the lack of standardization of its processing. This study aimed to analyze the effect of using PRP in the treatment of knee osteoarthritis and rotator cuff impingement syndrome and to develop a new device to produce PRP. To this end, two randomized controlled clinical trials with 180 days follow-up of 50 patients in each trial were performed. In the first, the patients with knee arthrosis were divided into 02 treatment groups (leukocyte-poor PRP versus triamcinolone). In the second, the treatment of shoulder tendinopathy with PRP and betamethasone was compared. Patients with knee arthrosis treated with PRP injection had an average reduction of 41.14 points in the WOMAC Score and an increase of 32.92 points in the Knee Society Score (KSS) after 180 days of treatment. When treated with triamcinolone, WOMAC reduction was 16.57 points, and KSS increase was 16.96 points ($p < 0.001$). Patients with shoulder tendinopathy undergoing treatment with both PRP and betamethasone showed significant and similar improvements during the 180 days of observation with the DASH and UCLA scales. However, when evaluating these patients with the Constant Shoulder Score, only those treated with PRP achieved significant improvement (17 points) after the past 180 days of injection. Thus, it has been shown here that PRP treatment of knee arthrosis and rotator cuff tendinopathy is effective during the initial 180 days. In addition to the two clinical studies, topic was presented for patenting a device to produce PRP, that production cost will be lower than the price of other devices available in the Brazilian market.

Keywords: Platelets-Rich Plasm, Clinical Trial, Musculoskeletal System, Cells-Based Therapy

1 INTRODUÇÃO

As doenças osteoarticulares como artrose do joelho e lesões tendíneas do ombro são um dos maiores problemas de saúde pública em todo o mundo, causando dor e incapacidade física (BENNEL; HUNTER; PATERSON, 2017). O tratamento destas doenças tem como objetivo reduzir as dores e melhorar a amplitude de movimento, restaurando assim, a função articular e a qualidade de vida dos pacientes (GREENBERG, 2014).

Diversas formas de tratamento para as doenças crônico-degenerativas articulares têm sido descritas. A maioria dos casos é tratada de forma não-cirúrgica, com o uso de drogas anti-inflamatórias não-esteroidais (AINEs), fisioterapia e diferentes tipos de injeções, incluindo o mais antigo, corticoideS e os mais recentes, plasma rico em plaquetas (PRP), células-tronco e proloterapia (LIN; WANG; DINES, 2018).

A terapia com injeção de corticoides sempre foi a de escolha e é, amplamente, utilizada na ortopedia e na clínica geral. Tradicionalmente, têm sido o tratamento básico em uma variedade de condições do ombro (KOESTER et al., 2007) e do joelho (COSTA; HARI; JÜNI, 2016). As complicações e a baixa eficácia deste fármaco são reportadas, apesar do seu uso amplo. Existem, também, relatos de rupturas tendíneas após injeções locais únicas de corticosteroides ou após repetidas aplicações (KLEINMAN; GROSS, 1983; NOYES; NUSSBAUM; TORVIK, 1975). Outras complicações não infecciosas também são relatadas, incluindo atrofia de nervos e pele, calcificação distrófica ao redor da capsula articular e hipopigmentação da pele próximo ao local da infiltração, inibição do eixo hipotálamo hipofisário por uma a duas semanas após a aplicação, e aumento da glicemia no sangue periférico, que ocorre nos primeiros quatro dias da aplicação (ROBERT JR., 2017). Outro aspecto questionável do uso do corticoide é a duração do seu efeito, que diminui com o passar do tempo e não dura mais que 6 meses na maioria das vezes (COSTA; HARI; JÜNI, 2016). Por isso há necessidade de se desenvolver tratamentos alternativos ao clássico corticoide.

O PRP é definido como um plasma com concentrações maiores de plaquetas em relação ao sangue total (FITZPATRICK et al., 2017). Ele contém substâncias bioativas, que agindo de forma sinérgica entre si, são capazes de acelerar o processo de regeneração tecidual (ARAKI et al., 2012). Tornou-se uma opção de tratamento

para as lesões osteomusculares e seu uso é amplamente difundido em países da Europa e EUA. Os resultados clínicos apresentados têm sido melhores que outras terapias injetáveis no tratamento de artrose do joelho (SHEN et al., 2017) e das tendinopatias do ombro. Ao comparar com o uso de corticoides, o PRP tem mostrado resultados mais positivos, podendo ser considerado como uma boa alternativa para o tratamento de doenças osteoarticulares, especialmente em pacientes com contraindicação à administração dos esteroides.

Nos EUA, o uso terapêutico do PRP em humanos está autorizado pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (BEITZEL et al., 2014). Na Europa, a *Agencia Española De Medicamentos Y Productos Sanitarios* (AEMPS) (ESPANHA, 2013), classifica o PRP como um produto biológico autólogo para uso em humanos. Diferentes destas regiões, no Brasil, o uso não-transfusional do PRP, como produto de terapia avançada para agravos da saúde, ainda não está regulamentado. O Conselho Federal de Medicina (CFM), na sua Resolução 2.128/2015, considera o PRP como procedimento experimental, só podendo ser utilizado em experimentação clínica dentro dos protocolos do sistema CEP/CONEP. Baseada nessa Resolução, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) por meio da Nota Técnica 12/2015, ratificou o uso experimental do PRP por considera-lo um produto sem utilidade terapêutica comprovada e que necessita de mais evidência científica para seu uso clínico.

Outro fator limitador da regulamentação do uso do PRP no Brasil é a falta de padronização e controle de qualidade do processamento do sangue para este fim. Os sistemas fechados de obtenção do PRP ajudam a mitigar esta limitação, no entanto eles são todos importados e de custos elevados (AKHUNDOV et al., 2012; BOSWELL et al., 2012).

Com o objetivo de contribuir para uma ampla utilização do PRP no sistema de saúde brasileiro, são apresentados aqui ensaios clínicos mostrando sua eficiência no tratamento de doenças osteoarticulares, além de um protótipo de sistema fechado de produção do PRP, o qual poderia ser industrializado no Brasil a um custo mais reduzido.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Analisar o efeito do uso do PRP pobre em leucócitos no tratamento das doenças osteoarticulares e apresentar um protótipo de um novo dispositivo para obtenção de PRP

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar a eficácia do uso de plasma rico em plaquetas na osteoartrite de joelhos.
- Estudar a efetividade do PRP no tratamento da síndrome do manguito rotador.
- Desenvolver dispositivo para produzir o PRP.

CAPÍTULO I - REVISÃO DA LITERATURA

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Definição de plasma rico em plaquetas

O termo Plasma Rico em Plaquetas (PRP) refere-se a uma suspensão de plasma que contém uma concentração de plaquetas de três a cinco vezes maior que o sangue total, segundo Gonshor (2002). Porém, FIORAVANTI et al. (2015) sugeriram outra definição, o PRP é a porção do plasma autólogo que possui concentração de plaquetas maior que oito vezes o valor basal (150.000-400.000/ μ L).

Segundo o FDA, no seu Código de Regulação Federal Parte 21, o PRP define-se como um produto preparado a partir da centrifugação do sangue autólogo, coletado por punção venosa única e ininterrupta, obtendo-se uma concentração mínima de 250.000 plaquetas por microlitro (U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2018).

O que se observa na literatura mundial é uma falta de homogeneidade, entre os diversos autores, quanto ao uso do termo PRP e quanto a própria definição de PRP. Essa falta de padronização dificulta a comparação de resultados entre diversos estudos de obtenção do PRP e a eficácia clínica do produto.

3.2 Tipos de PRP

Devido à grande variabilidade do conceito envolvendo a terminologia do PRP, alguns autores (DELONG; RUSSELL; MAZZOCCA, 2012; DOHAN EHRENFEST; RASMUSSEN; ALBREKTSSON, 2009) identificaram características comuns às diversas técnicas de PRP disponíveis e conseguiram classificar os diferentes tipos de PRP descritos.

Ehrenfest et al. (2009), classificaram os diferentes tipos de concentrados plaquetários em quatro categorias, dependendo do seu conteúdo celular e da arquitetura da fibrina. Usando um conjunto de parâmetros, identificaram e classificaram quatro tipos principais de PRP: PRP puro (P-PRP), PRP rico em leucócitos (LR-PRP), PRF puro (P-PRF) e, finalmente, PRF rico em leucócitos (L-PRF) (Quadro 1). O PRGF (sigla em inglês para plasma rico em fatores de crescimento ou preparação rica em fatores de crescimento), um dos primeiros protocolos de concentrado de plaquetas foi descrito em 1999 por Anitua (1999) é, na verdade, uma

variação do P-PRP, que devido ao método manual de preparo, pode-se encontrar pequenas quantidades de leucócitos juntos com as plaquetas. Outro tipo de variação do P-PRP é o cPRP (plasma rico em concentrado de plaquetas autólogas), descrito por DUGRILLON et al. (2002) que utilizaram sistemas automatizados para atingir níveis elevados de concentração de plaquetas ($3,9 \times 10^6$ plaquetas / μL).

QUADRO 1 – LISTA DAS PRINCIPAIS VARIAÇÕES DE PRP

SIGLA	PLAQUETAS	LEUCÓCITOS	FIBRINA
LP-PRP	Rico	Pobre	Inativa
LR-PRP	Rico	Rico	Inativa
P-PRP	Rico	Pobre	Inativa
PPP	Pobre	Pobre	Inativa
L-PRF	Pobre	Rico	Ativada
P-PRF	Pobre	Pobre	Ativada

Rico – concentração maior que a basal do sangue periférico;

Pobre – concentração menor que a basal

Fonte: próprio autor

Ao fazer um levantamento na literatura sobre os diversos tipos de concentrados de plaquetas, percebe-se uma grande confusão terminológica. Isso ocorre, principalmente, porque nas publicações mais iniciais sobre as aplicações clínicas do PRP, diferentes termos foram usados para o mesmo produto, da mesma forma que diferentes produtos eram descritos sob a mesma nomenclatura (GAUDRIC et al., 1995; WHITMAN; BERRY; GREEN, 1997). Com a evolução conhecimento nesta área, os autores começaram a identificar parâmetros, como exemplo, concentração de plaquetas, níveis de concentração de leucócitos e tipo de ativação, que permitiam diferenciar um determinado tipo de preparado de plaquetas de um outro. A partir de então, passaram a analisar o efeito desses diferentes parâmetros nos resultados dos seus estudos (CROSS et al., 2015; ZHOU et al., 2015).

Em 2012, DeLong et al. (DELONG; RUSSELL; MAZZOCCA, 2012), conseguiram juntar os diferentes tipos de PRP, descritos na literatura, dentro de uma mesma classificação. Esta foi denominada de Sistema de Classificação PAW (P = quantidade de plaquetas; A = ativação das plaquetas; W = *White Blood Cells*). Este sistema classificação conseguiu simplificar a complexa tipologia do PRP valorizando mais o conteúdo celular do preparado e menos a metodologia de obtenção do produto.

3.3 Sistema de Classificação PAW

Este é um sistema alfanumérico baseado em toda a informação sobre os diferentes tipos de preparados de plaquetas publicados antes de 2012 e os classifica conforme 3 componentes: 1 – número absoluto de plaquetas; 2 – maneira que as plaquetas são ativadas; 3 – presença ou ausência de leucócitos. Cada componente deste compõe uma parte do código final que o PRP recebe ao ser classificado.

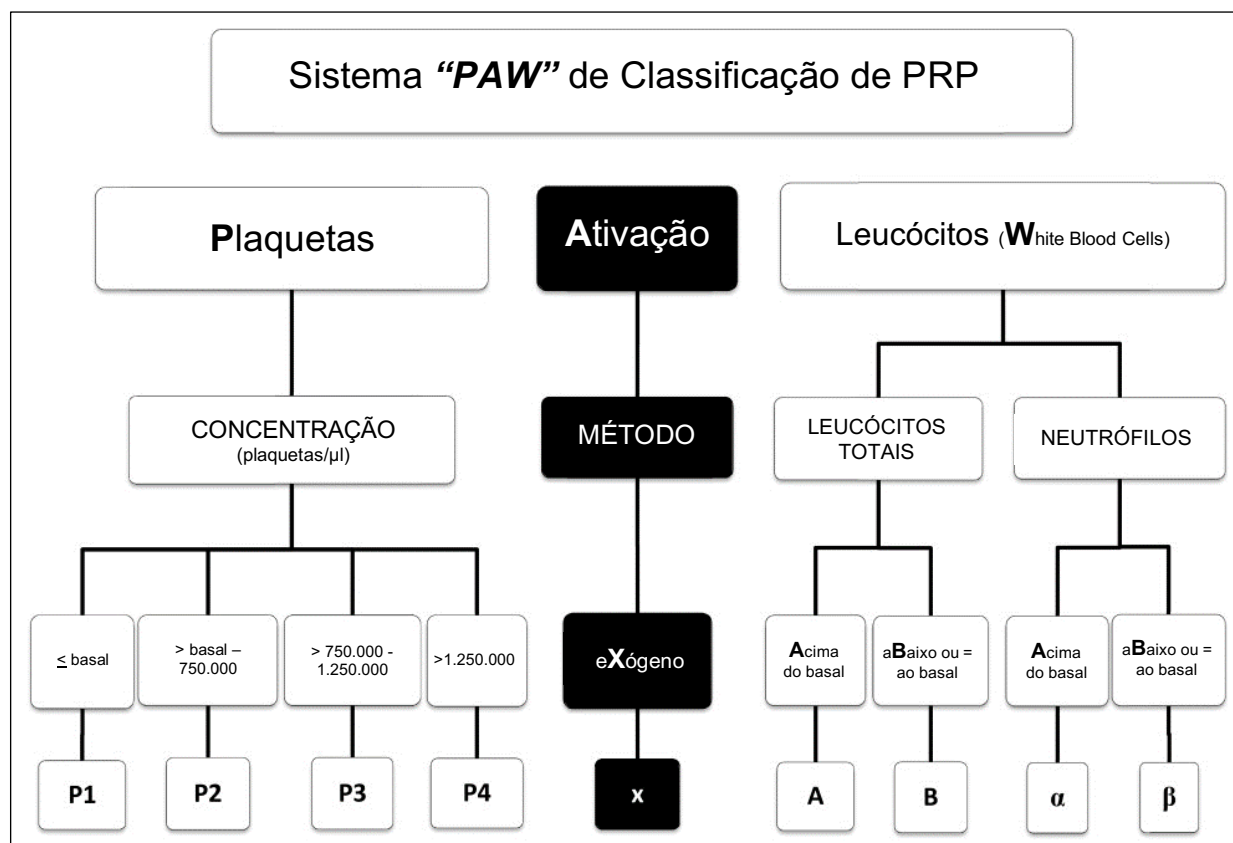
Na primeira parte a concentração de plaquetas deve ser medida em plaquetas por microlitro, comparada com o nível basal de plaquetas no sangue periférico colhido e categorizada de P1 a P4, sendo P1, menor ou igual aos níveis da linha de base; P2, superior aos níveis basais até 750.000 plaquetas / μL ; P3, maior que 750.000 a 1.250.000 plaquetas / μL ; e P4, superior a 1.250.000 plaquetas / μL . Quando os autores não descrevem a concentração de plaquetas em seus estudos, aqui recebem a codificação NA (não se aplica).

Na segunda parte, o tipo de ativação plaquetária é avaliada e, quando ocorre ativação exógena (com formação rápida de coágulo), o PRP recebe uma codificação “X”, quando a ativação é endógena (sem adição de fatores de coagulação externos), o PRP não recebe codificação nesta parte.

Na terceira parte é identificada a quantidade de leucócitos e de neutrófilos, sendo designado um “A” quando a quantidade de leucócitos está “Acima” dos níveis basais e / ou quando há formação da camada leuco-plaquetária (“*buffy-coat*”) durante o processo de produção do PRP. Quando a quantidade de leucócito está “aBaixo” dos basais e / ou quando se utiliza sistemas por aférese, o PRP é designado com um “B”. Segundo esta mesma linha de categorização, a preparação de PRP recebe a designação “ α ” ou “ β ” se a quantidade de neutrófilos está acima ou abaixo do basal, respectivamente.

Desta forma, por exemplo, uma preparação de PRP consistindo de 900.000 plaquetas / μL , com uma quantidade total de leucócitos e neutrófilos acima dos níveis de base e sem ativação exógena das plaquetas, será classificada como P3-A α (DELONG; RUSSELL; MAZZOCCA, 2012).

FIGURA 1 – SISTEMA “PAW” DE CLASSIFICAÇÃO DE PRP



FONTE: adaptado de DELONG et al. (2012)

O sistema de classificação que melhora a capacidade de padronizar a terminologia processual e a composição do PRP, é a classificação MARSPILL (LANA et al., 2017), onde as letras no nome designam a referência aos processos de preparação (por exemplo, M= manual ou processado de forma automatizada). O Quadro 2 apresenta uma visão geral do sistema de classificação MARSPILL e é incluído como um meio de permitir que o leitor reconheça a variação potencial na preparação e procedimentos do PRP (KOLBER et al., 2018).

QUADRO 2 - CLASSIFICAÇÃO MARSPILL

Letra	Relacionada	Tipo
M	Método	Manual (H) Automatizada (M)
A	Ativação	Ativada (A+) Não ativada (A-)
R	Hemácias (<i>Red blood cells</i>)	Rico (RBC-R) Pobre (RBC-P)
S	Centrifugação (<i>Spin</i>)	Uma centrifugação (Sp1) Duas centrifugações (Sp2)
P	Plaquetas (vezes o basal)	PL 2-3x PL 4-6x PL 6-8x PL 8-10x
I	Imagem (guiada por imagem)	Guiada (G+) Não guiada (G-)
L	Leucócitos (concentração)	Rico (Lc-R) Pobre (Lc-P)
L	Luz (ativação)	Ativada (A+) Não ativada (A-)

FONTE: adaptada de BOSWELL (2012)

3.4 Componentes bioquímicos e bioativos do PRP

A terapia com PRP tem acumulado considerável atenção nas duas últimas décadas, principalmente devido à sua capacidade potencial em medicina regenerativa (PIERCE et al., 1991), incluindo cirurgia buco-maxilo-facial (STÄHLI; STRAUSS; GRUBER, 2018), medicina esportiva (CHARLES; CHRISTIAN; COLE, 2018) e medicina veterinária (TAMBELLA et al., 2018).

O número de substâncias bioquímicas ativas e de componentes presentes nos diversos tipos de PRP é enorme e com funções muito variadas. Resumidamente no Quadro 3 e selecionadas por critério de relevância para medicina regenerativa, pode-se separar 03 grandes componentes do PRP, cada um com suas substâncias bioativas. Os componentes principais seriam as plaquetas, o plasma e os leucócitos.

QUADRO 3 - RESUMO DOS COMPONENTES CELULAR E MOLECULAR DO PRP
RELEVANTES PARA O TECIDO MUSCULOESQUELÉTICO

Componente	
Plasma	
Proteínas	Albumina, globulinas, fibrinogênio, complemento e fatores de coagulação
Eletrólitos	Cloreto, sódio, potássio e cálcio
Hormônios	IGF-1, estrógenos, progesterona, andrógenos, ACTH e HGH
Biomarcadores	COMP, CD11b, proteína C, microRNA, osteocalcina e osteonectina
Plaquetas	
Grânulos alfa	Proteínas adesivas, fatores de coagulação, PDGF, TGF- β , VEGF, FGF, EGF e HGF
Corpos densos	Cálcio e neurotransmissores
Lisossomas	Enzimas lisossomais
Leucócitos	
Neutrófilos	
Grânulos primários	Mieloperoxidase, hidrolases ácidas, defensinas e serina proteases
Grânulos secundários	Colagenase, lactoferrina, catelicidina, fagocitinas bactericida e lisozima
Grânulos terciários	Gelatinase e proteases
Monócitos	Fator Ativador de Plaquetas, TGF- β , VEGF, FGF e EGF
Eritrócitos	ATP, S-nitrosotióis, óxido nítrico, sulfeto de hidrogênio, hemoglobina, e radicais livres

FONTE: adaptado de BOSWELL et al. (2012).

3.4.1 Plaquetas

As plaquetas são fragmentos de megacariócitos em forma discoide, anucleadas, que desempenham uma função crítica na hemostasia e em outros aspectos da defesa do hospedeiro. Estes, são os principais componentes do PRP. Contêm mais de 1100 proteínas diferentes, com numerosas modificações pós-translacionais, resultando em mais de 1500 fatores bioativos baseados em proteínas (GASPARRO et al., 2018). Esses fatores incluem mensageiros do sistema imunológico (ALI; WUESCHER; WORTH, 2015; MOOJEN et al., 2008), fatores de crescimento, enzimas e seus inibidores e outros fatores que podem participar na reparação de tecidos e na cicatrização de feridas (CHICHARRO-ALCÁNTARA et al., 2018).

Tanto moléculas endógenas como exógenas podem ativá-las, podendo participar deste processo o colágeno, fator ativador de plaquetas, serotonina, cálcio, magnésio, tromboxano A₂ (TXA₂), adenosina difosfato (ADP) e trombina (FITZPATRICK et al., 2017).

As plaquetas estão repletas de grânulos de secreção, que são fundamentais para a função plaquetária de reparação e cicatrização tecidual. Três tipos de grânulos de secreção de plaquetas - grânulos alfa, grânulos densos e lisossomos estão presentes no interior citoplasmático das plaquetas, contendo várias proteínas e substâncias bioativas (BOSWELL et al., 2012).

Os grânulos alfa são os mais abundantes e contêm moléculas bioativas como proteínas adesivas (fibrinogênio e fator von Willebrand), fatores de coagulação (V, XI, XIII e protrombina), fatores fibrinolíticos (antitrombina, plasmina e plasminogênio), integrinas (α 2b, α 6, β 3), molécula de adesão celular endotelial de plaquetas (PECAM) e os fatores de crescimento (PDGF, TGF-1, VEGF, bFGF, HGF e EGF) (BLAIR; FLAUMENHAFT, 2009). Existe uma variação individual na concentração de fatores de crescimento liberados de grânulos, mas o número de plaquetas no PRP está positivamente correlacionado com a concentração destes fatores (ANITUA et al., 2009). O PDGF é essencial para a proliferação celular, quimiotaxia, diferenciação celular e angiogênese (SCHMIDT; CHEN; LYNCH, 2006). O aumento da proliferação celular é uma das formas do PRP promover a cicatrização de tecidos. Chung *et al.* (2009) comprovaram que o bloqueio de PDGF-BB em um modelo animal de dano na placa de crescimento de roedores resultou na redução da quimiotaxia de células mesenquimais, prejudicando as respostas condrogênicas, osteogênicas e reparadoras teciduais.

Os grânulos densos (delta) contêm principalmente moléculas que estimulam o processo de coagulação, incluindo o cálcio, ADP, ATP, serotonina e histamina (MEHTA; TUCCI; BENGHUZZI, 2012). Os detalhes ainda não estão totalmente elucidados, mas sabe-se que a serotonina participa nos mecanismos de regulatórios da massa óssea e que níveis elevados deste hormônio ou neurotransmissor e pode regular negativamente a densidade mineral óssea e aumentar o risco de fraturas osteoporóticas do quadril e não-vertebrais. Além disso, sabe-se que existe uma via de sinalização celular purinérgica, por meio de receptores P1 de ADP que regulam negativamente do metabolismo da cartilagem (KRISTJANSDDOTTIR et al., 2018).

Os lisossomos (grânulos lambda) são os terceiros grânulos liberados pela ativação das plaquetas. Contém enzimas necessárias no processo de degradação de proteínas (proteases), lipídios (lipases) e carboidratos (glicosidases), mas também, estão envolvidos na remoção dos detritos do tecido danificado, na remoção dos agentes infecciosos e no próprio processo de coagulação (MENG et al., 2015).

3.4.2 Plasma

O plasma é definido como o componente líquido do sangue de cor amarela em que as células do sangue estão suspensas. O plasma funciona não só como veículo do PRP, mas também como parte ativa, pois na sua composição encontram-se proteínas, eletrólitos, hormônios e outras substâncias que participam no mecanismo de ação do PRP como moléculas de sinalização e de ativação de plaquetas (ALVES; GRIMALT, 2018).

3.4.2.1 Proteínas

Aproximadamente 200 proteínas foram documentadas no plasma, incluindo albumina, imunoglobulinas, complemento e fatores de coagulação. No entanto, como o plasma transitoriamente contém muitas proteínas liberadas das células e de processos metabólicos por todo o corpo, a presença de até 679 proteínas foi documentada (SCHENK et al., 2008).

As proteínas plasmáticas envolvidas na hemostasia também interferem na cicatrização tecidual. Depois que o tampão de plaquetas ativadas fornece hemostasia primária no local da lesão, as moléculas de adesão celular como fibronectina, fibrina e vitronectina se movem do plasma para o coágulo, durante a sua maturação. *In vitro*, essas proteínas demonstraram induzir a quimiotaxia de células-tronco multipotentes através de uma membrana micro-porosa padrão. Isso implica que essas moléculas podem modular a migração celular de fibroblastos, osteoblastos ou outras células regeneradoras no reparo dos tecidos (THIBAUT; HOEMANN; BUSCHMANN, 2007).

3.4.2.2 Eletrólitos

Os eletrólitos presentes no plasma são rigidamente regulados por meio da adenosina trifosfatases transmembrana para otimizar a função celular e tecidual. Cloreto (intervalo de referência, 340 a 370 mg / dL), sódio (31 a 35 mg / dL), potássio (14 a 20 mg / dL) e cálcio total (8,5 a 10,2 mg / dL) são os 4 eletrólitos que são mais abundantes (BOSWELL et al., 2012).

Cerca de metade do cálcio circulante é ligado pela albumina e o cálcio ionizado pode ser medido independentemente (4,1 a 4,8 mg / dL). Além de funcionar como um ativador plaquetário, os reservatórios intracelulares mantêm a homeostase do cálcio. É um importante mensageiro secundário nas células e é cofator de várias reações extracelulares. Está bem estabelecido que dentro da cascata da coagulação, o cálcio plasmático é um co-fator para a formação dos complexos tenase (fator X) e protrombinase. Em relação à reparação tecidual, a sinalização intracelular do cálcio é necessária para a atividade contrátil dos miofibroblastos *in vitro* (FOLLONIER CASTELLA et al., 2010).

3.4.2.3 Hormônios

Hormônios como tiroxina, estradiol, hormônio adrenocorticotrófico, andrógenos, estrógenos, progesterona e hormônio de crescimento humano circulam no plasma (ASHCROFT et al., 1997).

Talvez o hormônio mais relevante para o músculo-esquelético encontrado no plasma seja o IGF-1. O IGF-1 mostrou melhorar a cicatrização em modelos de tendão e cartilagem eqüinos (EMMERSON et al., 2012). A influência de outros hormônios presentes no PRP sobre as plaquetas ou o metabolismo musculoesquelético não é totalmente conhecido. Em geral, os glicocorticóides fornecem proteção aos tecidos diminuindo a produção ou atividade de mediadores inflamatórios. A síntese intracelular do fator de crescimento epidérmico é estimulada pela testosterona e inibida pelos estrogênios. A agregação plaquetária induzida experimentalmente e a liberação de TXA2 são reduzidas pelo PRP com um nível fisiológico de diidrotestosterona.

Os estrogênios isoladamente não parecem afetar a agregação plaquetária no PRP; entretanto, alguns estrógenos com ADP ou adrenalina aumentam

sinergicamente a agregação plaquetária (FARRÉ; MODREGO; ZAMORANO-LEÓN, 2013).

3.4.3 Leucócitos

Os leucócitos são classificados como granulócitos (neutrófilos, eosinófilos e basófilos) ou células mononucleares (linfócitos e monócitos ou macrófagos). As células fagocíticas, como macrófagos, são essenciais para o processo de cicatrização *in vivo*. Seu principal papel é fagocitar detritos, micróbios e tecido necrótico para limpar a ferida e prevenir a infecção. Depois de completar estas funções durante a fase inflamatória inicial da cicatrização, os neutrófilos morrem por apoptose. Os monócitos são o segundo tipo de leucócitos recrutados para o local da ferida, onde eles amadurecem para se tornarem macrófagos. Os macrófagos fagocitam os neutrófilos mortos e desbridam ainda mais a ferida. O desbridamento da ferida é crítico para a cicatrização normal da ferida. Juntamente com os neutrófilos e plaquetas, os macrófagos também previnem infecções ao eliminar micro-organismos (DAVIS et al., 2014).

A presença de leucócitos pode resultar em sinalização celular pró-inflamatória e catabolismo tecidual local. Os efeitos terapêuticos do PRP na regeneração da cartilagem podem ser aumentados pela remoção de leucócitos para evitar a via de ativação celular do NF- κ B. Assim, o PRP sem leucócitos concentrados pode ser mais adequado para o tratamento de lesões da cartilagem articular (XU et al., 2017). Os leucócitos podem ter uma correlação negativa com a síntese da matriz e uma correlação positiva com o catabolismo da matriz nos tendões. Portanto, uma maior concentração de leucócitos é provavelmente indesejável para aplicações musculoesqueléticas associadas à cicatrização de tendões, mas pode ser mais relevante para outros usos, como a cicatrização de lesões dérmicas grandes e infectadas (CROSS et al., 2015; MALAVOLTA et al., 2014a).

Da mesma forma que as plaquetas, os macrófagos e os outros leucócitos secretam muitos fatores de crescimento importantes na cicatrização, incluindo TGF- β 1, PDGF, fator de crescimento endotelial vascular, fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), fator de crescimento epidérmico, TGF- α e fator básico de crescimento de fibroblastos (bFGF) (GANAPATHY et al., 2012). Um estudo comparou os níveis de PDGF-AB, PDGF-BB e TGF- β 1, VEGF em amostras de PRP que eram ricas em

leucócitos ou pobres em leucócitos. A presença de leucócitos resultou em níveis absolutos médios significativamente mais elevados de PDGF-AB e PDGF-BB em comparação com PRP pobre em leucócitos. Para o TGF- β 1, concentrações mais altas foram detectadas para o leucócito contendo PRP quando seus níveis estavam relacionados à concentração de plaquetas (KOBAYASHI et al., 2016). As concentrações de plaquetas ou monócitos possuem correlação com os níveis de fator de crescimento. Estes dados sugerem que o PRP rico em leucócitos poderia aumentar a disponibilidade do fator de crescimento para tecidos lesionados em comparação com os métodos pobres em leucócitos.

Além dos fatores de crescimento, os leucócitos liberam muitas proteinases, como serino-proteases e metaloproteinases (MMP), que tem papel fundamental na cicatrização de feridas. As serino-proteases tem múltiplos papéis, incluindo ativação de plaquetas e linfócitos, atividades antimicrobianas, ativação e inativação de citocinas, e formação do tampão fibrina-plaqueta. As proteinases leucocitárias contribuem para a migração dos leucócitos polimorfonucleares e modulam as respostas inflamatórias. As proteinases controlam a resposta inflamatória desativando as células inflamatórias para limitar a lesão dos tecidos circundantes durante a cicatrização de feridas (CALEY; MARTINS; O'TOOLE, 2015). Outro papel importante das proteinases derivadas de leucócitos é degradar a matriz provisória (fibrina-coágulo de plaquetas) e remodelar a matriz extracelular na cicatrização normal. A degradação e remodelação da matriz por proteases, especialmente MMPs, é importante para muitos processos na cicatrização de feridas, como migração de leucócitos, angiogênese, reepitelização e remodelação tecidual (DEMIDOVA-RICE; HAMBLIN; HERMAN, 2012). Um papel crucial das proteinases é controlar a atividade dos fatores de crescimento, como TGF- β , PDGF e bFGF. O TGF- β é liberado em uma forma inativa (latente) e as proteinases o convertem em sua forma ativa. Além disso, o TGF- β e o bFGF são armazenados ligados à matriz extracelular, e a degradação da matriz libera esses fatores de crescimento para que possam agir sobre os tecidos lesionados (BRANDL et al., 2010).

Como o PRP contém todos os componentes do sangue total, a presença dos leucócitos no local da ferida, induz a fagocitose de detritos, tecido necrótico e micro-organismos. Geralmente, as propriedades funcionais do PRP baseiam-se principalmente na síntese e secreção desses múltiplos fatores que são liberados após a ativação plaquetária (PAVLOVIC et al., 2016).

3.5 O processo natural de cicatrização em lesões dos tecidos moles

As lesões agudas relacionadas ao esporte surgem a partir de um evento traumático único (macro-trauma), como contusão muscular ou entorse / lesão do ligamento. As lesões crônicas dos tecidos moles, geralmente, resultam do estresse mecânico repetitivo (micro-trauma) ou uso excessivo, seguido por inflamação e levam tempo para se desenvolver, como no caso de tendinopatias (por exemplo, tendinopatia do manguito rotador e tendinopatia de Aquiles). Independentemente do tipo de lesão, o processo de cicatrização de feridas é compartilhado entre todos os tecidos moles, com diferenças no tempo, duração das fases e interações entre os principais mediadores (MIDDLETON et al., 2012; ROBSON; STEED; FRANZ, 2001).

Por outro lado, a cartilagem articular é desprovida de vasos sanguíneos, vasos linfáticos e nervos e está sujeita a um ambiente biomecânico difícil e complexo. Além disso, a cartilagem articular tem uma capacidade limitada de cicatrização e reparação intrínseca. Por isso, a preservação e a saúde da cartilagem articular são primordiais para a saúde das articulações (SOPHIA FOX; BEDI; RODEO, 2009).

A cascata de cicatrização geral envolve quatro fases sobrepostas: (1) hemostasia; (2) inflamação; (3) proliferação celular e de matriz, que começa dentro de dias após a lesão e compreende a fase mais importante; e (4) remodelação da ferida, a fase mais longa, que pode envolver a formação de tecido cicatricial (HARDY, 1989)

A cascata de cicatrização começa imediatamente após a lesão tecidual ao disparar uma outra cascata, a da coagulação e hemostasia. Com o extravasamento sanguíneo, ocorre a migração de fatores hemostáticos e mediadores inflamatórios para dentro da lesão. Em seguida, começa o sistema agregação plaquetária, formação de coágulos e desenvolvimento de uma construção de matriz extracelular provisória. As plaquetas aderem às proteínas da matriz extracelular circulante e são ativadas. Isto desencadeia a liberação dos fatores bioativos dos grânulos alfa que incluem os diversos fatores de crescimento, citocinas e mediadores pró-inflamatórios (BERGMEIER; HYNES, 2012).

A fase seguinte à hemostasia é a inflamatória. Nesta fase os agentes quimiotáticos desempenham papel fundamental atraindo diferentes tipos de células para dentro do ferimento. Os neutrófilos são os primeiros a participar do processo inflamatório e aparecem na lesão já nas primeiras 1-2 horas após o ferimento,

denominada fase da fase inicial da inflação. Mais tarde (cerca de 48 a 72 horas após a lesão), os macrófagos aparecem na ferida e desempenham o papel principal no desbridamento da ferida e na regulação da inflamação. Eles também estão envolvidos no recrutamento de fibroblastos e células endoteliais. As últimas células a migrarem para a ferida, durante a fase inflamatória tardia, são os linfócitos (BIGLARI et al., 2018).

Na fase proliferativa, a atividade celular se destaca em resposta ao aumento dos níveis de citocinas como o EGF, VEGF e TGF- β . A reepitelização começa como os queratinócitos e as células-tronco epiteliais proliferam e migram sobre uma substância provisória rica em fibrina / fibronectina ECM (MARTIN, 1997). À medida que a inflamação diminui, a reconstituição dérmica se inicia e as células endoteliais e os fibroblastos começam a se acumular no local da ferida para sintetizar o tecido de granulação. Angiogênese e fibroplasia ocorrem simultaneamente, fornecendo oxigênio, nutrientes e uma matriz muito hidratada sustenta os altos níveis de atividade celular. Os fibroblastos desempenham um papel importante na produção das substâncias desta matriz (colágeno, fibronectina, glicosaminoglicanos, proteoglicanos e hialurônico ácido), que interagem com as células para mediar migração, crescimento e diferenciação (BARKER, 2011; HUARD et al., 2016; ZHAO et al., 2016).

A fase final do processo de cicatrização envolve a maturação e remodelação da ferida. Nessa fase, fatores de crescimento como o FGF e o TGF- β estimulam a proliferação e a migração de fibroblastos, além de estimular a síntese de componentes da matriz extracelular pelos fibroblastos (RODRIGUES et al., 2019). A remodelação ocorre quando os fibroblastos aumentam a expressão do colágeno tipo I e as MMPs quebram as cadeias desorganizadas do colágeno antigo, principalmente do tipo III (ROHANI; PARKS, 2015). Um delicado equilíbrio controlado entre a síntese e a degradação do colágeno resulta no desenvolvimento de uma cicatriz normal, onde as fibras de colágeno são rearranjadas em pequenos feixes paralelos ao longo das linhas de tensão, mais uma vez predominantemente do fenótipo tipo I. O fim da cicatrização é sinalizado pela apoptose de células vasculares e miofibroblastos à medida que seu trabalho é completado, convertendo o tecido de granulação rico em células, em tecido cicatricial preenchido por colágeno e hipocelular (DESMOULIÈRE et al., 1995).

A fase de maturação varia em duração, dependendo da extensão da ferida, das características individuais e das capacidades específicas de cicatrização do tecido envolvido. Além disso, fatores fisiopatológicos e metabólicos podem afetar a

cicatrização de feridas, incluindo as causas locais, como isquemia, hipóxia tecidual, infecção e desequilíbrio de fator de crescimento, bem como causas sistêmicas, como doenças metabólicas e estado nutricional. A disbiose e a síndrome metabólica conduzem a um desbalanço de macrófagos M1 e M2, resultando na invasão de fatores pró-inflamatórios. Em tais ambientes desfavoráveis, o PRP tem se mostrado um adjuvante terapêutico viável para lesões de tecidos moles (SAAD SETTA et al., 2011), funciona como se o PRP “preparasse o solo” para aumentar a vitalidade dos condrócitos e da própria cartilagem.

3.6 Mecanismo de ação do PRP

Quando o PRP é injetado no sítio da lesão, as plaquetas são ativadas pela trombina endógena e/ou colágeno intra-articular (HARRISON et al., 2011). Uma vez ativadas, ocorre a secreção de fatores de crescimento por meio da degranulação dos grânulos- α . Dentre as substâncias secretadas, incluem-se: fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), antagonista do receptor da interleucina-1 (IL-1RA), receptores solúveis do fator de necrose tumoral (TNF-RI), fator de crescimento transformador β (TGF- β), fator plaquetário 4 (PF4), fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), fator de crescimento epidermal (EGF), fator de crescimento semelhante a insulina (IGF), osteocalcina (Oc), osteonectina (On), fibrinogênio, vitronectina, fibronectina e trombospondina-1 (TSP-1). Vários desses mediadores atuam como agentes anticatabólicos e anti-inflamatórios (KNOP; PAULA; FULLER, 2016). Estas moléculas bioativas presentes no PRP promovem 4 ações principais no ambiente local da administração: proliferação, migração e diferenciação celular e angiogênese (KIM et al., 2011).

A presença dessas substâncias bioativas presentes no PRP o torna um fator relevante no tratamento regenerativo diferentes tecidos e por meio de diversas vias biológicas: 1- ativação das vias de sinalização extracelular reguladas pelas glicogênio quinases e pelas reguladas pelas proteíno-quinases B, resultando aumento da proliferação e diferenciação celular no tratamento de alopecia, por exemplo (GUPTA; CARVIEL, 2016); 2- aumento da concentração de IL-1 β e TNF α no ferimento, atraem maior migração de macrófagos, fibroblastos e aumentam a produção de fibras de colágeno contribuindo para um melhor e mais rápido processo de cicatrização de ferida pós-operatória (MENCHISHEVA; MIRZAKULOVA; YUI, 2018); 3- a presença

aumentada de IGF-1, FGF-2, TGF β -1 e PDGF aumentam a proliferação e diferenciação de mioblastos, aumentam o diâmetro e o número das fibras musculares, além de reduzir a formação de fibrose dentro das lesões musculares (BORRIONE et al., 2018); 4- o PRP promove aumento da proliferação celular muscular proporcional ao aumento da expressão de proteínas relacionadas aos genes do ciclo celular (ciclina A2, ciclina B1, cdk1 e cdk2) (TSAI et al., 2017); 5- o PRP aumenta a migração, proliferação e diferenciação de tenócitos por meio do aumento da expressão genética do VEGF e esclerase (ativador transcricional que regula a expressão de tenomodulina, um marcador de maturação de tenócitos) (SHUKUNAMI et al., 2018), sugerindo que o tratamento com PRP pode aumentar as propriedades regenerativas dos tendões (IMAI et al., 2018); 6- outros mediadores presentes no PRP conseguem modular o metabolismo dos condrócitos, isso ocorre por meio da diminuição da apoptose e inflamação no ambiente intra-articular. O antagonista do receptor da IL-1 inibe a ativação do gene do NF κ B, citocina envolvida no processo de apoptose e inflamação (AHMAD et al., 2012); os receptores solúveis do fator de necrose tumoral ligam-se ao TNF- α e impedem a sua interação com os receptores celulares e sua sinalização pró-inflamatória; o TGF- β 1 também atua como um fator inibidor da degradação da cartilagem, regula e aumenta a expressão dos genes dos inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMP-1) (ALAMEDDINE; MORGAN, 2016); e, fatores de crescimento plaquetários estimulam fibroblastos sinoviais a sintetizar ácido hialurônico (ANITUA et al., 2007), desta forma boa parte da fisiopatologia da artrose pode ser alterada com a presença das substâncias bioativas do PRP.

3.7 Métodos de obtenção e preparação do PRP

O PRP é um produto de sangue autólogo (sangue do próprio paciente), processado para concentrar os constituintes celulares, que são injetadas de volta no paciente no local da lesão ou da patologia. O procedimento para uma injeção de PRP variará de acordo com a instalação, pois numerosas técnicas de preparação e kits comerciais disponíveis podem ser usados. Até o momento, não há consenso sobre o melhor método para preparar um PRP. As idiossincrasias do interprete no volume de sangue adquirido, concentração de plaquetas, presença de leucócitos e eritrócitos, uso de kit de preparação versus manuseio manual, etapas de centrifugação, métodos

de ativação, número e tempo de injeções, e cuidados peri e pós-procedimento proporcionam grandes variações em formulações e resultados.

3.7.1 Princípios da preparação do PRP

O PRP é preparado por um processo conhecido como centrifugação diferencial. Neste processo a aceleração é ajustada para sedimentar certos constituintes celulares com base na diferença específica de gravidade (DHURAT; SUKESH, 2014).

Arnoczky e Shebani-rad (2013) afirmaram que o princípio básico usado na criação de qualquer produto de PRP se encontra na separação através da plasmáférese, diferenciando os componentes líquido e sólido do sangue total. Essa separação é sustentada pelo princípio físico descrito pela Lei de Stokes (“Lei de Stokes”, 2018)¹, que afirma que a velocidade de assentamento de partículas em um ambiente líquido em resposta às forças gravitacionais será aproximadamente proporcional ao seu diâmetro. Assim sendo, os componentes sanguíneos que tiverem o maior diâmetro, como é o caso dos glóbulos vermelhos (aproximadamente 7 µm de diâmetro) e leucócitos (7 a 15 µm de diâmetro) irão assentar-se proporcionalmente de maneira mais rápida que as plaquetas, que possuem diâmetro inferior, de 2 µm, quando submetidos a uma força gravitacional. Através desse fenômeno, será permitido que as plaquetas permaneçam seletivamente suspensas no componente líquido (plasma) do sangue, enquanto as outras partículas sólidas, no caso os glóbulos vermelhos e leucócitos assentam-se mais rapidamente e, portanto, separam-se assim das plaquetas.

3.7.2 Métodos de obtenção do PRP

O PRP é obtido por meio do processamento do sangue do paciente, o qual é centrifugado e tem seu conteúdo celular separado em camadas.

¹ A lei de Stokes pode ser escrita da seguinte forma: $F = -6\pi r\eta v$, F é o coeficiente de atrito, r é o raio da partícula, η é a viscosidade do fluido e v é a velocidade da partícula.

Em relação à preparação do PRP, existem 2 técnicas (ALVES; GRIMALT, 2018):

1. Técnica aberta: o produto é exposto ao ambiente da área de trabalho e entra em contato com diferentes materiais que devem ser utilizados para sua produção, como pipetas ou tubos de coleta. No processamento do sangue para se obter PRP pela técnica aberta, deve-se garantir que o produto não seja contaminado durante o manuseio microbiológico.

2. Técnica fechada: envolve o uso de dispositivos, oficialmente registrados, nos quais o produto não é exposto ao ambiente (recomendado).

3.7.2.1 Técnica aberta

Na técnica aberta, realiza-se uma primeira centrifugação para separar os glóbulos vermelhos (RBC). Em seguida, é realizada uma segunda centrifugação para concentrar as plaquetas, que são suspensas no menor volume final de plasma. O sangue total é inicialmente coletado em tubos que contêm anticoagulantes. A primeira centrifugação é executada a uma aceleração constante para separar os glóbulos vermelhos do volume restante de sangue total. Após a primeira centrifugação, o sangue separa-se em três camadas: uma camada superior que contém principalmente plaquetas e glóbulos brancos, uma camada intermediária fina que é conhecida como “*buffy coat*”, rica em glóbulos brancos, e uma camada inferior que consiste principalmente de glóbulos vermelhos.

Para a produção de PRP puro (P-PRP), a camada superior e a interface leucocitária superficial são transferidas para um tubo estéril vazio. Para a produção de PRP rico em leucócitos (LR-PRP), toda a camada de buffy coat e poucos RBCs são transferidos. Depois então, realiza-se a segunda centrifugação. A força relativa a G (“g”) empregada nesta segunda centrifugação deve ser adequado apenas para auxiliar na formação de pastilhas suaves (plaquetas-eritrocitárias) no fundo do tubo. A porção superior do volume que é composta principalmente de PPP (plasma pobre em plaquetas) é removida. Os sedimentos (plastilhas) do fundo do tudo são homogeneizados em 1/3 inferior (5ml de plasma) para criar o PRP (FERNÁNDEZ-MUÑOZ et al., 2018).

3.7.2.2 Técnica fechada

A preparação do PRP pela técnica fechada vai depender do tipo de dispositivo escolhido e deve ser feito de acordo com as instruções do fabricante (Quadro 4). Existem diferentes sistemas de PRP que facilitam a preparação do PRP de maneira simples e reprodutível. Todos operam com um pequeno volume de sangue tirado e segue o princípio da centrifugação. O sangue total é obtido por venopunção em tubos

QUADRO 4 - PROTOCOLOS DE COLETA E CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE DE DIFERENTES DISPOSITIVOS MÉDICOS PARA OBTENÇÃO DE PRODUTOS RICOS EM PLAQUETAS

DISPOSITIVOS	COLETOR DE SANGUE / ANTICOAGULANTE	CENTRIFUGAÇÃO		
		NÚMERO DE VEZES	ACELERAÇÃO / TEMPO	CENTRÍFUGA
Selphyl®	Tubo 9 mL / Citrato de Sódio	1	1000x g / 6 min	Clássica
PRGF Endoret®	Tubo 9 mL / Citrato de Sódio	1	270x g / 7 min	Clássica
Cascade®	Tubo 9 mL / Citrato de Sódio	2	1100x g / 6 min 1450x g / 15 min	Clássica
Plateltex®	Tubo 9 mL / ACD	2	180x g / 10 min 1000x g / 10 min	Clássica
Regenkit®	Tubo 9 mL / Citrato de Sódio	1	1500x g / 9 min	Clássica
ACP Arthrex®	Seringa 15 mL / ACD	1	1500 rpm / 5 min	Adaptada
GPS III®	Seringa 30 ou 60 mL / ACD	1	3200 rpm / 15 min	Adaptada
Genesis®	Seringa 12 mL / ACD	1	2400 rpm / 12 min	Adaptada
SmartPrep 2®	Seringa 20 ou 60 mL / ACD	2	2500 rpm / 4 min 2300 rpm / 10 min	Adaptada
Proteal®	Seringa 20 mL / Citrato de Sódio	1	1800 rpm / 8 min	Adaptada
Magellan®	Seringa 30 ou 60 mL / ACD	SI	SI	Adaptada
Angel®	Seringa 40 ou 680 mL / ACD	SI	SI	Adaptada

LEGENDA: ACD, Citrato ácido de dextrose; SI, sem informação

NOTA: As velocidades expressas em rpm, pois as medidas dos rotores não foram divulgadas.

FONTE: ALVES et al. (2018)

anticoagulados (geralmente com citrato ácido de dextrose ou solução de citrato de sódio). O sangue então, é centrifugado com centrifugação simples ou dupla, dependendo do dispositivo. Os ajustes da centrífuga, para obter o PRP em diferentes

concentrações, são pré-programados pelo fabricante e não podem ser alterados pelo médico (ALVES; GRIMALT, 2018).

Os sistemas comercializados diferem muito entre si com relação a sua capacidade para recolher e concentrar as plaquetas. Os principais pontos de variação correspondem ao nível da aceleração centrífuga (180x a 1500x g), número de centrifugações (simples ou dupla), temperatura (8° a 24°) e tempo de centrifugação (4 a 15 minutos). Isto resulta na obtenção de suspensões com diferentes concentrações de plaquetas e de leucócitos. Diferenças na concentração de plaquetas e sangue influenciam na diversidade de fatores de crescimento. A ausência de protocolos de controle de qualidade, dificulta a avaliação da efetividade de cada kit, fato que torna difícil a avaliação de qual kit para a preparação do PRP é melhor ou pior (DHURAT; SUKESH, 2014).

Existem numerosos protocolos na literatura que descrevem as condições ideais para a centrifugação. Uma comparação de protocolos foi resumida por Dhurat e Skesh (2014) de forma clara e simples conforme pode ser vista na Tabela 1. Considerando a complexidade de um produto autólogo como o PRP e a necessidade de controle de qualidade em aplicações clínicas, é crucial demonstrar a capacidade o procedimento de reproduzir resultados consistentes.

TABELA 1 - COMPARAÇÃO DE VÁRIOS PROTOCOLOS DE PRODUÇÃO DE PLAQUETAS

Estudo	Volume de sangue (mL)	1ª centrifugação		2ª centrifugação		Aumento na contagem de plaquetas
		Força (x g)	Tempo (min)	Força (x g)	Tempo (min)	
Amable <i>et al.</i>	4,5	300	5	700	17	1,4×10 ⁶ a 1,9×10 ⁶ 5,4 a 7,3 vezes
Amanda <i>et al.</i>	3,5	100	10	400	10	1222 ± 166x10 ³ 5 vezes
Khan <i>et al.</i>	478	3731	4	--	--	8,3x10 ¹⁰
Slichter and Harker	250 - 450	100	9	3000	20	80% recuperação
Landesberg <i>et al.</i>	5	200	10	200	10	5,57 a 9,35x10 ⁸
Jo <i>et al.</i>	5	200	10	200	10	633,2 ± 91,6x10 ³ 4,2 vezes
Bausset	10	250	15	250	15	3,96 vezes
Tamimi <i>et al.</i>	8,5	160	10	400	10	630,2x10 ³
Mazzocca <i>et al.</i>	27	1500 rpm	5	6300 rpm	20	472x10 ³
Anitua <i>et al.</i>	4,5	460	8	--	--	2,67 vezes
Araki <i>et al.</i>	7,5	270	10	2300	10	189,6x10 ⁴
Kececi <i>et al.</i>	9	250	10	750	10	679,9x10 ³

FONTE: Dhurat e Skesh (2014)

Apesar dessas variações, todos os protocolos seguem uma sequência genérica que consiste em coleta de sangue, uma centrifugação inicial para separar hemácias, e centrifugações subsequentes que concentram as plaquetas e outros componentes e uma ativação da amostra pela adição de um agonista plaquetário.

3.7.3 Fatores que interferem na produção do PRP

Vários fatores influenciam o rendimento do PRP, como coleta do sangue; velocidade, tempo e temperatura de centrifugação e uso de anticoagulantes.

3.7.3.1 Coleta de Sangue

O processo de coagulação é influenciado já no momento da coleta. A maioria dos protocolos utilizam a pressão negativa aplicada via aspiração com seringa ao invés de coletar o sangue via gravidade. Essa pressão negativa, quando aplicada por meio de agulhas de calibre menor que 20G, pode aumentar a força de cisalhamento entre as plaquetas, resultando em uma indesejada ativação plaquetária precoce e diminuição do número de plaquetas do PRP. Ainda segundo Waters e Roberts (2004), para evitar a ativação não intencional de plaquetas, recomenda-se usar agulhas de calibre maior que 22G para extrair o sangue e que haja encurtamento de tempo entre a coleta e o processamento do PRP.

3.7.3.2 Centrifugação

A força gravitacional da Terra é suficiente para separar muitos tipos de partículas ao longo do tempo. Um tubo de sangue anticoagulado deixado em pé sobre uma bancada acabará por se separar em frações de plasma, hemácias e leucócitos. No entanto, o período de tempo necessário para essa maneira de separação inviabiliza para a maioria das aplicações. Além disso, há degradação potencial dos compostos biológicos durante o armazenamento prolongado do sangue. Isto significa que são necessárias técnicas de separação mais rápidas. Assim, para acelerar a sedimentação, o efeito da gravidade é amplificado usando a aceleração fornecida pelo

rotor da centrífuga (SOCIEDADE BRASILEIRA DE PATOLOGIA CLÍNICA/MEDICINA LABORATORIAL, 2014, p. 46).

A separação de constituintes celulares no sangue pode ser conseguida por um processo conhecido como sedimentação diferenciada. Na sedimentação diferenciada, a aceleração centrífuga é ajustada para sedimentar certos constituintes celulares conforme o tamanho e densidade destes (MORAIS, 2012).

Na centrifugação, a força centrífuga relativa (RCF) é a força necessária para separar duas fases, essa força também é chamada de campo centrífugo relativo. É expressa como múltiplos do campo gravitacional da Terra (g). Ao submeter o sangue a campos gravitacionais maiores que o “g” terrestre, pode-se obter uma sedimentação mais veloz que deixe este material exposto exclusivamente a “g” (LABORATÓRIO MULTIUSUÁRIO DE ESTUDOS EM BIOLOGIA I (LAMEB), 2012).

“G” é a força real exercida sobre o conteúdo do rotor giratório, que separa as soluções aquosas na centrífuga. As revoluções por minuto (rpm) são calculadas usando a seguinte equação:

$$G = 1,118 \times 10^{-5} \times R \times N^2$$

onde, G é a força centrífuga relativa, R é o raio do rotor em centímetros e N é a velocidade da centrífuga em rotações por minuto (KAHN; COSSETTE; FRIEDMAN, 1976).

Kahn et al. (1976) determinaram que os parâmetros de 3731×g por um tempo de 4 min seria a melhor condição para se obter a maior concentração de plaquetas e aproximadamente 95% de recuperação de plaquetas².

Slichter e Harker (1976) tiveram sua maior eficiência de recuperação de plaquetas no valor de 80%, utilizando amostra de 250-450 mL de sangue total centrifugadas sob o parâmetro de 1000×g por um período de 9 minutos, tendo na segunda centrifugação a 3000×g por um período de 20 minutos.

Landesberg et al. (LANDESBURG; ROY; GLICKMAN, 2000) utilizaram tanto na primeira quanto na segunda centrifugação 5 mL de sangue total a 200×g por 10 min, obtendo cerca de 3 vezes a concentração do sangue periférico basal nas amostras.

² Recuperação de plaquetas é o percentual de plaquetas presentes no PRP em relação a quantidade de plaquetas presentes no sangue total antes do processamento do sangue.

Dugrillon et al. (2002) mostraram uma relação entre fatores de crescimento, como o TGF- β 1, e concentração de plaquetas com a força de centrifugação. Esses autores demonstraram uma relação direta entre a quantidade de plaquetas e de fatores de crescimento quando as RCF são menores que 800×g. Quando as forças de centrifugação foram maiores que 800×g, a relação se inverteu. Alertando, desta forma, o número de plaquetas não é sempre proporcional à quantidade de fatores de crescimento e que a dimensão da força de centrifugação interfere no conteúdo do PRP.

Tamimi et al. (2007) compararam os métodos para a obtenção do PRP feitos por uma única ou dupla centrifugação. Um valor de 8,5 mL de sangue total foi submetido a 160×g (1300 rpm) por 10 min e para segunda centrifugação, 400×g (2000 rpm) por 10 min. Para a centrifugação única foi utilizado volume de sangue de 3,5 mL, com parâmetros de 280×g (1500 rpm) por 7 min. Eles relataram que o método de obtenção do PRP com dupla centrifugação atingiu uma maior concentração de plaquetas (336%) ao comparar com o método de centrifugação simples (227%).

Hatakeyama et al. (HATAKEYAMA et al., 2008) compararam dois métodos diferentes para obtenção do PRP. No primeiro (ANITUA, 2001), realizaram apenas uma centrifugação de 270xg por 7 minutos e no segundo (SONNLEITNER; HUEMER; SULLIVAN, 2000), realizaram duas centrifugações, 160xg por 20 minutos e 400xg por 15 minutos. Neste estudo houve diferença estatística entre os dois métodos, sendo que o segundo apresentou concentração plaquetária aproximadamente 400% maior que o primeiro.

Bausset et al. (BAUSSET et al., 2012) demonstraram que ao utilizar os parâmetros de centrifugação com 130×g ou 250×g por 15 minutos obtiveram desempenho superior nas índices de concentração plaquetária do que parâmetros maiores que 400xg.

No estudo desenvolvido por Araki et al. (2012), os autores testaram diferentes protocolos de duplas centrifugação desde 30x g até 2330x g. Concluíram que o protocolo para obtenção do PRP com melhor recuperação e com maior taxa de concentração plaquetária foi a centrifugação do sangue total com 230-270× g por 10 min.

Kececi et al. (2014) também testaram diferentes protocolos para preparar o PRP. Utilizaram um padrão de 2 centrifugações, a primeira foi realizada com

parâmetro fixo de 250×g por 10 minutos, na segunda, a força variou de 300×g a 2000×g por 10 min. A concentração plaquetária aumentou de 1,92x até 3,76x, acompanhando o aumento da segunda força centrífuga de 300xg, até 2000xg. No entanto, as únicas forças que fizeram diferença significativa foram 500xg, 750xg e 1000xg. Neste estudo o índice de recuperação de plaquetas também variou conforme a força de centrifugação. Esses índices variaram de 32% (500xg) até 63% (1000xg). Concluíram que a obtenção de uma determinada concentração de plaquetas pode ser possivelmente ajustada de maneira individual de acordo com a força de centrifugação, a partir do valor basal.

Perez et al. (2014) demonstraram que a utilização de 3,5 mL de sangue em 100×g por 10 min, em uma primeira centrifugação, e 400×g por 10 minutos, na segunda centrifugação, resultou em uma alta recuperação plaquetária, em torno de 70% a 80% e concentração cinco vezes maior, mantendo a integridade e a viabilidade de plaquetas. Acredita-se que o tempo e a aceleração são os parâmetros fundamentais que definem a composição da amostra de PRP após a primeira centrifugação.

Mais recentemente Yin et al. (2017) realizaram um estudo comparativo com diferentes condições de centrifugação para otimizar o preparo do PRP. Testaram diversos modelos, com centrifugação única e com dupla, diferentes forças centrífugas e diferentes tempos de centrifugação. Determinaram como padrão de eficiência dos sistemas: taxa de recuperação plaquetária, índice de concentração plaquetária, taxa de concentração leucocitária e níveis de expressão de fatores de crescimento e de citocinas. Os autores concluíram que o protocolo mais apropriado para a obtenção do PRP seria utilizar na primeira centrifugação uma força de 160xg por 10 minutos e 250xg por 15 minutos na segunda centrifugação. Com isso conseguiram índices de recuperação plaquetária de 60% e índices de concentração plaquetária de 1,5x. Ao utilizar este protocolo aumentaram de forma significativa os níveis de fatores de crescimento, obtiveram maior preservação da função plaquetária e promoveram maiores taxas de proliferação e migração celular. Desta forma, consideraram este protocolo como sendo o sistema ideal de obtenção do PRP para aplicações clínicas.

3.7.3.3 Temperatura

A temperatura durante o processamento é crucial para evitar a ativação de plaquetas. O manual da Associação Americana do Bancos de Sangue (AABB) recomenda que a temperatura de processamento do sangue para obtenção de PRP esteja entre 21 °C e 24 °C (BRECHER; AMERICAN ASSOCIATION OF BLOOD BANKS, 2005).

Apesar das recomendações da AABB, alguns autores acreditam que um maior resfriamento pode retardar ainda mais a ativação plaquetária, sendo um fator essencial para o aumento da viabilidade das plaquetas no preparados de PRP (AMABLE et al., 2013; MACEY et al., 2002).

Amable et al. (2013) estudaram as variações na RCF, temperatura e tempo de centrifugação para otimizar as condições de isolamento de plaquetas e quantificação de citocinas e fatores de crescimento no PRP antes e após a ativação plaquetária.

Amostras de sangue de 4,5 mL foram centrifugadas escolhendo distintos valores, variando RCF de 240 a 400×g, tempo de 8 a 19 minutos e temperatura de 8° a 16°C. Durante a primeira centrifugação, o melhor desempenho foi obtido utilizando os parâmetros de 300×g por 5 minutos a 12°C. Não houve uma diferença significativa com a utilização de 240×g, 8 minutos, 16°C, contudo, foi escolhido aquele como primeira centrifugação visando maior otimização para segunda centrifugação, devido ao seu menor tempo. Na segunda centrifugação, parâmetros de 700×g por 17 minutos foram escolhidos pois permitiram uma menor perda de plaquetas em fração do plasma pobre em plaquetas e com isso conseguiram padronizar um protocolo reprodutível para obtenção do PRP.

Macey et al. (2002) analisaram a ativação plaquetária em diferentes sistemas e determinaram que as condições, que garantem a máxima esfericidade plaquetária sem ativação artificial, encontra-se em ambientes resfriados a 4 °C.

No entanto, a maioria dos autores convergem com as recomendações da AABB e utilizam a temperatura ambiente para processar o sangue e obter o PRP (ANITUA, 2001; BORRIONE et al., 2018; MALAVOLTA et al., 2014a; YIN et al., 2017).

3.7.3.4 Anticoagulante

O tipo de anticoagulante a ser escolhido para realizar o prepara do PRP tem fundamental importância e deve ser baseada na capacidade de preservar o máximo

possível a função, a integridade e a morfologia das plaquetas. Existem várias opções de anticoagulantes para o uso clínico. No entanto, apenas dois atendem às necessidades metabólicas das plaquetas e à separação viável das plaquetas de uma forma não prejudicial, anticoagulante citrato dextrose-A (ACD-A) e o citrato fosfato dextrose (CPD).

O (ACD-A) é o preferido e é o que melhor mantém a viabilidade das plaquetas. O citrato se liga ao cálcio para criar a anticoagulação. A dextrose, faz um tamponamento do pH local e outros ingredientes sustentam o metabolismo das plaquetas. O ACD-A é o mesmo anticoagulante usado para armazenar plaquetas viáveis para transfusões de plaquetas de bancos de sangue (CALLAN; SHOFER; CATALFAMO, 2009).

O (CPD) também é útil para o processamento do PRP. É semelhante ao ACD-A, mas tem menos ingredientes que ajudam no metabolismo das plaquetas e, portanto, é 10% menos eficaz na manutenção da viabilidade plaquetária (MARX, 2001).

A maioria dos autores concorda em não usar o ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA), pois pode danificar a membrana plaquetária. Desta forma, autores como Anitua et al. (2012) reforçam a recomendação do uso de citrato ou de dextrose citrato de sódio como anticoagulantes nas preparações de PRP.

Em indivíduos saudáveis, existe uma correlação inversa não-linear entre o VPM (volume plaquetário médio) e a concentração de plaquetas, ou seja quanto maior o VPM menor será a concentração plaquetária (DAVID BESSMAN; WILLIAMS; RIDGWAY GILMER, 1981). Neste sentido, Buttarello et al. (BUTTARELLO; MEZZAPELLE; PLEBANI, 2018) estudaram variável que pudessem interferir no VPM e identificaram que o VPM na presença de EDTA é maior que na presença de citrato de sódio. Desta forma, o EDTA pode diminuir a concentração de plaquetas do preparado, não sendo interessante o seu uso na obtenção do PRP.

O fato do EDTA danificar a membrana plaquetária não impede o seu uso, pois segundo Araki et al. (2012) o uso do EDTA inibe a agregação plaquetária de forma mais eficiente que soluções de citrato-dextrose, resultando em maior produção de plaquetas não agregadas e maior conteúdo final de PDGF.

3.7.3.5 Ativação do PRP

A ativação do PRP antes da injeção é outro parâmetro que pode interferir na eficácia do tratamento com PRP. O PRP pode ser ativado exogenamente por trombina, cloreto de cálcio ou trauma mecânico. O colágeno é um ativador natural do PRP, assim, quando o PRP é usado em tecidos moles, ele não precisa ser ativado exogenamente (WATERS; ROBERTS, 2004).

Uma vez que o PRP é ativado, uma rede de fibrina (fibrinogênio-fibrina) começa a se formar, solidificando o plasma e criando um coágulo ou membrana de fibrina. A não ativação do PRP parece ser uma estratégia interessante quando o interesse do tratamento seja aproveitar mais o conteúdo de fatores de crescimento do que a estrutura tridimensional da rede de fibrina formada pelo PRP-gel (pós ativação). O racional desta estratégia encontra-se no fato de que as concentrações de fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) após ativação do PRP são de aproximadamente 20 vezes maiores que as do sangue total, enquanto é 50 vezes maior quando não ocorre a formação de gel de fibrina. O aumento da concentração de PDGF é notório quando se processa o sangue total para se obter o PRP, mas a concentração de PDGF pode ser ainda maior quando não se ativa o PRP produzido. Os autores deste experimento acreditam que uma parte substancial do PDGF fica aprisionada na cola de fibrina e sugeriram tanto a não ativação plaquetária, quanto a substituir o plasma por solução salina para maximizar o conteúdo final de fatores de crescimento derivados de plaquetas (ARAKI et al., 2012).

A escolha do ativador das plaquetas pode interferir diretamente tanto na concentração de fatores de crescimento do PRP, como na velocidade de liberação destes fatores para dentro da lesão. Quando se usa a trombina como ativador ocorre uma liberação quase que imediata de todos os fatores de crescimento anabólicos associados às plaquetas, enquanto que a ativação por meio do contato da plaqueta com o colágeno resulta numa liberação dos mais lenta (2 a 3 semanas) dos fatores. Na prática clínica, quando se deseja uma liberação mais gradual de fatores de crescimento a não ativação com trombina pode ser mais benéfica (HARRISON et al., 2011).

3.7.4 Contagem Plaquetária

Depois de obter o PRP, faz-se a contagem plaquetária, que é mais difícil do que a contagem de leucócitos e de eritrócitos. Esta dificuldade é esperada em vista

do pequeno tamanho dessas células, de sua aderência a superfícies estranhas e do fato de agregar-se quando ativadas.

Em geral, as técnicas modernas de contagem plaquetária podem ser divididas em três grupos (BITHELL, 1998; MACEDO, 2004): métodos diretos ou hemocitômetros, métodos semiautomatizados e métodos totalmente automatizados.

Os métodos diretos ou hemocitômetros utilizam um microscópio de contraste de fase e diluição em oxalato de amônio, facilitando assim a diferenciação das plaquetas, bem como sua contagem manual (RAMIREZ, 2016).

Os métodos semiautomatizados, nos quais há um contador eletrônico de partículas, que contará a quantidade de plaquetas (ZIMMERMANN et al., 2003)

Por fim, métodos totalmente automatizados, utilizando aparelhos comercialmente disponíveis, onde as plaquetas são contadas em contador óptico de partículas o qual emprega o princípio da microscopia de campo escuro invertido. Aqui a precisão da contagem plaquetária é igual ou maior do que as contagens de métodos semiautomatizados (CHICHARRO-ALCÁNTARA et al., 2018).

A maioria dos sistemas de análise hematológica são projetados para operar em faixas encontradas no sangue total, e o PRP pode exceder o limite superior do intervalo linear de plaquetas que os sistemas estão programados para contar. Além disso, a ressuspensão adequada do PRP e a preparação adequada da amostra são necessárias para a contagem precisa de plaquetas. Aglomerados de plaquetas ou falta de distribuição uniforme pode então resultar em imprecisões. Woodell-May et al. (2005) ao realizarem um estudo para validação de técnicas para contagem de plaquetas de preparados de PRP, encontraram diferença significativamente menor na contagem média de plaquetas quando as amostras eram medidas imediatamente após a preparação do PRP do que quando as amostras eram ressuspendidas em um balancim. Neste estudo, os autores sugerem que, para obter contagens plaquetárias precisas, toda a amostra de PRP deve ser removida e deixada em um agitador gentil por pelo menos 5 minutos antes da contagem. Além disso, este estudo recomenda o uso de modo manual no analisador hematológico, pois os modos de contagem automática são mais propensos a permitir que a amostra se sedimente, reduzindo a contagem absoluta de plaquetas.

3.7.5 Custo benefício dos sistemas de PRP

A utilidade e os resultados positivos com o uso do PRP nas aplicações clínicas tem aumentado nos últimos anos, basta ver o número crescente de publicações sobre o assunto no PUBMED. Com isso cresce também o interesse comercial ao redor deste produto. Embora os sistemas comercializados ofereçam suspensões ricas em plaquetas prontas para a aplicação de maneira estéril, o alto custo, o volume limitado de sangue extraído, as diferenças nas diretrizes de centrifugação e a ampla variação na concentração de plaquetas dificultam a escolha do kit de PRP para cada situação.

Existem vários protocolos para a preparação do PRP, cada um com seus próprios parâmetros padronizados e os resultados reivindicados, conforme mencionado na revisão. É aconselhável padronizar os protocolos de preparação individual, para alcançar os melhores custos-benefícios e viabilidade de execução com contextos clínicos particulares.

O fundamental é compreender os princípios básicos da centrifugação na preparação do PRP. Deve-se também manter constantes e repetitivos testes de metodologia por "abordagem de tentativa e erro", vigilância rigorosa na manutenção da esterilidade e verificação cruzada regular dos valores de plaquetas. Esta disciplina é uma obrigação para obter resultados consistentes, qualificados e com bom custo-benefício (DHURAT; SUKESH, 2014).

Uma vantagem do PRP sobre a administração do fator de crescimento exógeno isolado é que os fatores são liberados das plaquetas na forma nativa (e não na forma recombinante), o que parece ser uma razão biologicamente relevante (FOSTER et al., 2009). Em um modelo canino, o uso de β FGF isolado acelerou a fase de proliferação celular da cicatrização tendínea, mas resultou na formação de cicatriz peritendínea e diminuição da amplitude de movimento (THOMOPOULOS et al., 2010). Esse achado reforça o conceito de usar um conjunto balanceado e complemento de fatores de crescimento bioativos encontrados no PRP, em vez de usar FC isolados. Além da vantagem biológica apresentada, existe uma vantagem financeira, pois o PRP é muito mais barato e está sujeito a menos restrições regulatórias do que o uso de um fator de crescimento recombinante (AKHUNDOV et al., 2012; BOSWELL et al., 2012).

3.8 Formas de apresentação do PRP

Os produtos de PRP, normalmente, são bem diferentes uns dos outros. A concentração dos fatores de crescimento e de citocinas catabólicas são influenciadas

pela composição celular do PRP incluindo a presença ou não de leucócitos (BOSWELL et al., 2012). Algumas preparações de PRP são consideradas ricas em leucócitos. Embora as plaquetas possam aumentar a sinalização anabólica, os leucócitos aumentam a sinalização catabólica (MCCARREL; MINAS; FORTIER, 2012; SUNDMAN; COLE; FORTIER, 2011). Consequentemente, o PRP pobre em leucócitos pode oferecer uma melhor cicatrização (BOSWELL et al., 2012). Em contraste, o PRP rico em leucócitos demonstra mais metaloproteinase de matriz-9 e 1L-1 β (mediadores catabólicos inflamatórios) que pode ser prejudicial para a cicatrização de tendões. Foram relatadas respostas inflamatórias maiores 5 dias após o tratamento com PRP rico em leucócitos comparado com PRP pobre em leucócitos (DRAGOO et al., 2012). Além disso, preparações com altas contagens de leucócitos também foram implicadas em piores resultados ao comparar com as preparações pobres em leucócitos (VAVKEN et al., 2015). A maior consequência foi ruptura da arquitetura precoce do tendão, maior vascularização e fibrose.

Um outro tipo de diferenciação da apresentação é quanto ao estado de ativação ou não do PRP. O termo “ativação” refere-se a 2 processos importantes que são iniciados durante a preparação do PRP: (1) degranulação de plaquetas para liberar os fatores de crescimento de dentro do grânulos- α e (2) clivagem do fibrinogênio para iniciar a formação da malha de fibrina, um processo de coagulação que permite a formação de gel de plaquetas e, assim, consegue-se concentrar a secreção de determinadas moléculas em um local escolhido. A ativação do PRP, geralmente, se consegue pela adição de trombina e/ou cloreto de cálcio (CaCl_2) ao PRP obtido (CAVALLO et al., 2016). O processo de ativação plaquetária está intimamente conectado à via de coagulação intrínseca, que é ativada pelo fator XII da coagulação e na presença de Ca^{++} , fator V e fator X converte a protrombina em trombina e, subsequentemente, fibrinogênio em fibrina e, consequentemente, facilita a polimerização da fibrina e formação da malha de fibrina (TOYODA et al., 2018). Neste processo, quando a protrombina é convertida em trombina, ocorre a ativação das plaquetas por meios de subtipos específicos de receptores ativados por proteases (PARs) (POSMA; POSTHUMA; SPRONK, 2016). Por outro lado, a adição de Ca^{++} pode ativar as plaquetas ao permitir a entrada de Ca^{++} via canais de Ca^{++} e subsequentemente ativar a via autócrina do Tromboxino A_2 (TXA_2) ou ativadores armazenados nos grânulos- α , como o ADP e a trombina (AOKI et al., 1997). Uma vez ativado, o PRP líquido tem efeito de 7 a 12 horas, porque a ativação da plaqueta

dispara uma liberação imediata de fatores de crescimento, os quais são consumidos rapidamente pelo ambiente celular ao qual foram expostos (WOODELL-MAY et al., 2005).

Existem as formas líquidas e sólidas de PRP e cada uma delas possuem propriedades diferentes. A diferença mais óbvia é o método de aplicação no local da lesão. O PRP líquido pode ser injetado guiado por ultrassonografia ou por referencia topográfica (método palpatório). No entanto, o sólido é aplicado sob visão direta da lesão, por meio de incisão cirúrgica. O líquido pode ser colocado no topo do local de reparação ou entre o tendão e o osso. O sólido apresenta-se como uma malha estruturada de fibrina, a qual é criada utilizando dupla centrifugação. Esta estrutura ou malha de fibrina serve como um reservatório para os fatores de crescimento e permite a liberação gradual destes fatores com duração de até 7 dias. A malha de fibrina plaquetária é fixada (geralmente por sutura) na interface entre o tendão e o osso (Figura 2). Isso cria uma interface mais estável entre a matriz de fibrina e impede que o material flutue e se afaste do tecido alvo (BARBER, 2018).

FIGURA 2 – PRP SÓLIDO PARA CIRURGIA DE REPARO DO MANGUITO ROTADOR



FONTE: BARBER (2018)

4 USO DO PRP NA ORTOPEDIA E MEDICINA ESPORTIVA

A utilização do PRP na medicina esportiva tem aumentado devido ao seu potencial promotor da cicatrização dos músculos (TSAI et al., 2018) e tendões (BARRETO et al., 2018; PAULY et al., 2018), e ao fato de o atleta necessitar de recuperação muito rápida e significativa em tempo curto.

O uso do PRP tem mostrado algumas evidências para o benefício de pacientes portadores de outras lesões osteoarticulares como retardo de consolidação óssea (ACOSTA-OLIVO et al., 2017), lesões condrais articulares (SOFU et al., 2018) e até mesmo artrose (FREIRE et al., 2018; HUANG et al., 2019).

O PRP também vem sendo utilizado em cirurgias ortopédicas, promovendo redução do tempo de consolidação óssea na artrodese de vértebras lombares (KUBOTA et al., 2019), redução da perda sanguínea durante o pós-operatório de artroplastia total de joelho (MOCHIZUKI et al., 2016) e aumento da consolidação dos fragmentos osteocondrais tratados por artroscopia (SHARMA et al., 2018). Outros autores também encontraram resultados efetivos a médio prazo no tratamento de lesões meniscais com PRP em paciente jovens (PUJOL et al., 2015).

Segundo Sánchez (2009), o surgimento do PRP como uma tecnologia de ponta no tratamento de lesões esportivas parece intrigante. E o fato de os protocolos de preparação à base de plaquetas serem fáceis, seguros, versáteis e com custo reduzido, estimularam o interesse de médicos esportivos e cirurgiões ortopédicos a desenvolverem estudos clínicos utilizando estes preparados.

4.1 Uso do PRP nas lesões condrais focais e na artrose

A artrose do joelho é uma das principais causas de incapacidade musculoesquelética. Apresenta-se com uma clínica variada, heterogênea e os processos que causam deterioração ainda são pouco compreendidos. Atualmente a artrose é frequentemente considerada como uma forma de falência de órgãos (HAYWOOD et al., 2003; LOESER et al., 2012). Devido às limitações na eficácia das opções de manejo convencionais, opções alternativas, como métodos biológicos e regenerativos, estão entrando em voga (ANDIA; SÁNCHEZ; MAFFULLI, 2012).

Quando o PRP é injetado no sitio lesado, as plaquetas são ativadas pela trombina endógena e/ou colágeno intra-articula. Uma vez ativadas, ocorre a secreção

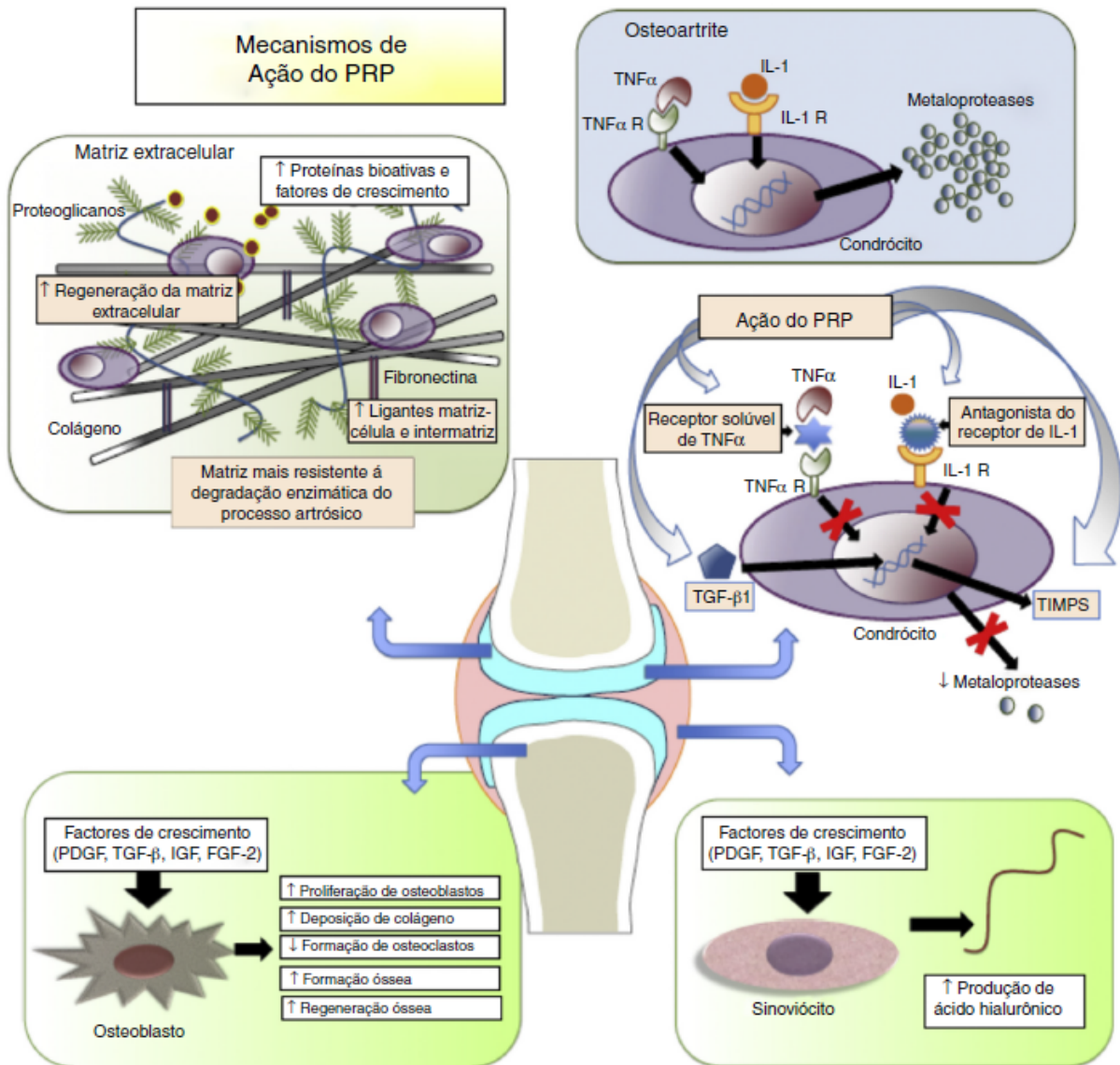
de fatores de crescimento por meio da degranulação dos grânulos- α , conforme descrito anteriormente. Vários dos mediadores liberados atuam como agentes anticatabólicos e anti-inflamatórios. O antagonista do receptor da IL-1 inibe a ativação do gene do NF- κ B, citocina envolvida no processo de apoptose e inflamação. Além desse, os receptores solúveis do fator de necrose tumoral ligam-se ao TNF- α impediram a sua interação com os receptores celulares e sua sinalização pró-inflamatória. O TGF- α 1 também atua como um fator inibidor da degradação da cartilagem, regula e aumenta a expressão dos genes dos inibidores teciduais das metaloproteinases (TIMP-1). Outros elementos, como IGF-1, PDGF e TGF- β 1, favorecem a estabilização da cartilagem por meio da regulação das funções metabólicas dos condrócitos e do osso subcondral, mantêm a homeostase entre a síntese e a degradação dos proteoglicanos e estimulam proliferação dos condrócitos. Verificou-se também que fatores de crescimento plaquetários estimulam fibroblastos sinoviais a sintetizar ácido hialurônico. Outra via analisada, no sentido da inibição da degradação da cartilagem, foi reportada por Rezende et al. (2011) ao demonstrarem que o PRP conseguiu bloquear a apoptose de condrócitos pós indução traumática da artrose de joelhos de coelhos. Esses mecanismos de ação do PRP são ilustrados na Figura 3 (KNOP; PAULA; FULLER, 2016).

De um modo geral, os resultados de vários estudos, mostram que o PRP pode oferecer benefícios terapêuticos para a reparação da cartilagem em pacientes com doença articular secundária as alterações artríticas. Em particular, um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego e randomizado que randomizou 78 pacientes com osteoartrite bilateral do joelho para receber uma única injeção de solução salina, uma única injeção de PRP, ou 2 injeções de PRP com 3 semanas de intervalo, concluiu que ambos os grupos de PRP, os resultados clínicos foram, significativamente, melhores do que o grupo controle 6 meses pós-tratamento (PATEL et al., 2013).

O grupo de pesquisa de artrose da Universidade Tiradentes, realizou um estudo clínico, prospectivo, randomizado, no qual 50 pacientes com artrose do joelho foram divididos em um grupo para receber uma única injeção intra-articular de corticoide e outro grupo para receber uma injeção de PRP. Neste estudo concluiu-se que a redução dos níveis de dor e aumento da funcionalidade articular foram mais duradouras nos pacientes que receberam PRP (FREIRE et al., 2018). Esta mesma

característica de manutenção a longo prazo do efeito do tratamento com PRP foi observada por um grupo da Jinan University da China (HUANG et al., 2019).

FIGURA 3 - MECANISMOS DE AÇÃO DO PRP.



NOTA: TNF, Fator de Necrose Tumoral; TNF-R, Receptor de Fator de Necrose Tumoral; IL-1, Interleucina-1; IL-1R, Receptor de Interleucina-1; TGF, Fator Transformador de Crescimento; TIMPs, Inibidores Teciduais Demetaloproteína.

FONTE: (KNOP; PAULA; FULLER, 2016)

Em um outro estudo prospectivo, duplo-cego, randomizado e controlado, os autores acompanharam 120 pacientes com gonartrose por 24 semanas. O grupo que mostrou melhores desfechos após o tratamento foi aquele que recebeu uma única injeção de PRP quando comparado com o grupo que recebeu uma única injeção de ácido hialurônico ($p < 0,01$) (CERZA et al., 2012).

Outros dois estudos de revisão sistemática com meta-análise (DAI et al., 2017; KHOSHBIN et al., 2013) realizados em épocas diferentes e por grupos distintos, chegaram a conclusões semelhantes. Ou seja, ao comparar o tratamento da artrose com uma injeção de Ácido Hialurônico (HA) ou salina, as múltiplas injeções intra-articulares sequenciais de PRP mostraram-se mais benéficas no alívio da dor e melhora funcional em pacientes com artrose sintomática, com efeito duradouro entre 6 e 12 meses.

O uso do PRP para estimular o reparo da cartilagem é uma aplicação particularmente excitante. Acredita-se que o PRP possa estimular o anabolismo condral, reduzir os processos catabólicos e melhorar a homeostase geral da articulação, reduzindo a hiperplasia da membrana sinovial (Kon et al. 2009).

Uma meta-análise (RIBOH et al., 2016) comparou LP-PRP (concentração de leucócitos no PRP <100% em relação ao sangue periférico) e LR-PRP (concentração de leucócitos no PRP >100% em relação ao sangue periférico) no tratamento da osteoartrite do joelho e encontrou que injeções de LP-PRP resultaram em escores que avaliam dor e função do joelho (WOMAC), significativamente, melhores que os tratados com HA ou placebo. Por outro lado, Filardo et al. (2015) inscreveram 192 pacientes em um estudo randomizado controlado e não encontraram diferença entre o LR-PRP e HA, fornecendo mais evidências de que o LP-PRP pode ser uma escolha efetiva para o tratamento dos sintomas da OA, enquanto o LR-PRP não deve ser. A base biológica para isso pode estar no nível relativo de mediadores inflamatórios versus anti-inflamatórios presentes no LR-PRP e no LP-PRP (LE et al., 2018). Os mediadores inflamatórios TNF- α , IL-6, interferon- γ e IL-1 β aumentam significativamente na presença de LR-PRP (CARBALLO et al., 2017; SUNDMAN; COLE; FORTIER, 2011), enquanto que a injeção de LP-PRP aumenta a IL-4 e IL-10, que são mediadores anti-inflamatórios. A IL-10 especificamente mostrou ser útil no tratamento da OA do quadril (DALLARI et al., 2016) e também pode suprimir a liberação dos mediadores inflamatórios TNF- α , IL-6 e IL-1 β e bloquear a via inflamatória neutralizando a atividade do fator nuclear- κ B (CARBALLO et al., 2017; SIMENTAL-MENDÍA et al., 2016; SUNDMAN; COLE; FORTIER, 2011). Além de seus efeitos deletérios sobre os condrócitos, o LR-PRP também pode falhar em ajudar a tratar os sintomas da OA devido ao seu efeito nos sinoviócitos. Braun et al. (2014) mostraram que o tratamento de células sinoviais com LR-PRP ou eritrócitos resultou em significativa produção de mediadores pró-inflamatórios e morte celular.

A injeção intra-articular do LP-PRP é uma opção segura de tratamento para a OA do joelho e muitos ensaios clínicos randomizados demonstraram sua capacidade de reduzir os sintomas da dor e aumentar a função articular, no entanto estudos maiores com seguimento mais longo precisam ser feitos para caracterizar sua eficácia a longo prazo (LE et al., 2018).

4.2 Uso do PRP na consolidação óssea

4.2.1 Falhas ósseas

Na fase inflamatória da consolidação óssea, ocorre uma quimiotaxia de células-tronco mesenquimais na qual estas células se acumulam no local da fratura. Esta quimiotaxia é impulsionada pelo fator de crescimento derivado de plaquetas, fator de crescimento de fibroblastos e proteínas morfogênicas do osso (BMP) (CAPLAN; CORREA, 2011).

Esta fase inflamatória pode ser a causa da baixa formação óssea durante a primeira semana da consolidação, quando o objetivo principal da fase é o recrutamento de células-tronco. É nesta fase que o destino das células-tronco é decidido, ou seja, qual linhagem celular seguirá vai depender da estabilidade do defeito ósseo (LE et al., 2001). Neste estudo desenvolvido por LE et al., foi mostrado que os defeitos ósseos, mecanicamente estáveis, resultaram na transição direta para a osteogênese. Nesta fase ocorre a angiogênese, a proliferação osteogênica e a diferenciação das células-tronco, sendo conduzidas por VEGF, PDGF, FGF, TGF e outros fatores de suporte (ZHAO; JIANG; HANTASH, 2010).

Os fatores de crescimento liberados pelas plaquetas podem potencializar o a consolidação óssea ao apoiar a quimiotaxia, proliferação e diferenciação das células-tronco. Esta relação foi estudada por Malhotra et al. que observaram a maior densidade de osteoblastos dentro dos grupos tratados com PRP + fosfato de cálcio bifásico (BCP) em comparação com o grupo tratado somente com BCP. Concluindo que a adição do PRP ativado interfere positivamente no processo de consolidação óssea nas fases inflamatória e osteogênica precoces da cicatrização (MALHOTRA et al., 2014).

No estudo clínico randomizado realizado por Tabrizi et al. (2015), no qual investigou o efeito do PRP na consolidação óssea das cavidades ósseas idiopáticas. Neste estudo, os 24 pacientes foram seguidos por 9 meses após a intervenção e foram

comparados dois grupos, um tratado convencionalmente e outro tratado com PRP. Os autores concluíram que o tratamento com PRP intensificou significativamente a formação óssea nos pacientes com defeitos ósseos cavitários idiopáticos quando comparados com os métodos convencionais.

Por outro lado, Singh et al. (SINGH et al., 2017b), ao estudarem 72 pacientes com fraturas diafisárias de fêmur tratados com haste intramedular bloqueadas e analisarem o efeito adjuvante do PRP na consolidação óssea destas fraturas, não encontraram benefício do uso do PRP no processo de consolidação óssea.

4.2.2 Pseudoartroses

A consolidação da fratura é um processo biológico complexo, que depende de vários fatores sistêmicos e locais. A perturbação de qualquer um desses fatores pode levar à não união ou pseudoartrose da fratura. Essas pseudoartrose têm um impacto enorme na qualidade de vida e nos aspectos socioeconômicos. As plaquetas ativadas liberam uma série de fatores de crescimento e fatores de diferenciação, como já descrito anteriormente, que desempenham um papel importante na consolidação da fratura. Em outro estudo publicado por Malhotra et al. (2015), no qual um total de 94 pacientes com diagnóstico de pseudoartrose de ossos longos (tíbia, fêmur, úmero, rádio e ulna), sem grupo controle, foram seguidos por 4 meses. Neste estudo foi relatada uma taxa de 87,2% de consolidação após 4 meses e não foi relatada nenhuma complicação associada ao uso do PRP. Os autores concluíram, então que o PRP é um tratamento seguro e eficaz para o tratamento das pseudoartroses de ossos longos, no entanto, mais estudos são necessários para investigar o mecanismo molecular desta aceleração da consolidação da fratura pelo plasma rico em plaquetas.

Duramaz et al. (2018) também encontraram uma taxa elevada (92,8%) de consolidação óssea, significativa em comparação com o grupo controle, ao tratar pseudoartroses de ossos longos com injeções percutâneas de PRP.

4.2.3 Artrodeses

A artrodese espinal é um dos procedimentos mais comumente realizados para o tratamento da instabilidade da coluna vertebral causada por uma infinidade de patologias (FÖRSTH et al., 2016). No entanto, apesar dos avanços significativos na

instrumentação da coluna vertebral, a falha na fusão ou pseudoartrose, permanece como um desafio significativo (WATKINS; WATKINS; HANNA, 2014). Portanto, outros aditivos, como extensores de enxerto ósseo e fatores de crescimento, têm sido explorados como um método para aumentar as taxas de fusão (WERLE; ABUNAHLEH; BOEHM, 2016). O plasma rico em plaquetas (PRP) representa uma abordagem adicional, uma vez que demonstrou alguma promessa na regeneração óssea (SYS et al., 2011). Em uma ampla revisão sistemática que analisou discutiu o papel do PRP no aumento da regeneração óssea com a finalidade de fusão espinhal (ELDER et al., 2015), os autores encontram muitos resultados heterogêneos tanto nos estudos pré-clínicos quanto nos clínicos com relação aos métodos de preparação do PRP, métodos de ativação plaquetária e proporção dos fatores de crescimento em cada método. No entanto, destaca que os estudos que utilizaram sistemas fechados de preparação de PRP (HEE et al., 2003; LOWERY; KULKARNI; PENNISI, 1999) permitem um controle melhor da concentração final das plaquetas e aqueles que alcançaram concentração entre 4,9 e 5,7 vezes a basal, obtiveram melhores resultados com relação ao regenerado ósseo. Ao término da revisão, os autores concluíram que ainda não há dados suficientes para recomendarem o amplo uso do PRP nas cirurgias de artrodese da coluna e sugerem maior padronização nos protocolos de preparação do PRP para facilitar a comparação dos estudos e obtenção de dados mais consistentes.

4.2.4 Osteotomias

As osteotomias da tíbia ou do fêmur são utilizadas frequentemente para tratamento de artrose medial do joelho (WANG et al., 2018), nos tratamentos de lesões condrais (KUMAGAI et al., 2018) e como adjuvantes no tratamento das lesões ligamentares do joelho (HELITO et al., 2019). São cirurgias que possuem baixas taxas de complicação do ponto de vista de consolidação óssea (GIUSEFFI; REPLOGLE; SHELTON, 2015). O osso ílaco é considerado como o padrão-ouro em relação ao tipo de enxerto utilizado no foco da osteotomia, no entanto frequentemente os pacientes apresentam morbidades no sítio doador (KURIEN; PEARSON; SCAMMELL, 2013). Por isso, o uso de PRP injetado no foco da osteomia poderia ajudar na aceleração da consolidação óssea e diminuir a necessidade da retirada do enxerto do ílaco (LEE et al., 2014). No entanto, os resultados do uso do PRP para

melhorar ou acelerar o processo de consolidação não foram significativos quando usados isoladamente (D'ELIA et al., 2010) ou em conjunto com a terapia com células-tronco (KOH et al., 2014), mesmo tendo interferido na melhora funcional e das dores dos paciente.

4.2.5 Fraturas

O osso tem uma grande capacidade de reparação e regeneração em resposta a lesão. Uma série de estudos tem se concentrado em como o PRP afeta osteoblastos, osteoclastos e células-tronco osteoprogenitoras mesenquimais (CANBEYLI et al., 2018; SZPONDER et al., 2018; XARCHAS et al., 2017). Segundo HSU et al. (2014), o PRP demonstrou propriedades osteogênicas em estudos in vitro (YU et al., 2017) e pré-clínicos (FAILLACE et al., 2017; GUNAY et al., 2017), entretanto, relatos clínicos não foram tão promissores.

Em um estudo observacional prospectivo envolvendo fusões de 123 pés e tornozelo em 62 pacientes com fatores de risco para não união, o PRP isolado foi usado em 67 procedimentos, e PRP mais enxerto ósseo foram usados em 56 procedimentos. Como a taxa de não-união de 6% para todos os pacientes estava abaixo dos resultados históricos, os autores concluíram que o PRP pode ser benéfico nessa população de pacientes (BIBBO; BONO; LIN, 2005). Em outro estudo clínico, Kitoh et al. (2007) relataram uma série de casos de acondroplasia tratados com distração osteogênica e concluíram que no grupo PRP houve encurtamento do período de tratamento pela aceleração do novo regenerado ósseo, principalmente no fêmur, e com menos complicações.

Atualmente, existem evidências clínicas limitadas que demonstram quaisquer efeitos benéficos do uso do PRP em aplicações de reparo ósseo. As evidências disponíveis indicam que o PRP não é eficaz isoladamente ou como adjuvante do enxerto ósseo local no tratamento das fraturas (HSU, W. K. et al 2013). A falta de evidências dos estudos clínicos pode ser explicada, em parte, mais uma vez por causa da falta de padronização dos métodos de preparação do PRP e não por causa da ineficácia do intrínseca ao PRP. Isso por que o racional do aumento de fatores de crescimento no foco de fraturas é muito robusto e também por que os estudos em animais são consistentes.

4.3 Uso do PRP no tratamento das tendinopatias

4.3.1 Tendinopatias crônicas

A epicondilite do cotovelo, caracterizada por falha do mecanismo normal de reparo do tendão, é uma doença comum que leva à dor crônica e à diminuição da função nas atividades da vida diária. Embora as recomendações de tratamento variem de órtese, fisioterapia e injeções de esteróides a desbridamento artroscópico ou aberto, alguns pesquisadores indicaram que a entrega local de mediadores humorais pode melhorar a cicatrização do tendão e levar a melhores resultados clínicos (HSU et al., 2013)

Mishra e Pavelko publicaram o primeiro uso humano de PRP para tendinose de cotovelo severa crônica, em um estudo piloto prospectivo e controlado realizado com 140 pacientes (MISHRA; PAVELKO, 2006). Eles encontraram uma melhora significativa nos escores de dor e cotovelo dos pacientes tratados com PRP em comparação com os pacientes do grupo controle tratados com injeção de bupivacaína / epinefrina, oito semanas após o tratamento dor e pode ser uma alternativa terapêutica antes da intervenção cirúrgica. Essas melhorias foram mantidas por 25 semanas no momento da publicação. Recentemente, o mesmo grupo relatou a maior série de pacientes na literatura com 230 casos crônicos de cotovelo de tenista, e eles ofereceram que o PRP enriquecido de leucócitos é seguro e resulta em melhoras clinicamente significativas, em comparação com um grupo controle ativo (MISHRA et al., 2014).

Embora a relação custo-eficácia do tratamento não seja clara, a evidência clínica sugere que a injeção local de PRP contendo leucócitos pode ser benéfica para pacientes com epicondilite crônica do cotovelo refratária ao tratamento padrão não-cirúrgico. No entanto, os resultados do tratamento do PRP de outras tendinopatias crônicas não são tão claros (HSU, 2014).

Em estudo clínico randomizado com 50 pacientes que comparou injeções subacromiais de dipropionato de betametasona com injeções de PRP para o tratamento do impacto do manguito rotador, os autores concluíram que ambos os tratamentos foram eficazes para redução da dor e melhora da função dos ombros nos primeiros 03 meses pós tratamento (BARRETO et al., 2018).

Em uma revisão sistemática realizada por Filardo et al. (2018), resumiu os resultados e as indicações do uso do PRP no tratamento das tendinopatias. Segundo esta revisão, os tendões patelares parecem se beneficiar das injeções de PRP, enquanto que no tendão de Aquiles, a aplicação de PRP não é indicada nem como uma abordagem conservadora nem como um reforço no tratamento cirúrgico. A tendinopatia lateral do cotovelo mostrou melhora na maioria dos estudos de alto nível, mas a falta de superioridade comprovada com relação às injeções de sangue mais simples ainda questiona seu uso na prática clínica. Ou seja, ainda são necessários mais estudos para se conseguir provar na prática clínica o que já se observou em estudos experimentais.

4.3.2 Reparo do Tendão de Aquiles

A maioria dos tendões tem a capacidade de cicatrizar após uma lesão, mas o tecido de reparo é funcionalmente inferior ao tecido normal, além disso, o tecido cicatricial possui maior risco de nova lesão (AKYOL; HINDOCHA; KHAN, 2015; MOLLOY; WANG; MURRELL, 2003). A má vascularização parece ser a principal razão para essa capacidade de cicatrização limitada (PUFE et al., 2005; REES; STRIDE; SCOTT, 2014). O tratamento das lesões tendíneas, seja tendinopatias primárias traumáticas ou degenerativas, é frequentemente dificultado por descrições contraditórias das alterações patológicas subjacentes, com um repertório limitado de tratamentos bem-sucedidos e baseados em evidências. Neste cenário, as estratégias de tratamento com o uso de plasma rico em plaquetas, pode melhorar a cicatrização dos tendões (DE MOS et al., 2008). Estudos pré-clínicos e clínicos na literatura apoiam os efeitos positivos do PRP no tratamento de lesões e distúrbios tendinosos (ANITUA et al., 2005; FILARDO et al., 2018).

As rupturas do tendão de Aquiles podem estar associadas à recuperação prolongada e complicações pós-operatórias, como a re-ruptura, devido ao pobre ambiente vascular que envolve o reparo (HSU et al., 2013). Em um estudo de caso-controle envolvendo 12 atletas que tiveram reparo agudo do tendão de Aquiles, os pacientes que receberam uma preparação rica em fatores de crescimento ao redor das fibras do tendão demonstraram uma recuperação da amplitude de movimento e do tempo de retorno para corrida, significativamente, mais rápida (SÁNCHEZ et al., 2007).

Em um estudo clínico randomizado controlado, 36 pacientes com ruptura aguda do tendão de Aquiles foram tratados com reparo cirúrgico da lesão, sendo que em um dos grupos houve acréscimo da injeção do PRP no paratendão e no outro grupo não. Os pacientes foram seguidos por 24 meses e os autores concluíram o grupo PRP alcançou níveis funcionais do tornozelo mais elevados e menores níveis de dor que o grupo controle. Desta forma, sugerem que o PRP pode servir como um reforço biológico nas cirurgias de reparo da ruptura do tendão de Aquiles, melhora dos resultados funcionais a curto e médio prazo (ZOU et al., 2016).

Um outro estudo clínico com maior poder estatístico e evidência está sendo realizado com o objetivo de avaliar a eficácia e mecanismo do PRP em pacientes com ruptura aguda do tendão de Aquiles. Trata-se de um ensaio clínico multicêntrico controlado randomizado com um total de 230 pacientes com diagnóstico da lesão e coordenados por autores ingleses. Enquanto esses trabalhos mais robustos não apresentam seus resultados, a recomendação do uso clínico do PRP como tratamento ou como adjuvante ainda permanece fraca.

4.3.3 Reparo do tendão patelar

A tendinopatia patelar é muito comum em pacientes que se queixam de dor anterior no joelho. A sua etiologia ainda não é clara, mas a neovascularização parece desempenhar um papel relevante. Diferentes tratamentos têm sido propostos ao longo do tempo, desde a reabilitação até injeções de plasma rico em plaquetas, mas não há acordo sobre o melhor protocolo de tratamento (KRUCKEBERG et al., 2017; ROSSO et al., 2015).

A análise histológica após a injeção de PRP no tendão patelar demonstrou aumento dos níveis de síntese de colágeno tipo I e tipo III na fase inicial da cicatrização tendínea, consistente com reparo e remodelação tendínea (KAJIKAWA et al., 2008).

Os fatores de crescimento e outros ativos biológicos do PRP podem promover a cicatrização tecidual por meio da regulação da fibrose e da angiogênese. Além disso, o PRP é considerado seguro devido à sua natureza autóloga e sem quaisquer complicações importantes relatadas com o uso a longo prazo. Portanto, a terapia com PRP pode ser uma opção no tratamento de danos excessivos do tendão patelar, como a tendinopatia crônica (JEONG et al., 2014).

O Instituto de Pesquisa Steadman Philippon (Vail, EUA), publicou uma nota de técnica cirúrgica para tratamento de tendinopatia patelar recalcitrante que consiste em tenotomia aberta do tendão patelar, desbridamento, reparo e acréscimo do plasma rico em plaquetas (KRUCKEBERG et al., 2017), porém os resultados desta técnica ainda não foram publicados.

Ainda existem poucos estudos que analisem o papel do PRP nas cirurgias de reparo do tendão de Aquiles.

4.3.4 Reparo de manguito rotador

A prevalência de ruptura do manguito rotador é de 20,7% na população geral e aumenta para 50% entre os pacientes com mais de 80 anos (YAMAMOTO et al., 2010). Embora o reparo artroscópico do manguito rotador esteja associado à melhora funcional significativa a taxa de re-ruptura varia de 8% a 94% (BURKS et al., 2009; COLE et al., 2007; MALAVOLTA et al., 2014a; SOBHY et al., 2018).

A deficiência da integração tendão-osso é considerada uma causa relevante de re-rupturas (DEPRÉS-TREMBLAY et al., 2016). Após o reparo, o manguito rotador não recupera suas características histológicas originais, mas sua fixação depende da formação de tecido cicatricial, o qual apresenta menor resistência biomecânica (HUEGEL; WILLIAMS; SOSLOWSKY, 2014). Uma vez que o PRP é uma fonte adicional de fatores de crescimento e o mesmo tempo estudos em animais sugerem que pode ser um adjuvante seguro para o reparo do manguito rotador (BECK et al., 2012), o plasma rico em plaquetas tem sido usado no tratamento destas lesões tendíneas na tentativa de melhorar os resultados clínicos de dor (D'AMBROSI et al., 2016), função do ombro (MALAVOLTA et al., 2014a; WALSH et al., 2018) e de taxas re-ruptura (BARBER, 2018)

Os resultados clínicos dos estudos prospectivos randomizados controlados apresentam-se de forma muito heterogênea. Parte desta divergência, resulta da falta de padronização das metodologias. A primeira diferença está na forma da aplicação, pois alguns aplicam na forma líquida (FLURY et al., 2016; GWINNER et al., 2016; MALAVOLTA et al., 2014a; PANDEY et al., 2016) e outros na forma sólida (BARBER et al., 2011; GUMINA et al., 2012; JO et al., 2013; RODEO et al., 2012; WEBER et al., 2013). Outra diferença é o tipo de ativação do PRP, uns utilizam PRP ativados por trombina (MALAVOLTA et al., 2014b; PANDEY et al., 2016) outros apenas o PRP

(FLURY et al., 2016; GWINNER et al., 2016). Outra diferença observada foi a variável dependente avaliada, por exemplo, uns estudos enfatizaram a melhora dos níveis de dor (D'AMBROSI et al., 2016), outros a melhora nos escores funcionais (COLE et al., 2007; RODEO et al., 2012), outros avaliaram o custo benefício do uso do PRP (VAVKEN et al., 2015). Walsh et al. (2018) analisaram entre outras coisas o grau de força muscular isocinética durante o processo de reabilitação. E uma grande quantidade de autores de analisaram as taxas de re-ruptura do tendão do manguito rotador.

Em 2018, Barber (2018), publicou uma ampla revisão sistemática, na qual analisou diversos estudos clínicos randomizados controlados sobre o uso do PRP como adjuvante ao processo de reparo do manguito rotador. O autor destacou a heterogeneidade dos resultados clínicos encontrados. Ressalta que o PRP é um produto promissor quanto a melhora da cicatrização do tendão. De acordo com Barber, existe uma clara superioridade dos PRP sólidos em relação aos PRP líquidos, uma vez que os líquidos liberam os fatores de crescimento nas primeiras horas após sua ativação, diferente dos sólidos que liberam lentamente os seus fatores por vários dias. Outro aspecto destacado é a presença de altos níveis de leucócitos e ativação por trombina, ambos os quais podem ser deletérios à cicatrização do tendão. O autor completa sua análise, chamando a atenção para os trabalhos que relatam resultados ruins do uso do PRP, baseados apenas no seguimento clínico por exames de imagens de ressonância. Essa avaliação fica com viés de aferição, pois o tecido cicatricial do tendão sempre será pior que o do tecido natural, mas não significa que não houve melhora clínica do paciente.

Utilizando uma metodologia mais próxima do recomendado para os estudos clínico do PRP versus lesão do manguito, Jo et al. (JO et al., 2015), acompanharam por 2 anos, 74 pacientes com lesão do manguito rotador tratados com reparo artroscópico isolado e com artroscopia mais PRP. O PRP utilizado foi o gel/sólido, pobre em leucócitos e com baixa taxa de ativação. Não houve diferença em relação ao nível da dor, função e nem velocidade de cicatrização do tendão entre os grupos avaliados. No entanto, o grupo que recebeu o PRP apresentou menor taxa de re-ruptura do tendão, além de apresentarem melhor qualidade do tecido cicatricial. Resultados esses, semelhantes aos encontrados por Gumina et al. (GUMINA et al., 2012), em um estudo realizado anteriormente com 80 pacientes.

Diante do exposto na revisão sistemáticas e nos trabalhos clínicos controlados, percebe-se que o PRP pode desempenhar um importante papel no tratamento adjuvante das lesões do manguito.

4.4 Lesões ligamentares

4.4.1 Tratamento não cirúrgico de lesões ligamentares – Entorse do tornozelo

Devido à rica fonte de fatores de crescimento, a administração do PRP tem sido sugerida, no contexto do tratamento de lesões agudas dos tecidos moles (ligamentos, tendões e músculos) e poderia proporcionar uma melhora na cicatrização, facilitando assim um retorno precoce aos esportes (SILVA; SAMPAIO, 2009). A cicatrização de ligamentos é tipicamente caracterizada por uma resposta inflamatória inicial que está associada ao influxo de fatores como PDGF e TGF- β (em 2 dias), resultando em angiogênese (2 a 3 dias) e síntese de colágeno (3 a 5 dias) (ANDARAWIS-PURI; FLATOW; SOSLOWSKY, 2015; NORELLI et al., 2018). Como o PRP contém esses fatores críticos de crescimento que podem auxiliar na resposta inflamatória, sua utilidade pode ser maior quando administrada no início do período de cicatrização (LI; HUA, 2016).

Um tipo de lesão comum atendida nas emergências é a entorse do tornozelo, a qual, comumente, lesiona o ligamento fíbulo-talar anterior e o fíbulo-calcâneo (WATERMAN et al., 2010). Neste contexto, o PRP tem surgido como uma alternativa de tratamento para estes casos (LE et al., 2018).

No entanto, ainda existem poucos dados de alto nível que analisam as injeções de PRP nas entorses de tornozelo. Até o momento, apenas 02 ensaios clínicos randomizados e controlados foram publicados (LAVER et al., 2015; ROWDEN et al., 2015). Rowden et al. (2015) realizaram um ensaio clínico randomizado duplo-cego controlado em 33 pacientes com entorses agudas de tornozelo atendidos na emergência comparando injeções de LR-PRP guiadas por ultrassom com anestésico local versus injeção de solução salina normal com anestésico local. As injeções foram realizadas adjacentes ao ligamento lesionado, se visualizadas ao ultrassom ou, caso o contrário, foram injetadas no local de máxima sensibilidade. Para todos os pacientes, foi colocada uma imobilização gessada com restrições de descarga de peso por 3 dias. A medicação para a dor foi dada a critério do médico. Os desfechos primários

foram escore de dor e função no dia 0, dia 3 e dia 8. Os pesquisadores descobriram que não houve diferença estatística no escore de dor ou função entre os dois grupos. Laver et al. (2015) randomizaram 16 atletas de elite com diagnóstico de entorse de tornozelo com lesão do ligamento tibiofibular ântero-inferior, tratados com injeção de LP-PRP guiada por ultrassonografia na apresentação inicial com uma injeção repetida 7 dias depois em conjunto com um programa de reabilitação, versus programa de reabilitação sozinho. Os desfechos primários foram medidos por estudos de retorno ao esporte e de imagem dinâmica. Todos os pacientes receberam o mesmo protocolo de reabilitação e obedeceram aos mesmos critérios de retorno ao esporte. O estudo descobriu que o grupo LP-PRP voltou a jogar em período de tempo mais curto (40,8 dias) em comparação com o controle (59,6 dias, $P < 0,006$). Apenas 1 paciente apresentou dor residual após voltar a jogar no grupo PRP, enquanto 5 pacientes apresentaram dor residual no controle. Nenhuma diferença significativa foi observada nos estudos de imagem dinâmica em rotação externa entre os dois grupos 6 semanas após a lesão.

Então, as injeções de PRP podem ser úteis em entorses altas de tornozelo para reduzir o tempo de retorno ao esporte e diminuir a incidência de dor residual em atletas de alto rendimento. No entanto, devido à quantidade limitada de evidências de alto nível, o uso de injeções de PRP não pode ser rotineiramente recomendado para entorses de tornozelo.

4.4.2 Fasceíte plantar

A fasceíte plantar é uma causa comum de dor no calcanhar, que frequentemente resulta em morbidade significativa. Tem havido várias opções de tratamento que são usadas para a fasceíte plantar, incluindo drogas anti-inflamatórias não-esteroides, órteses, fisioterapia e injeções de esteroides (CHEN et al., 2018; ENGGANANUWAT; KANLAYANAPHOTPORN; PUREPONG, 2018; LEWIS; WRIGHT; MCCARTHY, 2015).

Vários ensaios clínicos randomizados avaliaram a injeção de PRP no manejo da fasceíte plantar crônica (MAHINDRA et al., 2016; SHETTY et al., 2014; VAHDATPOUR et al., 2016). Embora a atual terapia padrão de injeção após falha do manejo mais conservador tenha sido uma injeção local de corticosteroide, muitas vezes requer múltiplas injeções que podem estar associadas à atrofia da gordura ou

à ruptura da fáscia plantar (NEUFELD; CERRATO, 2008). O potencial do PRP como tratamento de injeção local atenua esses efeitos. preocupações. Três meta-análises recentes (LING; WANG, 2018; SINGH et al., 2017a; YANG et al., 2017) avaliaram injeções de PRP contra injeções de corticosteroides, concluindo que as injeções de PRP eram uma alternativa viável às injeções de corticosteroides com relação à eficácia, com alguns estudos demonstrando superioridade do PRP. •

As injeções de PRP são um tratamento efetivo para melhorar a dor e a função na fascíte plantar crônica e podem ser superiores aos corticosteroides, especialmente considerando as complicações de múltiplas injeções de corticosteroides que não estão associadas ao PRP (LE et al., 2018).

4.4.3 Reconstrução do ligamento cruzado anterior

A reconstrução do ligamento cruzado anterior (LCA) tem sido tradicionalmente considerada um procedimento bem-sucedido, com excelentes resultados a longo prazo e satisfação do paciente. O sucesso da cirurgia do ligamento cruzado anterior (LCA) não depende somente de fatores técnicos (por exemplo, colocação do túnel do enxerto e fixação do enxerto), mas também cicatrização biológica do enxerto do LCA. Estes processos seriam: (1) integração osteoligamentar do enxerto nos túneis tibial e femoral, (2) maturação da porção articular do enxerto e (3) e redução da dor no sítio doador do enxerto. A progressão adequada de todos esses processos é necessária para a obtenção de força biomecânica ideal e o retorno à atividade esportiva (DI MATTEO et al., 2016).

O remodelamento do enxerto pode ser acelerado pelas ações mais dos fatores de crescimento específicos do que a injeção genéricas de PRP. Dentre os fatores, o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento transformador beta (TGF- β) tem mostrando os resultados mais significativos na cicatrização do enxerto, no entanto ainda são necessários estudos mais robustos para se desenhar este modelo biológico antes que uma conclusão definitiva possa ser alcançada (BISSELL et al., 2014).

O ambiente biológico intra-articular apresenta desafios à cicatrização tecidual que podem levar a resultados abaixo do ideal. Esse ambiente anatômica intra-articular além de ser pouco vascularizado, produz o líquido sinovial contendo proteases que previnem a formação de coágulos de fibrina, estes, normalmente, são necessários

para o processo inicial da cicatrização da lesão, e ao mesmo tempo ele pode não fornecer fatores de crescimento suficientes para a cicatrização (MURRAY et al., 2007).

Com o objetivo de estudar o efeito das injeções de PRP na redução da dor no sítio doador do enxerto patelar, dois estudos (CERVELLIN et al., 2012; DE ALMEIDA et al., 2012) foram direcionados para investigar a questão da cicatrização do sítio doador.

No estudo liderado por de Almeida et al. (2012) dois grupos de pacientes (15 e 12, respectivamente) foram randomizados para receber ou não o PRP após a coleta do tendão patelar (osso-tendão-osso). Um total de 20–40mL de PRP foram aplicados localmente e, em seguida, o peritendíneo foi suturado. As avaliações clínicas e de ressonância magnética foram realizadas até 6 meses após a operação. Os autores descobriram que a injeção do PRP conseguiu reduzir de forma significativa a área da fenda do tendão patelar em relação ao grupo controle e também reduziu a reação de dor no pós-operatório no grupo PRP. No entanto, na avaliação clínica final, não houve diferença estatística intergrupos nos questionários utilizados ou no teste de força muscular isocinético.

No artigo de Cervellin et al. (2012), 40 pacientes foram incluídos e divididos em dois grupos de tratamento da mesma maneira. No seguimento de um ano, o grupo PRP mostrou resultados clínicos estatisticamente superiores quando avaliados pelo escore VISA³. Embora não tenha sido significativo, houve uma melhor na consolidação óssea quando analisada por exames de ressonância magnética, em ambos os sítios de defeito patelar e tibial (85% dos pacientes no PRP versus 60% no grupo controle).

Com relação ao estudo da maturação e da osteointegração do enxerto, os estudos não observaram diferença estatística após a meta-análise de diversos resultados (ANDRIOLO et al., 2015).

Mais estudos são necessários para investigar o efeito do PRP na integração do enxerto do LCA, maturação e dor no local doador. No entanto, neste momento, os estudos não demonstraram efeito clínico significativo do PRP na integração ou

³ O escore VISA foi projetado especificamente para quantificar a função do joelho em indivíduos com tendinopatia patelar, e mostrou-se ser uma medida confiável e válida (VISENTINI et al., 1998).

maturação do enxerto, mas estudos limitados mostraram resultados positivos na diminuição da dor no local doador do tendão patelar (HSU et al., 2013).

4.5 Lesões musculares

O uso de PRP no tratamento de lesões musculares tem, nos últimos anos, despertado muito interesse para estudos. Semelhante à cicatrização do tendão, as etapas da cicatrização muscular envolvem a resposta inflamatória inicial, seguida da proliferação, diferenciação e remodelação tecidual (DUCHESNE; DUFRESNE; DUMONT, 2017). Em um estudo randomizado, duplo-cego, com 28 pacientes com lesões dos músculos isquiotibiais de grau 2, comparando uma injeção de LR-PRP com um programa de reabilitação, versus apenas reabilitação. O grupo tratado com LR-PRP foi capaz de retornar a jogar em um período de tempo significativamente menor que o grupo controle (média de 26,7 versus 42,5 dias, $P = 0,02$) (A HAMID et al., 2014). Em um ECR duplo-cego (REURINK et al., 2014), os autores avaliaram 80 pacientes, comparando injeções intramusculares de PRP para o tratamento de lesões agudas dos músculos isquiotibiais diagnosticadas na ressonância magnética com injeções placebo de solução salinas, sendo que, todos os pacientes receberam reabilitação padrão. Os pacientes foram acompanhados por 6 meses e os pesquisadores não relataram diferenças significativas entre os grupos no tempo de retorno ao esporte ou nas taxas de novas lesões.

Embora os estudos clínicos não tenham demonstrada a eficácia do PRP no tratamento de lesões musculares, a pesquisa científica básica pode levar a uma melhor compreensão das modalidades de tratamento. O trabalho *in vitro* descobriu que o PRP é capaz de levar à proliferação, mas não à diferenciação de mioblastos (TSAI et al., 2017), um passo necessário na produção de tecido muscular. Além disso, os fatores de crescimento contidos nas plaquetas, especificamente miostatina (ARTAZA et al., 2005) e TGF- β 1 (BURKS; COHN, 2011), são prejudiciais à regeneração muscular. Em estudo *in vitro* (MIROSHNYCHENKO; CHANG; DRAGOO, 2017), os autores encontraram que o tratamento com PPP e LP-PRP submetidos a uma segunda centrifugação para remover as plaquetas, levaram à indução celular de mioblasto para a via de diferenciação muscular. Isto sugere que talvez o tratamento mais benéfico das lesões musculares possa ser com o PPP, embora outros estudos *in vivo* em animais, seguidos de testes clínicos em humanos, sejam necessários para

explorar ainda mais essa opção de tratamento no futuro (A HAMID et al., 2014; BORRIONE et al., 2018; HAMILTON et al., 2015; LE et al., 2018).

4.6 Resumo das recomendações

O PRP continua sendo um tratamento promissor para doenças musculoesqueléticas e dados clínicos até o momento mostraram que o PRP possui um adequado nível de biossegurança. Com base na literatura disponível atual, as seguintes recomendações estão resumidas na Tabela 2:

TABELA 2 - Resumo das recomendações clínicas do uso do PRP para o tratamento das doenças osteoarticulares

Doença	Tipo de PRP	Nível de Evidência
Epicondilite lateral	LR-PRP	Elevado***
Artrose do joelho	LP-PRP	Elevado
Tendinite patelar	LR-PRP	Moderado**
Fasceíte plantar	LR-PRP	Moderado
Sítio doador de enxerto BTB para RLCA	LR-PRP	Moderado
Tendinopatia do MR	LR-PRP	Baixo*
Artrose do quadril	LP-PRP	Baixo
Lesões ligamentares do tornozelo	LP-PRP	Baixo
Tendinopatia do Aquiles	PRP	Ineficaz¥
Lesão muscular	PRP	Ineficaz
Fratura aguda	PRP	Ineficaz
Pseudoartrose	PRP	Ineficaz
Reparo do Manguito Rotador	PRP	Ineficaz
Reparo do tendão de Aquiles	PRP	Ineficaz
Reconstrução do LCA	PRP	Ineficaz

LEGENDA: LR - PRP = PRP rico em leucócitos; LP-PRP = PRP pobre em leucócitos; BTB = osso-tendão-osso; RLCA = reconstrução do ligamento cruzado anterior; MR = manguito rotador

NOTA: *** = Possui numerosa quantidade de evidencia de alta qualidade;

** = Possui quantidade considerável de evidencia de alta qualidade;

* = Possui quantidade insuficiente de evidencia de alta qualidade;

¥ = As evidências mostram que não existe eficácia para o tratamento proposto

FONTE: adaptado de (LE et al. 2018)

5 O USO DOS CORTICÓIDES NA ORTOPEDIA E NA MEDICINA ESPORTIVA

Os corticoides têm potência e solubilidade diferentes, e a solubilidade é inversamente correlacionada com a duração da ação Quadro 5 (SPEED, 2001). Há poucos dados sobre a absorção de corticosteroides de injeções peritendíneas, mas o acetato de metilprednisolona permanece no plasma por uma média de 16 dias após o procedimento. As preparações mais curtas ou de ação moderada, mais solúveis (como hidrocortisona e metilprednisolona) são recomendadas para injeções de tecidos moles porque, em teoria, causam menos efeitos colaterais; drogas com baixa solubilidade (como hexacetonida de triancinolona) não devem ser usadas para injeções de tecidos moles (BMJ, 1995).

QUADRO 5 - Comparação de corticosteróides injetáveis

Preparação	Potência*	Concentração (mg/mL)	Solubilidade (% p/vol)	Dose (mg)
Curta duração:				
Acetato de hidrocortisona	1	25	0,002	5-25
Atuação moderada:				
Acetato de prednisolona	4	25	NA	5-25
Acetato de metilprednisolona	5	20, 40, 80	0,001	5-40
Longa atuação				
Acetonido de triancinolona	5	10, 40	0,004	5-40
Hexacetonido de triancinolona †	5	20	0,0002	NA

LEGENDA: NA = Não se aplica; * = equivalente em hidrocortisona (por mg);
† = A insolubilidade o torna inviável para usar em injeções em tecidos moles.

FONTE: adaptado de (SPEED, 2001)

5.1 O efeito do corticoide nas lesões da cartilagem articulares

A dor associada à OA é o resultado de alterações anatômicas dentro da articulação. A cartilagem é aneural, mas o osso subcondral, periósteo, osteófitos, ligamentos periarticulares, músculo, sinóvia e cápsula articular têm inervação rica. Os

corticosteroides intra-articulares aliviam a dor controlando a inflamação e, em modelos experimentais, mostraram reduzir a presença de sinovite e inflamação (PELLETIER et al., 1987; RAYNAULD et al., 2003). Entretanto, nos joelhos em que já ocorreram alterações anatômicas mais graves, os efeitos anti-inflamatórios dos corticosteroides intra-articulares têm menor probabilidade de serem eficazes. Outro aspecto que diminui a eficácia dos corticosteroides é que a síndrome da dor crônica se desenvolve em pacientes com OA mais avançada (MATZKIN et al., 2017). A dor nociceptiva persistente está associada à sensibilização neurogênica central. Essa sensibilização amplifica os sinais de dor periférica, levando à síndrome da dor crônica, que é improvável que melhore com injeções intra-articulares de corticosteroides (KWOH; HWANG, 2014, p. 159–168).

O primeiro ensaio clínico de injeção intra-articular de corticosteroides foi publicado em 1958 (MILLER; WHITE; NORTON, 1958) e agora é endossado pelo American College of Rheumatology e American Academy of Orthopaedic Surgeons . Estas injeções são normalmente administradas por reumatologistas, cirurgiões ortopédicos e médicos de cuidados primários em um ambiente ambulatorial (RICHARDS et al., 2016). Estas aplicações podem ser indicadas após a falência terapêutica de AINE's e paracetamol, mas alguns pesquisadores sugerem apenas usá-los uma vez a cada três meses por no máximo dois anos devido a efeitos colaterais potencialmente negativos (BERT; BERT, 2014).

O mecanismo fundamental à eficácia anti-inflamatória do corticosteroide é multifatorial, mas geralmente envolve bloqueio da opsonização do antígeno, adesão das células leucocitárias e diapedese das citocinas no endotélio capilar. Os corticosteroides também atenuam os efeitos da IL-1 pela supressão da sua síntese sinovial (PELLETIER; CLOUTIER; MARTEL-PELLETIER, 1993), diminuem a liberação de leucotrienos e prostaglandinas e inibem a síntese das metaloproteinases (provavelmente pela supressão da expressão gênica), diminuindo a síntese de possíveis ativadores fisiológicos, como o ativador do plasminogênio / plasmina ou pelo aumento do nível de inibidores teciduais de metaloproteinases (UTHMAN; RAYNAULD; HARAOU, 2003). Baixas doses de corticosteróides intra-articulares são suficientes para suprimir o catabolismo e normalizar a síntese de proteoglicanos da cartilagem, com isso conseguem reduzir, significativamente, a incidência e gravidade das erosões da cartilagem e formação de osteófito (PELLETIER; MARTEL-

PELLETIER, 1989), isso foi associado a uma diminuição na síntese de estromelisina (tipo de metaloproteinase) pelos condrócitos (PELLETIER et al., 1994).

O uso de injeções de corticosteroides para o tratamento de lesões ortopédicas é altamente controverso há décadas. O uso intra-articular de corticosteroides tem se mostrado prejudicial em modelos animais. Quantidades crescentes de hidrocortisona injetada nos joelhos de coelhos causaram a destruição da cartilagem articular com aumento de fissuras condrais e de cistos subcondrais (BEHRENS; SHEPARD; MITCHELL, 1975). Em outro estudo, injeções intra-articulares de hidrocortisona causaram uma diminuição dose-dependente na produção de matriz de cartilagem (MANKIN; CONGER, 1966).

Os corticosteroides utilizados para injeção intra-articular variam de acordo com a preferência de cada médico, mas geralmente incluem triancinolona, betametasona e metilprednisolona (DOUGLAS, 2012). Existe consenso de que os esteróides proporcionam alívio aos pacientes por aproximadamente uma semana após a injeção. No entanto, HEPPER et al. (2009) publicaram um artigo de revisão de trabalhos com evidência de nível I, investigando a eficácia de esteróides versus injeções de placebo e não houve diferença nos valores da dor avaliada pela escala visual analógica entre os grupos experimental e controle, três a quatro semanas após o tratamento. Além disso, existem efeitos adversos nas injeções de corticosteroides. Hauser (2009) descreveu pela primeira vez evidências radiográficas de destruição da articulação do joelho e cartilagem após várias injeções de corticosteroides. A incidência de infecção articular após administração de corticosteroides é rara, mas pode chegar a um em cada três mil pacientes, com uma taxa de mortalidade associada de aproximadamente 11%. Complicações adicionais conhecidas incluem dor, atrofia da pele, tendinopatia e hiperglicemia sistêmica e estão resumidas no Quadro 6 (FELSON, 2016; SCHUMACHER; CHEN, 2005).

Em um ensaio clínico randomizado, avaliou 140 pacientes com diagnóstico de OA dos joelhos, sendo que metade foram tratados com injeções trimestrais de triancinolona e a outra metade com injeções de solução salina. Os autores concluíram que o grupo que utilizou corticoide apresentou uma perda do volume da cartilagem maior que o grupo controle e ainda não obteve diferença nem quanto à dor e nem função. Desta forma os autores não recomendam o uso de corticoides para o tratamento de paciente com artrose de joelho sintomáticos (MCALINDON et al., 2017).

Seria necessário encontrar outras vias alternativas para o tratamento destes pacientes, sendo que uma delas é justamente o PRP (RICHARDS et al., 2016).

QUADRO 6 - Efeitos colaterais do tratamento com corticosteróides intra-articulares

Efeitos colaterais	Métodos de mitigação
Efeitos sistêmicos	Evitar altas doses e múltiplas injeções simultâneas, utilizar técnicas de injeção precisas
Enfraquecimento / ruptura do tendão, atrofia da gordura, perda de massa muscular, alterações no pigmento da pele	Evitar injeções mal direcionadas.
Artrite séptica	Usar técnica asséptica, suspender a terapia em pacientes de risco.
Danos nos nervos e vasos sanguíneos	Utilizar técnicas de injeção precisas.
Sintomas pós-injeção / sinovite	Evitar a mesma preparação para futuras injeções.
Flushing	Evitar altas doses
Anafilaxia	Tomar cuidadosa história de alergia a medicamentos
Artropatia esteróide	Evitar altas doses e injeções excessivamente frequentes

FONTE: Adaptado de SCHUMACHER; CHEN (2005)

5.2 O uso do corticoide nas lesões musculares e ligamentares

O uso de injeções de corticoide em atletas tem sido realizado há muitos anos. No entanto, por uma variedade de razões, tem havido uma falta de estudos clínicos que efetivamente avaliem essa intervenção. Tradicionalmente, o uso dessas injeções terapêuticas para tratar várias lesões dos tecidos moles tem sido visto como um tabu (ORCHARD, 2001) e a maioria das publicações que citam o uso local destas medicações relacionam o procedimento a uma lesão no final da carreira do atleta (POLSKY, 1998).

Há anos existe um estigma ao redor no uso de injeções de corticoides para o tratamento de lesões ligamentares e musculares. Uma possibilidade do início deste conceito, pode ter tido início com trabalhos da década de 70, como o de Noyes et al. (1975) no qual mostraram que a infecção do corticoide diretamente dentro do

ligamento cruzado anterior (modelo animal) reduz significativamente a sua força, o seu ponto de falha e a sua capacidade de absorção de energia. O conceito foi reforçado por Acevedo e Beskin (1998) quando publicaram uma série de 765 pacientes com fascíte plantar e concluíram que a ruptura da fásia plantar após a injeção de corticosteroide resultou em sequelas de longo prazo difíceis de serem reparadas. Outro trabalho que mostrou altas taxas de ruptura da fásia plantar associadas à injeções de triancinolona foi publicado em 1994 (SELLMAN, 1994). Apesar de todo o histórico negativo do uso extra articular das injeções de corticoide, elas são, frequentemente, usadas tanto para diminuir a dor quanto com o objetivo de curar certas condições. O seu uso clínico é amplo, sendo feito, principalmente, em um consultório ou outro ambiente ambulatorial, com baixas taxas de complicações. Embora a maioria das complicações seja rara e secundária, ainda é importante discutir essas possíveis complicações com os pacientes antes da injeção (HONCHARUK; MONICA, 2016).

O uso de glicocorticoides para lesões musculares é controverso. Em modelos animais, os resultados indicam que os corticosteroides podem ser benéficos a curto prazo, mas causam danos irreversíveis à cicatrização muscular em longo prazo, incluindo estruturas de fibras desordenadas e uma diminuição acentuada na capacidade de geração de força (BEINER et al., 1999). Uma única injeção de dexametasona após lesão muscular em ratos causou reduções na interleucina-1 β e no fator de crescimento transformador- β 1 (TGF- β 1), com melhora da contratilidade nos estágios iniciais de recuperação; nenhum efeito adverso foi observado em longo prazo (HAKIM et al., 2005).

Em uma série de casos de 3 arremessadores de beisebol profissionais com lesões no músculo oblíquo interno (mas sem controles), a injeção guiada por ultrassom de anestésico local e corticoide levou a um alívio significativo da dor em dias, a capacidade de lançar a velocidade máxima dentro de 3 semanas e retornar a jogar em 5 semanas (STEVENS et al., 2010). Resultados positivos também foram relatados com injeção de corticosteroide intramuscular para lesões nos isquiotibiais em jogadores profissionais de futebol americano. Oitenta e quatro por cento dos jogadores com lesões isquiotibiais graves com defeitos palpáveis foram capazes de voltar a jogar sem perder nenhum jogo e com nenhum déficit de força no exame final (LEVINE et al., 2000).

Apesar do corticoide ser utilizado há anos para tratar lesões ligamentares e musculares, as evidências científicas ainda são inconclusivas, mais consideração deve ser dada à experiência do médico e às discussões com o paciente em relação aos objetivos de cada paciente, seu estado de saúde, opções alternativas e complicações associadas (HONCHARUK; MONICA, 2016).

5.3 O uso do corticoide nas lesões de tendão

Os corticosteróides locais são usados para reduzir a inflamação em pacientes com tendinopatias crônicas (BMJ, 1995). No entanto, a inflamação não é uma característica importante em muitas dessas lesões e, se presente, é um componente vital da resposta de cura. Inibir este processo pode resultar em um resultado abaixo do ideal (WONG; HOLLINGER; PINERO, 1996). Além disso há relatos antigos de casos de ruptura de tendões após a injeção de corticoides (GOTTLIEB; RISKIN, 1980; UNVERFERTH; OLIX, 1973). Por isso, mais uma vez é importante observar novos tratamento que interfiram no processo biológico da cura das diferentes tendinopatias e garantam tanto a redução da dor do paciente quanto a integridade do tecido do tendão (BOESEN et al., 2017).

6 LEGISLAÇÃO PARA O USO DO PRP

O uso não-transfusional do Plasma Rico em Plaquetas é regulamentado, no Brasil, pela Gerência de Sangue, Tecidos, Células e Órgãos (GSTCO), da Gerência Geral de Produtos Biológicos, Sangue, Tecidos, Células e Órgãos (GGPS), da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e deve seguir os princípios fundamentais da Política Nacional para Regulamentação de Medicamentos com controle de qualidade e segurança de produção e eficiência comprovada.

A comunidade científica já apresentou volumosa evidência dos benefícios do uso do PRP e seus subprodutos nas mais variadas áreas da medicina. Ainda continua numa busca constante para melhorar os níveis de evidências, para isso, basta observar o número crescente de publicações sobre o tema no PUBMED nos últimos anos.

Na Espanha, por meio da Resolução 1275/2011 (AGENCIA ESPAÑOLA DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS (AEMPS), 2013) e nos EUA, por meio do Código Regulatório Federal 21CFR640.34 (U.S FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA), 2018), suas agências regulamentam, asseguram e controlam a utilização do PRP para fins terapêuticos.

Apesar dos variados fundamentos, sejam eles científicos ou seja pelo suporte legal ancorado em outras agências internacionais, a ANVISA ainda considera o PRP sem comprovado grau de utilidade (GERÊNCIA DE SANGUE, TECIDOS, CÉLULAS E ÓRGÃOS/GERÊNCIA GERAL DE PRODUTOS BIOLÓGICOS, SANGUE, TECIDOS E CÉLULAS/ANVISA, 2015). A Norma Técnica No. 12/2015 da ANVISA que considera os PRP ainda de uso experimental, baseou sua deliberação no Parecer 20/2011 do Conselho Federal de Medicina (CFM), datado de 12 de julho de 2011 e assinado por apenas 01 Conselheiro. Alguns anos depois, o próprio CFM divulgou a Resolução No. 2.128/2015 que ratificou o conceito de que o PRP deve ser limitado à experimentação clínica, conduzidas dentro instituições habilitadas, dentro dos protocolos do sistema CEP/CONEP.

Baseado na Resolução 2.128/2015 do CFM a Agência Nacional de Saúde Suplementar (ANS) divulga o Parecer Técnico nº 04 GEAS/GGRAS/DIPRO/2018 (ANS, 2018), o qual ratifica mais uma vez que o procedimento de aplicação de plasma rico em plaquetas é considerado experimental e aproveita para retirar todas as formas

de preparação do PRP do Rol de Procedimentos com cobertura obrigatória pelas operadoras de planos de saúde.

No Brasil, até o presente momento, só houve liberação do PRP na área odontológica, assegurada pela Resolução 158/2015 (CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA (CFO), 2015), estando as demais áreas limitadas ao estudo experimental.

Os países europeus vêm utilizando o PRP com grande êxito, principalmente em atletas de alta performance, possibilitando um processo regenerativo de lesões bem mais rápida e eficiente. Sendo assim, vê-se que o Brasil necessita de avanços científicos que visem à implementação do PRP, englobando desde sua produção à sua potencial utilização como método minimamente invasivo e que pode beneficiar inúmeras pessoas a alcançar mais do que uma recuperação de uma lesão, mas sua autonomia e dignidade humana.

7 MATERIAIS E MÉTODOS

Esta tese foi dividida em três capítulos: dois estudos clínicos (Artigo 1 e Artigo 2) e uma Patente de Invenção.

7.1 Desenho de estudo

Os dois artigos foram desenvolvidos com metodologias semelhantes e ambos se desenvolveram sob o desenho metodológico de ensaio clínico randomizado, controlado, intervencionista e duplo cego

7.2 População de estudo

Os dois ensaios clínicos foram desenvolvidos com os pacientes atendidos no serviço de ortopedia do Centro de Especialidades Médicas da Universidade Tiradentes (UNITmed) no ano de 2017.

7.2.1 Objeto de estudo – Artigo 1

Pacientes com diagnóstico radiográfico de artrose de joelho.

7.2.2 Objeto de estudo – Artigo 2

Pacientes com diagnóstico clínico de Síndrome do Impacto do Manguito Rotador.

7.3 Alocação, cálculo amostral e randomização

Nos dois estudos os pacientes foram divididos em dois grupos de intervenção, um grupo denominado Corticoide e outro denominado PRP, sendo que no primeiro o fármaco utilizado foi o corticoide e no segundo a injeção foi de Plasma Rico em Plaquetas.

Para o cálculo da amostra de ambos os estudos, foi estipulado o nível de significância bicaudal de 95%, poder (% probabilidade de detecção) de 80%, e

diferença de risco entre os grupos de 33 (Diferença de prevalência = 40%) e razão de alocação (1:1) igual para os grupos, chegando a um valor de 25 sujeitos em cada grupo de intervenção, conforme fórmula descrita por Fleiss et al. (2003), totalizando 50 indivíduos em cada um dos estudos. Os cálculos foram realizados utilizando a plataforma *on-line* OpenEpi.com (DEAN; SULLIVAN; SOE, 2013).

Os pacientes foram organizados por randomização computadorizada em bloco listados, previamente, em cada um dos grupos de intervenção. Para manter a característica de duplo cego, o sangue periférico foi colhido de todos os pacientes. Após identificação do tratamento para o paciente, um dos colaboradores da pesquisa fazia o preparo da injeção a ser usada e a entregava envolta de fita adesiva opaca para o médico responsável pela aplicação. Desta forma, nem o paciente sabia o que estava sendo injetado, nem o médico identificava o que estava sendo aplicado.

7.4 Critérios de inclusão

7.4.1 Critérios de inclusão – Artigo 1

Os critérios de inclusão utilizados foram: idade entre 30 e 90 anos, presença de osteoartrite graus II a IV, segundo a escala de Kellgren e Lawrence (SCHIPHOF; BOERS; BIERMA-ZEINSTRA, 2008), ausência de demais doenças inflamatórias reumáticas, ausência de tratamento anterior com corticoide venoso, injetável ou oral nos últimos 12 meses.

7.4.2 Critérios de inclusão – Artigo 2

Os critérios de inclusão utilizados foram: idade entre 18 e 60 anos, ausência de capsulite adesiva, ausência de rotura completa de manguito rotador visualizada na ultrassonografia, teste de Neer positivo, ausência de demais doenças inflamatórias reumáticas, ausência de tratamento anterior com corticoide venoso, injetável ou oral nos últimos 12 meses.

7.5 Critérios de exclusão

Em ambos os artigos, os critérios de exclusão foram: doença que impossibilitasse seguimento, perda de seguimento, uso de corticoide oral ou venoso durante o seguimento, hemoglobina do sangue periférico, coletado no dia a aplicação, menor que 11g/dl e/ou contagem de plaquetas menor que 150000/mm³.

7.6 Preparo do PRP

Os pacientes, após identificação e avaliação clínica, eram encaminhados para a sala de coleta, onde eram coletados 15 mL de sangue periférico em tubos a vácuo de 5 ml cada, contendo citrato de sódio a 3,2%, por meio de agulha 22G. Os tubos eram posicionados de forma equilibrada nas centrífugas com rotor de ângulo fixo e processado conforme protocolo apresentado por Sonnleitner et al. (2000). Neste, o sangue passava pela 1ª centrifugação (1500rpm/250g por 6 min). A coluna superior era, então, aspirada e submetida a uma 2ª centrifugação (3500rpm/1372g por 15 min), obtendo plasma pobre em plaqueta e o botão eritrócito-plaquetário. Dois terços do volume do PPP era descartado, e o restante era utilizado para suspender o botão eritrócito-plaquetário, formando 3 mL do LP-PRP (pobre em leucócitos) para injeção.

7.7 Injeção do Corticoide

7.7.1 Corticoide – Artigo 1

O corticosteroide utilizado no estudo dos paciente com artrose do joelho foi o hexacetonida de triancinolona (Triancil®, Apsen Farmacêutica, Brasil). A infiltração foi realizada com a administração intra-articular de 2,5 mL do corticoide, na concentração de 20mg/mL, sem agente diluidor.

7.7.2 Corticoide – Artigo 2

No estudo do manguito rotador o corticoide precisou ser alterado para dipropionato de betametasona + fosfato dissódico de betametasona (Diprospan®, Mantecorp-Farmasa, Brasil), pois, o uso da triancinolona que tem solubilidade muito baixa, é proibitivo no tratamento de lesões de tendões, conforme orientado por Speed (2001), devido ao alto risco de ruptura tendínea.

7.8 Avaliação clínica

7.8.1 Avaliação clínica – Artigo 1

Para avaliar resposta terapêutica foram utilizados os questionários KSS (*Knee Society Score*) e WOMAC (*Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index*), validados e padronizados para a língua portuguesa (BELLAMY et al., 1988; SILVA et al., 2012).

O primeiro foi a versão traduzida do KSS (SILVA et al., 2012). Este é um questionário que combina informações subjetivas e objetivas sobre o aspecto funcional do paciente, como a habilidade em caminhar, subir e descer escadas, e as características associadas ao joelho como a dor, estabilidade e amplitude de movimentação. O KSS avalia o quadro clínico do paciente quanto à dor e grau de comprometimento da mobilidade e estabilidade em diversos planos. Assim, quanto maior a pontuação no KSS, mais clinicamente relevante é a resposta terapêutica (DINJENS et al., 2014).

O segundo questionário foi o WOMAC, que contém 17 questões em relação ao grau de dificuldade para realizar atividades da vida diária, a fim de avaliar a funcionalidade do paciente, dor e rigidez articulares. Quanto maior o escore, pior a função (BELLAMY et al., 1988; OLIVEIRA et al., 2012). Neste questionário, foi utilizado como critério de diferença clínica relevante uma possível redução de 16% do valor total do WOMAC, realizado antes da intervenção (HMAMOUCI et al., 2012).

Os pacientes foram avaliados por meio desses questionários, antes do procedimento, após 1 mês e após 6 meses da infiltração.

7.8.2 Avaliação clínica – Artigo 2

Para avaliar resposta terapêutica foram utilizadas as ferramentas: questionário DASH (*The Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand*), (WAJNGARTEN; CAMPOS; GARCIA, 2017), utilizado para avaliar as propriedades psicométricas de pacientes com doenças do ombro, geralmente em conjunto com outros instrumentos; Constant Shoulder Score (VROTSOU et al., 2018), utilizado para avaliar a incapacidade funcional e as propriedades psicométricas, principalmente as doenças

subacromiais do ombro; *UCLA Shoulder Rating Scale* (VASCELLARI et al., 2018), utilizado para avaliar a dor e função do ombro em paciente com doenças desta articulação.

Os pacientes foram avaliados antes do procedimento, e depois de 1 mês, 3 meses e 6 meses da intervenção.

7.9 Análise estatística

As informações dos estudos alimentaram um banco de dados construído no *software SPSS™ for Windows*, versão 21.0. As características demográficas foram apresentadas em frequências, percentuais e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%) para as variáveis categóricas e em média e desvio-padrão ou mediana com percentis 25 e 75 para as variáveis contínuas.

A comparação entre médias foi realizada por meio de métodos paramétricos (testes *t student* e ANOVA) ou não paramétricos (Kruskal-Wallis ou Mann-Whitney) para variáveis contínuas e χ^2 (qui-quadrado) para variáveis categóricas, conforme o tipo de distribuição assumida pela variável. Para análise dos fatores associados à variável desfecho, foram determinadas as prevalências com suas respectivas razões. Em seguida utilizou-se um modelo logístico para determinação das razões de chances (*Odds ratio*) simples e ajustadas. Foi utilizado o Tukey's Multiple Comparison Test para a avaliação entre as terapias nos períodos selecionados no primeiro estudo. Já, no segundo estudo, para avaliar as comparações entre os 4 momentos, foi aplicado o teste de Anova de 1 fator com um pós-teste de Bonferroni. O nível de significância estatística considerado, para todos os testes, foi $p=0,05$, em análises univariadas.

7.10 Comitê de ética

Os dois estudos foram protocolados e aprovados para execução pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Tiradentes- CEP/UNIT Anexo I e II.

REFERÊNCIAS

Automatic citation updates are disabled. To see the bibliography, click Refresh in the Zotero tab.

CAPÍTULO II – ARTIGO 1

Artigo publicado na Revista Brasileira de Ortopedia, disponível online a partir de 26 de fevereiro de 2018, Rev Bras Ortop. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.rbo.2018.01.001>. A revista possui classificação B1 na área de avaliação Interdisciplinar do Qualis-Períodicos/CAPES e fator de impacto de 0,110.

EFEITO COMPARATIVO ENTRE A INFILTRAÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS E O USO DE CORTICOSTEROIDES NO TRATAMENTO DE OSTEOARTRITE DO JOELHO: ESTUDO CLÍNICO PROSPECTIVO E RANDOMIZADO

Comparative effect between infiltration of platelet-rich plasma and the use of corticosteroids in the treatment of knee osteoarthritis: A prospective and randomized clinical trial

Marianna Ribeiro de Menezes Freire¹, Philippe Mota Coutinho da Silva¹, Arthur Rangel Azevedo², Denison Santos Silva³, Ronald Bispo Barreto da Silva³, Juliana Cordeiro Cardoso³

¹ Universidade Tiradentes, Faculdade de Medicina, Aracaju, SE, Brasil

² IAMSPE, São Paulo, SP, Brasil

³ Universidade Tiradentes (UNITMED), Aracaju, SE, Brasil

Estudo realizado no Centro de Especialidades Médicas da Universidade Tiradentes (UNITMED). Aracaju, SE, Brasil.

Correspondente*

Rua Álvaro Brito, 145, 13 de julho. Aracaju, Sergipe, Brasil. E-mail:
mari_freire_@hotmail.com

EFEITO COMPARATIVO ENTRE A INFILTRAÇÃO DE PLASMA RICO EM PLAQUETAS E O USO DE CORTICOSTEROIDES NO TRATAMENTO DE OSTEOARTRITE DO JOELHO: ESTUDO CLÍNICO PROSPECTIVO E RANDOMIZADO

Comparative effect between infiltration of platelet-rich plasma and the use of corticosteroids in the treatment of knee osteoarthritis: A prospective and randomized clinical trial

RESUMO

Objetivos: O objetivo do presente estudo foi analisar a eficácia do uso de PRP, obtido do sangue periférico e autólogo dos pacientes, na redução das queixas álgicas e melhora funcional dos pacientes portadores de osteoartrite de joelhos, em comparação ao tratamento padrão com injeção de corticosteroides de depósito, como a triancilonola. **Métodos:** Os pacientes foram acompanhados clinicamente na consulta pré-infiltrativa, com avaliação quantitativa através das escalas KSS, WOMAC Score e Kellgren/Lawrenc. Além disso, foram reavaliados com as mesmas escalas após um mês e seis meses de intervenção com 2,5 ml de acetato de Triancinolona ou 5 ml de PRP. O estudo foi realizado em 50 pacientes portadores de osteoartrite de joelhos atendidos em Centro de Especialidades Médicas, divididos em amostras equivalentes randomizadas para cada terapia. **Resultados:** No presente estudo, verificamos a redução dos valores em escalas álgicas, como o WOMAC score, e elevações das pontuações em escalas funcionais, como o KSS, evidenciadas em 180 dias ao utilizarmos o PRP, uma terapia realizada a partir do sangue autólogo do paciente e com menos efeitos colaterais. **Conclusão:** Embora ambas as terapias com PRP e corticosteroides tenham se mostrado eficazes na redução das queixas álgicas e na recuperação funcional, houve diferença significativa entre as terapias aos 180 dias. De acordo com os resultados obtidos, o PRP demonstrou-se mais duradouro em 180 dias para o tratamento da osteoartrite de joelhos.

Palavras-chave: Osteoartrite, Corticoterapia, Plasma rico em plaquetas

ABSTRACT

Objectives: The objective of the present study was to analyze the efficacy of PRP, obtained from the peripheral and autologous blood of the patients, in the reduction of pain complaints and functional improvement of the patients with osteoarthritis of the knees, compared to the standard treatment with corticosteroid injection such as triancilonola. **Methods:** Patients were followed up clinically at the pre-infiltrative visit, with quantitative evaluation using the KSS, WOMAC Score and Kellgren / Lawrenc scales. In addition, they were reevaluated with the same scales after one month and six months of intervention with 2.5 ml Triamcinolone acetate or 5 ml PRP. The study was performed on 50 patients with knee osteoarthritis treated at the Medical Specialty Center, divided into randomized equivalent samples for each therapy. **Discussion:** According to the results obtained, in the pre-test study and until the end of the analysis, although op was significant in both therapies ($p < 0.05$), PRP obtained better long-term therapeutic results, as confirmed the data found in the current literature on the subject. **Results:** In the present study, we verified the reduction of pain scores, such as the WOMAC score, and elevations of functional scales, such as KSS, evidenced in 180 days when using PRP, a therapy performed from the autologous blood of the patient and with fewer side effects. **Conclusion:** Although both PRP and corticosteroid therapies have been shown to be effective in reducing pain complaints and functional recovery, there was a significant difference between therapies at 180 days. According to the results obtained, PRP was shown to be more durable within 180 days for the treatment of osteoarthritis of the knees.

Keywords: Corticosteroids, Osteoarthritis, Platelet-rich plasma

INTRODUÇÃO

A osteoartrite é a doença articular mais comumente encontrada nas populações ocidentais e caracteriza-se por afetar principalmente quadris, joelhos, mãos e pés.^{1,2} É responsável pela incapacidade funcional progressiva e pela presença de diversos fatores etiológicos, como a idade, obesidade, fatores ocupacionais e genéticos, contribuintes para seu surgimento.³

Segundo estudos epidemiológicos em todo o mundo, a prevalência da osteoartrite é positivamente associada com o aumento da idade e ao sexo feminino, numa proporção de 5,3 mulheres para cada 3,6 homens acometidos.^{4,5}

A perda da homeostasia entre a síntese e degradação da matriz cartilaginosa constitui a base fisiopatológica da osteoartrite.⁶ Nesses pacientes, os condrócitos e células sinoviais produzem níveis elevados de citocinas pró- inflamatórias, como a IL-1 β e o TNF- α , que, por sua vez, estimulam metaloproteinases, outras interleucinas (IL-6, IL-8), prostaglandina E2 e óxido nítrico, também estimulado por estresse mecânico.⁷

A progressão das lesões condrais articulares seria a principal causa de dor noturna, rigidez, edema e comprometimento da mobilidade articular, afetando negativamente a qualidade de vida, bem-estar emocional do paciente (especialmente os idosos) e estado geral de saúde.⁸

Os joelhos são as grandes articulações mais comumente afetadas, resultando em sintomas incapacitantes que comprometem a qualidade de vida em aproximadamente 10% das pessoas com mais de 55 anos, um quarto delas severamente acometidas pela imobilidade.^{8,9}

Diversos medicamentos orais para alívio da dor estão disponíveis e são considerados eficazes nas fases precoces da doença. Entretanto, o tratamento sempre deve ser multifatorial, uma vez que a prescrição farmacológica isolada não é suficiente para o controle desejado da osteoartrite.^{1,9}

Os tratamentos através de procedimentos de infiltração são normalmente reservados para pacientes com resposta insatisfatória aos regimes orais.¹⁰ Infiltrações com ácido hialurônico foram usadas por décadas, porém seu uso tem sido desencorajado devido ao alto risco de efeitos adversos e benefício irrelevante quando

comparado às injeções intra-articulares de corticosteroides.^{11,12} Dessa maneira, os corticosteroides injetáveis são amplamente utilizados no tratamento sintomático da osteoartrite de joelhos, entretanto a sua eficácia parece ser limitada a um mês.¹²

A utilização de infiltrado de plasma rico em plaquetas (PRP) é considerado um tratamento regenerativo emergente para a degeneração causada pela osteoartrite, uma vez que a degranulação de plaquetas leva à liberação de diversos fatores de crescimento e citocinas que desempenham um papel crucial na homeostasia articular.¹³ Assim, a utilização de PRP deve promover a quimiotaxia celular, síntese de matriz e proliferação da cartilagem.¹⁴

Recentemente, PRP passou a ser utilizado para o tratamento de osteoartrite de joelhos, entretanto as evidências clínicas ainda não são claras devido à falta de estudos padronizados quanto ao intervalo, volume e frequência de infiltração do plasma.^{15,16}

O objetivo do presente estudo foi analisar a eficácia do uso de PRP, obtido do sangue periférico e autólogo dos pacientes, na redução das queixas álgicas e melhora funcional dos pacientes portadores de osteoartrite de joelhos, em comparação ao tratamento padrão com injeção de corticosteroides de depósito, como a triancilonola.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo é de caráter randomizado, controlado, longitudinal, duplo cego, comparativo, descritivo e analítico. Foi realizado com pacientes portadores de osteoartrite de joelhos atendidos no Centro de Especialidades Médicas UNIT (UNITMED). Os pacientes foram organizados por randomização em bloco, cuja única especificação foi a quantidade equivalente entre os pacientes, e designados para receber o tratamento com plasma rico em plaquetas, compondo o grupo intervenção, ou receber injeção de corticosteroides, compondo o grupo controle.

O número de componentes da amostra foi estimado para que tenha intervalo de confiança de 95%, poder de 80% e diferença entre grupos de 20%, chegando a um valor de 25 pessoas no grupo intervenção, e 25 no grupo controle, totalizando 50 indivíduos. Para manter a característica de duplo cego, sangue periférico foi colhido de todos os pacientes.

Para obtenção do PRP, foi utilizado o protocolo de dupla centrifugação descrito inicialmente por Sonnleitner et al.¹⁷ e validado por Messoria et. al.¹⁸ Nesse protocolo, foram coletados 15 ml de sangue periférico em tubos a vácuo de 5 ml contendo citrato de sódio a 3,2%. Esse material foi enviado para primeira centrifugação, e a coluna superior foi então aspirada e novamente centrifugada, obtendo plasma pobre em plaqueta (PPP) e o botão eritro- plaquetário. Do volume obtido, 2/3 do PPP foi descartado, e o restante foi utilizado para suspender o botão eritro-plaquetário, formando o PRP em 5 ml para solução injetável.

O corticosteroide utilizado foi o acetato de triancinolona (Triancil®, Apsen Farmacêutica, Brasil). A infiltração foi realizada com a administração intra-articular de 2,5 ml do corticoide, na concentração de 20mg/ml, sem agente diluidor.

Ambas as infiltrações foram feitas na região intra-articular súpero-lateral do joelho operado após botão anestésico com 2ml de lidocaína a 2%, sem vasoconstritor. Após injeção, os pacientes permaneceram em decúbito dorsal sem movimentação do membro injetado por 5 minutos.

Após conferir qual tratamento seria realizado para o paciente, seguindo a lista de randomização em bloco previamente gerada, um dos pesquisadores fez o envelopamento da seringa com esparadrapo opaco. Essa seringa foi então entregue para o médico responsável pelas infiltrações, mantendo o mascaramento da intervenção para o paciente e para o médico.

As variáveis analisadas em cada grupo foram as seguintes: Idade, sexo, idade média de diagnóstico, hipertensão, obesidade, diabetes, realização de cirurgia ortopédica prévia em joelho analisado.

Os critérios de inclusão utilizados foram: idade entre 30 e 90 anos, presença de osteoartrite graus II a IV, segundo a escala de Kellgreen e Lawrence¹⁹, ausência de demais doenças inflamatórias reumáticas, ausência de tratamento anterior com corticoide IV, injetável ou oral nos últimos 12 meses e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

Os critérios de exclusão foram: doença que impossibilite seguimento, perda de seguimento, uso de corticoide oral ou IV durante o período de seguimento e hemoglobina menor que 11g/dl, contagem de plaquetas menor que 150000/mm³.

Para avaliar resposta terapêutica foram utilizados os questionários KSS (Knee Society Score) e WOMAC (Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis

Index), validados e padronizados para a língua portuguesa.^{20,21} O primeiro foi a versão traduzida do Knee Society Score (KSS)(20), que consiste num questionário que combina informações subjetivas e objetivas sobre o aspecto funcional do paciente, como a habilidade em caminhar, subir e descer escadas, e as características associadas ao joelho como a dor, estabilidade e arco de movimentação. O KSS avalia o quadro clínico do paciente quanto à dor e grau de comprometimento da mobilidade e estabilidade em diversos planos. Assim, quanto maior a pontuação no KSS, mais clinicamente relevante foi a resposta terapêutica.²² O segundo questionário foi o WOMAC, que contém 17 questões em relação ao grau de dificuldade para realizar atividades da vida diária, a fim de avaliar a funcionalidade do paciente, dor e rigidez. Quanto maior o escore, pior a função.^{21,23} Neste questionário, foi utilizado como critério de diferença clínica relevante uma possível redução de 16% do valor total do WOMAC, realizado antes da intervenção.²⁴

Os pacientes foram avaliados antes do procedimento, após um mês e após 6 meses do ato infiltrativo com esses questionários. A classificação de Kellgren/Lawrence¹⁹ foi utilizada em avaliação pré-infiltrativa por ortopedista e reumatologista experiente.

Estas informações alimentaram um banco de dados construído no *software SPSS for Windows*, versão 21.0. As características demográficas foram apresentadas em frequências, percentuais e respectivos intervalos de confiança de 95% (IC95%) para as variáveis categóricas e em média e desvio- padrão ou mediana com percentis 25 e 75 para as variáveis contínuas.

A comparação entre médias foi realizada através de métodos paramétricos (testes *t student* e ANOVA) ou não paramétricos (Kruskal-Wallis ou Mann- Whitney) para variáveis contínuas e χ^2 (qui-quadrado) para variáveis categóricas, conforme o tipo de distribuição assumida pela variável. Para análise dos fatores associados à variável desfecho, foram determinadas as prevalências com suas respectivas razões. Em seguida utilizou-se um modelo logístico para determinação das razões de chances (*Odds ratio*) simples e ajustadas. Foi utilizado o Tukey's Multiple Comparison Test para a avaliação entre as terapias nos períodos selecionados.

O nível de significância estatística considerado, para todos os testes, foi $p=0,05$, em análises univariadas. A pesquisa assegura a confidencialidade e a privacidade dos profissionais participantes, garantindo a não-utilização das

informações do questionário em prejuízo das pessoas envolvidas. O projeto foi aprovado pelo comitê de ética, seguindo as recomendações orientadas.

RESULTADOS

Os dois grupos estudados apresentaram quantitativo semelhante após a distribuição randômica, ficando alocados 25 pacientes em cada um dos grupos. Após a inclusão no estudo, não houve perda de seguimento ou exclusão de nenhum dos pacientes.

Na análise demográfica da população estudada foi encontrada uma média de 64,15 ($\pm$ 8,02) anos no grupo de pacientes cuja terapêutica foi o PRP e de 60,21 ($\pm$ 5,92) anos no grupo de pacientes cuja terapêutica foi a infiltração com corticosteroides ($p=0,01$). Dentre os indivíduos avaliados, a frequência de pessoas do sexo feminino foi de 84% ($n = 42$).

No presente estudo, 90% dos pacientes encontravam-se entre o grau II e III da escala de KL, sendo que a distribuição entre os grupos está detalhada na tabela 1.

Tabela 1 - Proporção de pacientes avaliados pela escala de Kellgren/Lawrence de acordo com a terapia submetida

Kellgren / Lawrence	PRP (%)	Corticoide (%)
I	-	1 (4)
II	10 (40)	10 (40)
III	11 (44)	14 (56)
IV	4 (16)	-

Com relação às comorbidades, pelos resultados encontrados na tabela 2, pode-se dizer que não há associação entre as comorbidades e a terapia escolhida de acordo com a seleção dos grupos.

Tabela 2 - Comorbidades entre os pacientes selecionados de acordo com a terapia

Comorbidades	PRP (%)	Corticosteroide (%)	P
Obeso	76	88	0,46
Não Obeso	24	12	
HAS	64	68	0,76
Não hipertenso	36	32	
Diabético	24	16	0,48
Não diabético	76	84	

Com relação à evolução da pontuação na escala de Womac no período estudado, a média encontrada nos pacientes que utilizaram corticosteroides variou de 63,93 ($\Delta T = 0$), 30,06 ($\Delta T = 30$) e 47,36 ($\Delta T = 180$) pontos. Comparativamente, as pontuações utilizando a mesma escala em pacientes cuja terapêutica foi o PRP foram encontrados valores médios de 73,94 ($\Delta T = 0$), 21,96 ($\Delta T = 30$) e 32,8 ($\Delta T = 180$) pontos. Esta evolução da queixa álgica pode ser melhor observada na figura 1.

Já em relação ao KSS, os valores médios obtidos no grupo de pacientes infiltrados com corticosteroides foram de 49,96 ($\Delta T = 0$), 70,92 ($\Delta T = 30$) e 66,92 ($\Delta T = 180$) pontos. No grupo dos pacientes tratados com PRP foram encontrados os seguintes valores: 42,44 ($\Delta T = 0$), 75,12 ($\Delta T = 30$) e 75,36 ($\Delta T = 180$) pontos. A evolução da funcionalidade dos pacientes pode ser melhor observada na figura 2.

De acordo com esses resultados, houve diferença significativa com favorecimento da terapia com o PRP em 180 dias em relação as escalas Womac e KSS. Por outro lado, não houve diferença entre os grupos de estudo nos primeiros 30 dias pós-tratamento. Também como demonstrado nas figuras 1 e 2, tanto o grupo corticoide, quanto o grupo PRP evidenciaram melhora significativa na escala de Womac e KSS nos 30 dias e 180 dias pós-infiltração.

Dessa maneira, os resultados obtidos ao se utilizar a terapia com plasma rico em plaquetas demonstrou-se mais duradoura, com recuperação funcional mais evidente e redução das queixas álgicas.

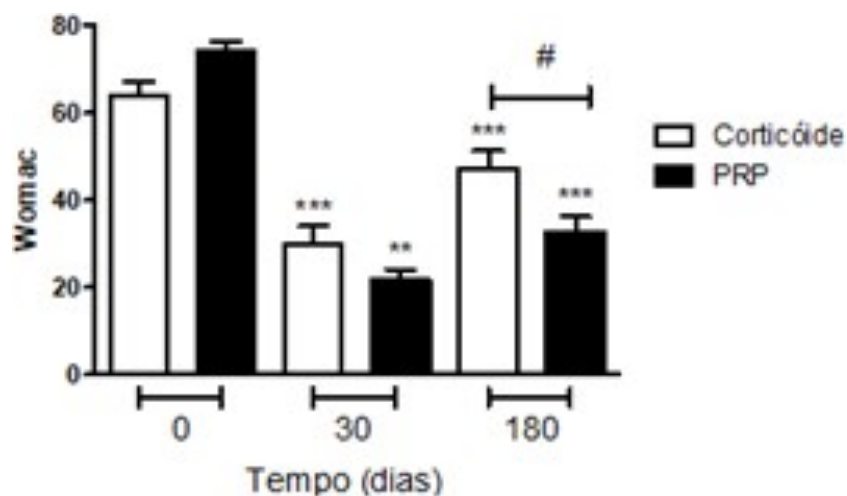


Figura 1 - Avaliação das respostas terapêuticas de acordo com a terapia com Womac avaliada em 0, 30 e 180 dias. (# = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$).

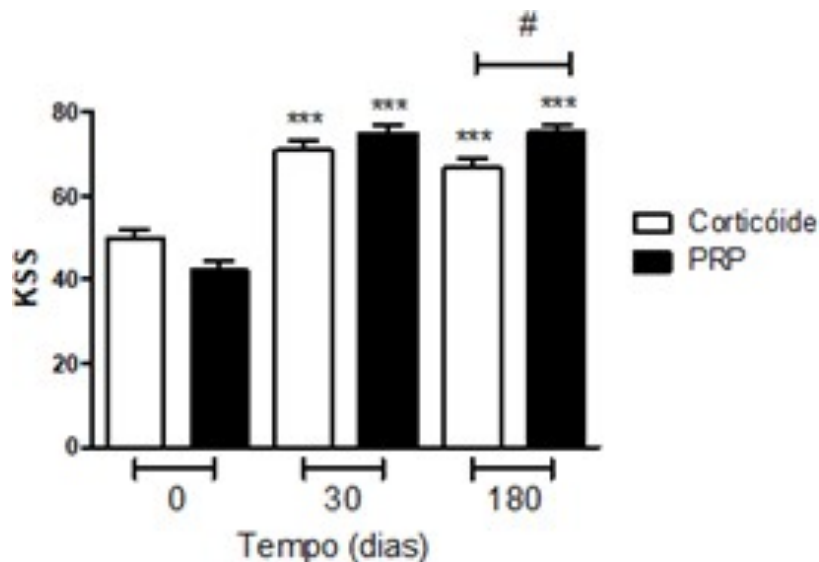


Figura 2 - Avaliação das respostas terapêuticas de acordo com a terapia com KSS avaliada em 0, 30 e 180 dias. (# = $p < 0,05$; ** = $p < 0,01$; *** = $p < 0,001$).

DISCUSSÃO

O tratamento da osteoartrite de joelhos se inicia com uma conduta conservadora que envolve uma combinação de analgésicos, AINES e fisioterapia. Conforme a complexidade do quadro ascende, outros métodos terapêuticos tornam-se importantes, como o uso de corticosteroides injetáveis, ácido hialurônico e, mais recentemente, infiltração de plasma rico em plaquetas. Os pacientes que usam AINES e analgésicos apresentam melhor resposta terapêutica que os que usam placebo, embora revisões de literatura considerem que evidências dos AINES no tratamento de osteoartrite de joelhos são limitadas a casos leves a moderados.²⁵ A fisioterapia, comumente aplicada em pacientes portadores de osteoartrite de joelho, baseia-se na capacidade de manutenção de condicionamento físico, flexibilidade e fortalecimento do músculo quadríceps em auxílio ao tratamento medicamentoso.²⁶ As injeções são utilizadas como terapias em pacientes não responsivos à medicação oral.¹¹

Injeções com ácido hialurônico foram usadas por décadas, porém, seu uso tem sido desencorajado devido ao alto risco de efeitos adversos e benefício irrelevante quando comparado às injeções intra-articulares de corticosteroides. Além disso, o uso de ácido hialurônico não é subsidiado para o tratamento de acordo com as recomendações e guidelines mais atuais.^{11,27} Dessa maneira, os corticosteroides

injetáveis são amplamente utilizados no tratamento sintomático da osteoartrite de joelhos, entretanto a sua eficácia parece ser limitada a um mês, e repetições do procedimento podem ser necessárias, o que pode ser realizado até três vezes por ano na mesma articulação.¹²

Dessa maneira, os dados encontrados no presente estudo corroboram com o fato de que o efeito terapêutico dos corticosteroides é mais curto (até 30 dias), enquanto o perfil de melhora álgica prolongou-se até 180 dias após o uso de PRP.

O plasma rico em plaquetas (PRP) é uma modalidade de tratamento em constante evolução que vem ganhando importância na atenção primária, reabilitação e medicina desportiva.¹⁵ PRP é uma solução concentrada de plaquetas preparada com sangue autólogo, o que o torna um tratamento seguro para o uso clínico.¹⁵ Estudos demonstraram que a administração da injeção intra-articular de PRP pode oferecer melhor qualidade de vida até mesmo após um ano de tratamento.^{16,28} O presente estudo avaliou que, em comparação com os corticosteroides, valores mais significativos quanto à melhora clínica foram encontrados, especialmente a longo prazo da infiltração (180 dias). Ambos os pacientes obtiveram melhora do quadro álgico e funcional em 30 dias e em 180 dias, porém, os pacientes em uso da infiltração com PRP obtiveram melhora mais importante do quadro álgico em números absolutos. Além disso, houve uma discreta redução da qualidade (5,6%) no grupo de pacientes que utilizou corticosteroide intra-articular entre 30 e 180 dias, embora tenha se mantido estatisticamente mais significante do que no período pré- infiltrativo.

No presente estudo, verificamos a redução dos valores em escalas álgicas, como o WOMAC score, e elevações das pontuações em escalas funcionais, como o KSS, mais evidentes a longo prazo (180 dias) ao utilizarmos o PRP. Embora ambas as terapias sejam eficazes e não haja significância entre as terapias, os resultados são importantes para aplicabilidade dessa modalidade terapêutica, uma vez que, por ser autólogo, emite menos riscos de efeitos colaterais que a infiltração de corticosteroides com eficiência mais duradoura.

Segundo o estudo, 84% dos pacientes avaliados eram do sexo feminino e idosas. Diabetes, hipertensão, cirurgias prévias e obesidade têm sido relacionados a uma maior incidência de osteoartrite.^{5,29,30} Em nosso estudo, 66% dos pacientes eram hipertensos e 82% eram obesos, corroborando com os achados da literatura,

entretanto, apenas 20% eram diabéticos e 2% dos pacientes realizaram cirurgias prévias.

Neste estudo, os fatores que elevam a incidência foram homogêneos entre os grupos quanto à escolha terapêutica, demonstrando fidedignidade da amostra e randomização prévia equivalente.

CONCLUSÃO

Os pacientes com artrose de joelho tratados, tanto com infiltração com corticoide, quanto com PRP reduziram as queixas álgicas e aumentaram a sua funcionalidade nos primeiros 30 e 180 dias pós-tratamento.

No entanto, de acordo com os dados apresentados nesse estudo, os índices de melhora a longo prazo (com 180 dias) foram mais significativos no grupo tratado com PRP.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- 1 Jordan KM, Arden NK, Doherty M, Bannwarth B, Bijlsma JW, Dieppe P, et al. EULAR Recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a Task Force of the Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutic Trials (ESCISIT). *Ann Rheum Dis*. 2003;62(12):1145-55.
- 2 Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum*. 2008;58(1):26-35.
- 3 Rezende MU, De Campos GC. A osteoartrite é uma doença mecânica ou inflamatória?. *Rev Bras Ortop*. 2013;48(6):471-4.
- 4 Scarpone M, Rabago D, Snell E, Demeo P, Ruppert K, Pritchard P, et al. Effectiveness of Platelet-rich Plasma Injection for Rotator Cuff Tendinopathy: A Prospective Open-label Study. *Glob Adv Health Med*. 2013;2(2):26-31.

- 5 Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Abramson SB. Osteoarthritis, an inflammatory disease: potential implication for the selection of new therapeutic targets. *Arthritis Rheum.* 2001;44(6):1237-47.
- 6 Fitzgerald JB, Jin M, Grodzinsky AJ. Shear and compression differentially regulate clusters of functionally related temporal transcription patterns in cartilage tissue. *J Biol Chem.* 2006;281(34):24095-103.
- 7 Sarvimäki A, Stenbock-Hult B. Quality of life in old age described as a sense of well-being, meaning and value. *J Adv Nurs.* 2000;32(4):1025-33.
- 8 Clauw DJ, Witter J. Pain and rheumatology: Thinking outside the joint. *Arthritis Rheum.* 2009;60(2):321–4.
- 9 Hameed F, Ihm J. Injectable medications for osteoarthritis. *PM R.* 2012;4(5 Suppl):S75-81.
- 10 Evaniew N, Simunovic N, Karlsson J. Cochrane in CORR®: Viscosupplementation for the treatment of osteoarthritis of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 2014;472(7):2028-34
- 11 Bannuru RR, Natov NS, Obadan IE, Price LL, Schmid CH, McAlindon TE. Therapeutic trajectory of hyaluronic acid versus corticosteroids in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 2009;61(12):1704-11.
- 12 Cheng OT, Souzdalnitski D, Vrooman B, Cheng J. Evidence-based knee injections for the management of arthritis. *Pain Med Malden Mass.* 2012;13(6):740–53.
- 13 Nguyen RT, Borg-Stein J, McInnis K. Applications of platelet-rich plasma in musculoskeletal and sports medicine: an evidence-based approach. *PM R.* 2011;3(3):226–50.
- 14 Krogh TP, Bartels EM, Ellingsen T, Stengaard-Pedersen K, Buchbinder R, Fredberg U, et al. Comparative effectiveness of injection therapies in lateral epicondylitis: a systematic review and network meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Sports Med.* 2013;41(6):1435–46.

- 15 Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg*. 2004;114(6):1502–8.
- 16 Patel S, Dhillon MS, Aggarwal S, Marwaha N, Jain A. Treatment with platelet- rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: a prospective, double-blind, randomized trial. *Am J Sports Med*. 2013;41(2):356–64.
- 17 Sonleitner D, Huemer P, Sullivan DY. A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technical note. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2000;15(6):879–82.
- 18 Messoria MR, Nagata MJ, Furlaneto FA, Deliberador TM, Melo LG, Garcia VG, et al. Análise da eficiência do protocolo de dupla centrifugação para o preparo do plasma rico em plaquetas (PRP) - estudo experimental em coelhos. *RSBO Rev Sul-Bras Odontol*. 2009;6(3):291–6.
- 19 Schiphof D, Boers M, Bierma-Zeinstra SMA. Differences in descriptions of Kellgren and Lawrence grades of knee osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2008;67(7):1034–6.
- 20 Silva AL, Demange MK, Gobbi RG, Silva TF, Pécora JR, Croci AT. Translation and validation of the Knee Society Score: KSS for Brazilian Portuguese. *Acta Ortop Bras*. 2012;20(1):25–30.
- 21 Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol*. 1988;15(12):1833–40.
- 22 Dinjens RN, Senden R, Heyligers IC, Grimm B. Clinimetric quality of the new 2011 Knee Society score: high validity, low completion rate. *Knee*. 2014;21(3):647–54.
- 23 Oliveira AM, Peccin MS, Silva KN, Teixeira LE, Trevisani VF. Impact of exercise on the functional capacity and pain of patients with knee osteoarthritis: a randomized clinical trial. *Rev Bras Reumatol*. 2012;52(6):876–82.
- 24 Hmamouchi I, Allali F, Tahiri L, Khazzani H, Mansouri LE, Ali Ou Alla S, et al. Clinically important improvement in the WOMAC and predictor factors for response to non-specific non-steroidal anti-inflammatory drugs in osteoarthritic patients: a prospective study. *BMC Res Notes*. 2012;5:58.

- 25 Eccles M, Freemantle N, Mason J. North of England evidence based guideline development project: summary guideline for non-steroidal anti-inflammatory drugs versus basic analgesia in treating the pain of degenerative arthritis. The North of England Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drug Guideline Development Group. *BMJ*. 1998;317(7157):526–30.
- 26 Roddy E, Zhang W, Doherty M. Aerobic walking or strengthening exercise for osteoarthritis of the knee? A systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(4):544–8.
- 27 Mei-Dan O, Carmont MR, Laver L, Mann G, Maffulli N, Nyska M. Platelet-rich plasma or hyaluronate in the management of osteochondral lesions of the talus. *Am J Sports Med*. 2012;40(3):534–41.
- 28 Leitner GC, Gruber R, Neumüller J, Wagner A, Kloimstein P, Höcker P, et al. Platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox Sang*. 2006;91(2):135–9.
- 29 Mohammadi F, Taghizadeh S, Ghaffarinejad F, Khorrami M, Sobhani S. Proprioception, dynamic balance and maximal quadriceps strength in females with knee osteoarthritis and normal control subjects. *Int J Rheum Dis*. 2008;11(1):39–44.
- 30 Oliveira NC, Vatri S, Alfieri FM. Comparação dos efeitos de exercícios resistidos versus cinesioterapia na osteoartrite de joelho. *Rev Acta Fisiátr*. 2016;23(1):7–11.

CAPÍTULO III – ARTIGO 2

Artigo publicado na Revista Brasileira de Ortopedia, disponível online a partir de 27 de março de 2018, Rev Bras Ortop. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.rboe.2018.03.002>. A revista possui classificação B1 na área de avaliação Interdisciplinar do Qualis-Periódicos/CAPES e fator de impacto de 0,110.

PLATELET-RICH PLASMA AND CORTICOSTEROID IN TREATMENT OF ROTATOR CUFF IMPINGEMENT SYNDROME: RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

PLASMA RICO EM PLAQUETAS E CORTICOIDE NO TRATAMENTO DA SÍNDROME DE IMPACTO DO MANGUITO ROTADOR: ENSAIO CLINICO RANDOMIZADO

ABSTRACT

Objective: This research aims to study the effectiveness of PRP in the treatment of patients with impact of rotator cuff syndrome compared to treatment with subacromial injection of corticosteroids.

Methods: This is a double-blind, randomized, comparative clinical trial. Patients were clinically evaluated by *The DASH Outcome Measure*, *UCLA Shoulder Rating Scale* and *Constant Shoulder Score* on the day of application, after one month, three months and 6 months.

Results: No significant differences were found ($p < 0.05$) when comparing the results of the DASH Outcome Measure, UCLA Shoulder Rating Scale and Constant Shoulder Score of the two groups at baseline and after one, three and six months of subacromial injection of their treatments. After the treatment, both groups showed a significant improvement in the DASH and UCLA scores ($p < 0.05$) when compared to the baseline. However, the Constant scores for the steroid treatment six months after treatment were lower than the baseline.

Conclusions: These findings suggest that PRP is a safe treatment and can be a useful tool in the therapeutic arsenal against of the rotator cuff diseases for there was no significant difference between the subacromial use of PRP and corticosteroids.

Keywords

Platelet-rich plasma

Shoulder impingement syndrome

Adrenal cortex hormones

RESUMO

Objetivo: analisar a eficácia do uso de PRP no tratamento de pacientes portadores de síndrome de impacto do manguito rotador em comparação ao tratamento com injeção subacromial de corticosteroides.

Métodos: O estudo é de caráter comparativo, longitudinal, duplo cego e randomizado. A evolução clínica dos pacientes foi quantificada pelas escalas The DASH Outcome Measure, UCLA Shoulder Rating Scale e Constant Shoulder Score no dia da aplicação, após um mês, três meses e seis meses.

Resultados: Não foram encontradas diferenças significativas ($p < 0.05$) ao comparar os resultados do DASH Outcome Measure, UCLA Shoulder Rating Scale e Constant Shoulder Score dos dois grupos na admissão. Após o tratamento, ambos os grupos apresentaram melhora significativa tanto do DASH, quanto do UCLA ($p < 0,05$). Entretanto o tratamento com corticoide mostrou-se pior no 6º mês ao comparar com a admissão.

Conclusão: Esses achados sugerem que o PRP é um tratamento seguro e que pode ser uma ferramenta útil no arsenal terapêutico contra doenças do manguito rotador, uma vez que não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos que receberam PRP e injeção subacromial de corticosteroides.

Palavras-chave

Plasma rico em plaquetas

Síndrome do impacto do manguito rotador

Corticosteroides

INTRODUCTION

Due to the chronicity of the clinical manifestations of the rotator cuff impingement syndrome there is a need to find new therapies that collaborate to improve pain management.

Platelet rich plasma (PRP) is an evolving treatment modality that has been gaining prominence in primary care, rehabilitation and sports medicine. PRP is a concentrated platelet solution prepared with autologous blood, which makes this treatment safe for clinical use.¹ PRP acts by the modulation of bioactive factors in the injured region, increasing the regeneration potential.² PRP increases the production of type I collagen and the proliferation of tenocytes, TGF- β 1, PDGF, VEGF and EGF, while also stimulating the synthesis of ligament matrix.³⁻⁶

Corticosteroid injections are commonly administered in tendinous lesions.⁷ Subacromial application is considered a cheap and effective therapeutic option, but the side effects of corticosteroids cause concern in clinical practice. Tendinous ruptures following local injections of corticosteroids have also been found, in the repetition of the treatment or even after single application.⁸ In addition, other noninfectious complications may occur, including nerve atrophy, hypopigmentation of the skin, dystrophic calcification around the joint capsule, hyperglycemia and inhibition of the pituitary hypothalamic axis for one to two weeks after application.⁹

The current literature regarding PRP as a new modality of treatment is limited due to the lack of standardization of study protocols, PRP preparation techniques and

methods of measuring clinical improvement, so new research needs to be carried out for the concrete understanding of this modality therapy.

The aim of this study is to analyze the therapeutic efficacy of subacromial infiltration of platelet rich plasma in patients with rotator cuff impingement syndrome compared to subacromial corticosteroid injection.

METHODS

This clinical trial is a double-blind, randomized, controlled, interventional study of patients with rotator cuff impingement syndrome. Patients were randomized into blocks and assigned to receive treatment with platelet-rich plasma or to receive corticosteroid injection. The sample consisted of 51 patients, 25 in the corticoid group and 26 in the PRP group. The sample number of patients estimated to have a confidence interval of 95%, and power of 80% to detect a difference of 15 points in the DASH score, with a SD of 10 was 20,4 for each group. To allow for a conservative withdraw of approximately 20%, we recruited a total of 51 patients. No imputation protocol was implemented regarding sample loss. The block randomization was performed using the online engine sealedenvelope.com, which generated a list of patient admission number and corresponding treatment. The researcher responsible for patient admission was not aware of the randomization or group allocation, and the order of admission was followed thoroughly.

PRP was obtained through 15ml the patient's peripheral blood that underwent a double centrifugation protocol (1500rpm for 6 min, then 3500rpm for 15 minutes in a Coleman 80-2C Macro Centrifuge) and manual platelet separation with micropipettes, including the buffy coat and then transferred to test tube for concentration. The outcome is approximately 3ml PRP, transferred to syringe for injection. All materials used were sterile and disposable. The corticosteroid used was betamethasone

dipropionate. To maintain the double-blind characteristic, peripheral blood was collected from all patients and the nature of the treatment was hidden from both the patient and care provider. One of the researchers was responsible for patient allocation, preparation of the treatment and assuring double blindness. The injections were made in the subacromial space through a posterior approach after anesthesia with 1% lidocaine the injections were not guided by ultrasound. All participants were instructed to rest injected shoulder for 24h. No changes to medication or rehabilitation program were recommended.

To evaluate the therapeutic response, the tools used were: UCLA Shoulder Rating Scale, Constant Shoulder Score, and The DASH (The Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand) Outcome Measure. The patients were evaluated before the procedure, and after one month, three months and six months of the intervention. All patients were inquired regarding possible side-effects throughout the follow up period.

The inclusion criteria used were: age between 18 and 70 years old, positive Neer test, no previous treatment of IV corticosteroids, injectable or oral in the last 12 months, Hemoglobin greater than 11g/dl, platelet count greater than 150000/mm³ and signature of the informed consent form. Exclusion criteria were: association with adhesive capsulitis, complete rupture of the rotator cuff in ultrasonography (all other forms of tendinopathy were included), and use of oral or parenteral corticosteroids during the study.

This research was fully conducted in DeCós Day Hospital in Aracaju, Brazil. Patient recruiting and follow up were conducted from October 2015 to July 2016 and ended after six month-follow up of the last recruited patient. Data were tabulated and analyzed in the Statistical Package for Social Sciences, version 19.0 (SPSS®).

In this research, the confidentiality and privacy of the participating professionals were assured, ensuring that the information of the questionnaire was not used to the detriment of the people involved. All patients signed an informed consent form. This study was approved by the Research Ethics Committee of Tiradentes University - CEP/UNIT (CAAE: 49144515.90000.5371) and is registered in The Brazilian Registry of Clinical Trials - ReBEC(UTN: U1111-1195-9769).

RESULTS

Patients in this sample had a mean age of 53 years. 64% of the patients were female, with pain in the right shoulder (45%), weighing on average 72kg and having a height of 1.6m and a BMI of 28kg/m². The epidemiological profile of the sample is characterized in table 1.

Table 1 - Epidemiological profile of patients with rotator cuff impact syndrome

	Treatment Received		Total	p-score
	PRP	Corticoid		
Age – n (%)				
<35 years old	1 (4)	1 (4)	2 (4)	0,41
36-45 years old	4 (15)	4 (16)	8 (16)	
46-55 years old	9 (35)	8 (32)	17 (33)	
56-65 years old	10 (38)	6 (24)	16 (31)	
>65 years old	2 (8)	2 (8)	4 (8)	
Not Informed	0 (0)	4 (16)	4 (8)	
Total	26 (49)	25 (51)	51 (100)	
Mean ±SD	53,2±9,4	53±11	53,1 ±10	
Gender – n (%)				
Male	11 (42)	7 (28)	18 (36)	0,433
Female	15 (57)	18 (72)	33 (64)	
Affected Side – n (%)				
Right Shoulder	11 (44)	21 (80)	23 (45)	0,015
Left Shoulder	11 (44)	5 (20)	16 (31)	
Anthropometric data – Mean ±DP				
Height (m)	1,6 ±0,1	1,6 ±0,1	1,6 ±0,1	0,054
Weight (Kg)	72,2 ±13,7	71,8 ±16,3	72,0 ±14,7	0,196
BMI (Kg/m²)	28,4 ±3,7	27,6 ±5,0	28,0±4,3	0,258

Of the patients studied, only 40 returned for evaluation after 1 month of treatment (19 in the corticoid group and 21 in the PRP group), 27 completed three months of treatment (10 in the corticoid group and 17 in the PRP group) and 22 patients completed 6 months of treatment (10 in the corticoid group and 12 in the PRP group). No imputation protocol was implemented in this study and all data acquired was utilized in data analysis.

The values obtained through the questionnaires at the time before the intervention and after one, three and six months were compared between the groups using the independent Student t test and Mann-Whitney, and are shown in table 2.

Table 2 - Comparison of the efficacy of the treatment of rotator cuff tendinopathy - PRP versus corticoid.

tennis players PRP versus corticoid				
	Treatment Received			
	PRP	Corticoid	CI 95%	p-score
DASH Outcome				
Admission	53,3	54,5	[-52,9;21,35]	0,135
1 month	32,5	22,9	[-37,01;-0,85]	0,205
3 months	23,5	20,2	[-104,76;44,08]	0,235
6 months	21,6	17,7	[-14,14;18,57]	0,824
UCLA Shoulder Rating Scale				
Admission	13,4	14,9	[-3,02;6,19]	0,926
1 month	23	23,9	[-4,45;6,07]	0,832
3 months	29,3	29,6	[-9,54;10,16]	0,898
6 months	27	27,6	[-8,53;9,73]	0,228
Constant Shoulder Score				
Admission	45,9	49,8	[-5,04;12,80]	0,228
1 month	55,4	58,8	[-4,43;11,12]	0,503
3 months	59,8	68	[-5,39;21,74]	0,848
6 months	62,9	56,9	[-21,45;-9,42]	0,049

When comparing the results of the DASH Outcome Measure after one month, three months and six months of treatment with the pre-intervention values, we identified a significant difference ($p<0.05$) and both PRP and corticoid groups at all moments studied, as shown in figure 1.

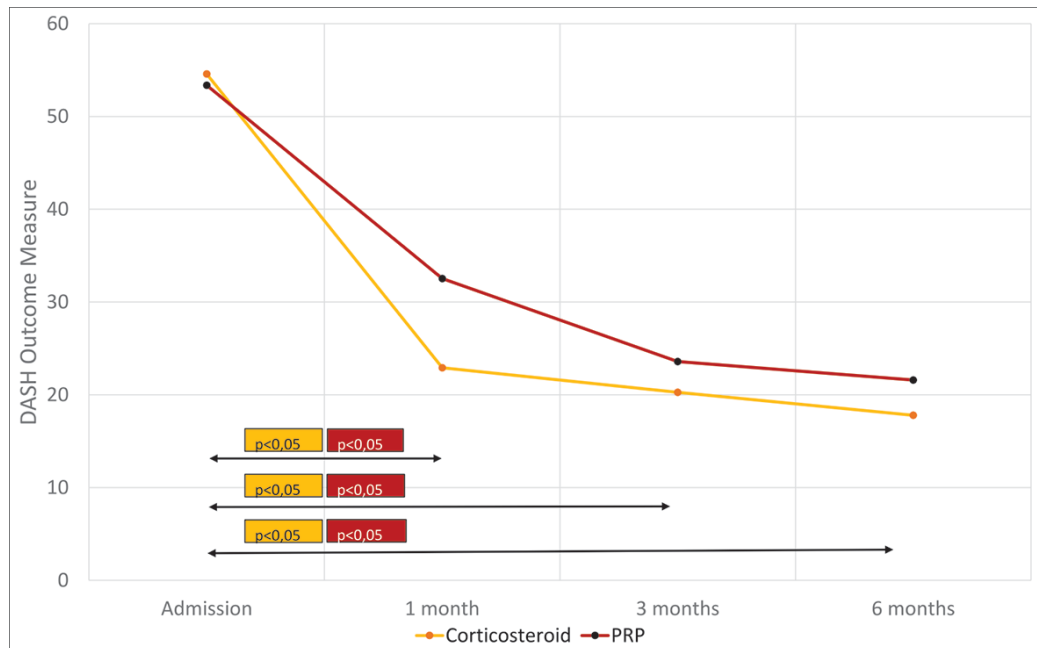


Figure 1 - Evolution of the DASH score of patients with rotator cuff tendinopathy after one, three and six months of treatment with corticosteroids and PRP. (P-value shown represent statistical difference from that of admission)

Through the evaluation of the progression of the UCLA Shoulder Rating Scale (figure 2) we also identified that there were significant differences ($p<0.05$) when comparing the admission to the scores after one and three months of treatment in both groups.

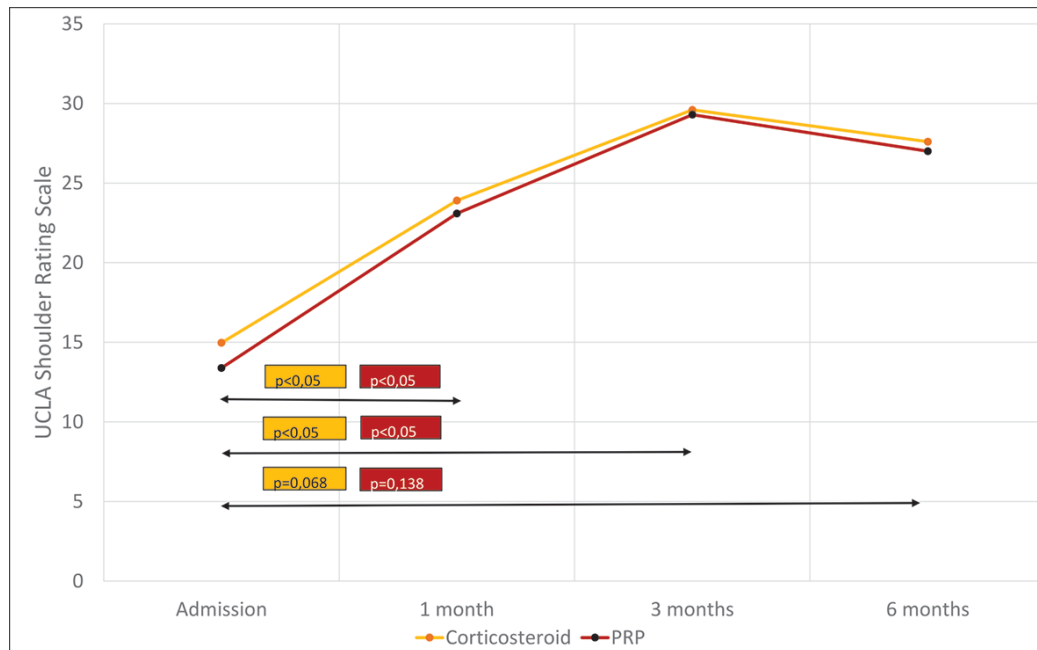


Figure 2 - Evolution of the UCLA Shoulder Rating Scale of patients with rotator cuff tendinopathy after one, three and six months of corticosteroids and PRP treatment. (P-value shown represent statistical difference from that of admission)

In the Constant Shoulder Score, the difference between the values obtained during the follow-up of the PRP group was significant after one month ($p<0.05$), but it was not significant at three months ($p=0.07$) and at the six months' follow-up ($p=0.103$) in comparison to the admission, as shown in figure 3.

In the corticoid group, there was a significant difference after one and three months of treatment ($p<0.05$). However, there was no significant difference after six months ($p=0.760$) in comparison to the admission score. For statistical evaluation of progression among the treatment groups, Student's t-test with paired samples and the Wilcoxon test were applied.

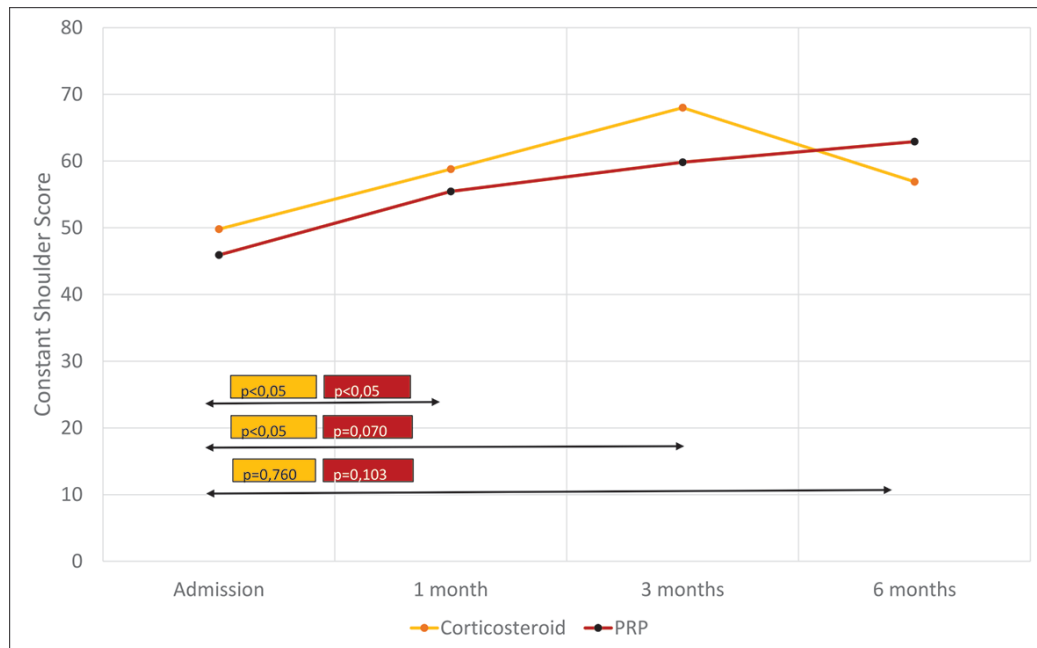


Figure 3 - Evolution of the Constant Shoulder Rating Scale of patients with rotator cuff tendinopathy after one, three and six months of corticosteroids and PRP treatment. (P-value shown represent statistical difference from that of admission)

DISCUSSION

This randomized controlled double-blind longitudinal study demonstrates the effects of treatment with single infiltration of corticosteroids and platelet-rich plasma in the therapeutic process of rotator cuff tendinopathy.

Patients in this study who received PRP showed a mean difference of 20.8 points in the DASH score during the first month of follow-up, which already shows a significant improvement in pain and limb function in the short term (difference greater than 15 points).¹⁰ On the other hand, the patients in the corticoid group had a mean difference of 31.6 points, which shows that both groups presented a significant reduction ($p < 0.05$) of the short-term DASH score. The DASH scores remained significant in relation to admission even after three months and six months of follow-up.

The group of patients that received corticosteroids apparently had a better response to pain and function after one month and three months of treatment. At six

months of follow-up, both groups presented similar results. Nevertheless, the differences presented between the groups at the three moments were not significant ($p > 0.05$). The positive and significant results in the DASH Outcome Measure symbolize that in both treatment modalities there was an improvement in the daily challenges associated with the painful shoulder in the patient's own perception, as well as a decrease in symptoms and a lower psychosocial and occupational influence of these symptoms.

The clinical improvement observed in the group that received PRP in this study was also observed by other authors. A longitudinal study¹¹ on the use of PRP in rotator cuff tendinopathy and identified a gradual improvement in the visual analytical scale after eight weeks and 52 weeks of treatment. The authors used a different form of measurement of the therapeutic response, but noticed a gradual reduction of the symptoms, a finding also found in the current research through the decreasing values in the DASH score.

The other scores used in this study showed similar results. The UCLA Shoulder Rating Scale uses an association of subjective pain and function variables with objective variables of shoulder function to assess the therapeutic response after a procedure through pain, function, movement, strength, and patient satisfaction parameters. The therapeutic response was significant after one month and three months of treatment ($p < 0.05$), but the difference from admission was not significant at six months ($p = 0.138$), which can be explained by the low number of participants who finished the study. One study¹² used intraoperative PRP in arthroscopic repairs of complete ruptures of the rotator cuff and found that PRP has positive results in the scores of Constant and UCLA.

The Constant Shoulder score is a more objective questionnaire that measures shoulder function through the range of motion and strength, with less relevance of the symptoms in the final score. The results of the Constant score show that a measurable improvement in shoulder function was only identified in the first month after treatment with PRP up to three months after corticosteroid use, and in the latter, there was a general worsening of function in relation to admission. When compared to results found by another study¹², the findings of the current study appear to be less significant, but this fact is probably associated with the association of surgical treatment with the PRP used by the authors. PRP has been shown¹³ to have improvement in several parameters of the Constant score, including pain and range of motion up to 3 months after injection, showing similar results when compared to the present study.

A systematic review meta-analysis¹⁴ has studied the efficacy of PRP on tendon and ligament healing using 37 articles. In this study, PRP groups showed significantly less pain in long term follow up when compared to control groups. This finding may correlate to the current study when considering the long-term worsening found in Constant scores in the corticoid group, while PRP effects shown more durability.

A prospective randomized controlled study¹⁵ compared PRP and corticosteroid injection in 40 patients with partial rotator cuff tears. Both groups showed statistically significant better scores when compared to the baseline before injection. And when comparing between groups, PRP showed significantly better results at the 12 weeks evaluation, with no difference after 6 months.

In contrast, another comparative¹⁶ study of the use of PRP and prednisone in the treatment of rotator cuff syndrome concluded that even though both treatments had positive results, their findings showed that patients who received corticoid had a significantly better clinical response than those who received PRP, both at six weeks

and at six months. The present study agrees with both studies when showing positive results with both treatments, however our findings agree with Shams et al. when considering PRP equivalent or non-inferior when compared to corticosteroid injections. This study concurs with the data found by Say et al. regarding the short-term response, but disagrees with the long-term response, since the difference at six months between the two groups was not significant. This divergence has been prevalent in PRP literature, and these varying results may have been due to the different preparation protocols, the corticoid used or the methodology of the study. New studies are still necessary for further understanding.

A randomized double-blind controlled clinical trial¹⁷ was conducted with the use of PRP in the treatment of chronic tendinopathy of the rotator cuff. The authors found that there was no significant difference between the use of PRP and placebo in the WORC, SPADI and EVA scores throughout the study, concluding that PRP was no more effective in improving quality of life, pain, dysfunction or range of motion than placebo. This study stand against the use of PRP to treat this condition, with a level 1 of evidence. This supports the hypothesis that corticosteroids may not have value in the long-term treatment of rotator cuff tendinopathies, since through the comparison performed in this study there was no significant difference between the therapeutic responses of corticosteroids and PRP. The authors also identified that there was a therapeutic improvement in the two groups studied and hypothesized that improvement would also be observed if there was a group that was not submitted to any procedure, since just physical exercise is already associated with short and long term improvement of the rotator cuff tendinopathies.¹⁸

The apparent improvement of patients that underwent subacromial infiltrations may also be associated with the dry needling performed to maintain the double-blind

character of the investigations.¹⁹ Authors identified an unexpected positive result in patients that received dry needling, being explained as a stimulus to regeneration through extravasation of blood and subsequent local inflammatory reaction, which although limited, is a mechanism that is similar to the use of PRP.

Despite the positive results with subacromial use of corticosteroids, evidence in the literature does not value the use of this drug in rotator cuff diseases. A review²⁰ identifies two studies that favored the use of corticosteroids, two studies that did not have a significant difference between corticoid and placebo, and a study favoring placebo results. In addition, there are studies^{20,21} that have studied the association of corticosteroids with NSAIDs compared to the use of NSAIDs alone, with no significant difference between the two groups, suggesting that similar or better therapeutic responses can be achieved without exposing the patient to possible side effects of corticosteroid injections.

Patients who underwent corticosteroid injections had to seek health services more frequently during a one year follow-up due to persistence or relapse of symptoms than patients who had only motor physical therapy, requiring new rounds of injections.²² These findings are comparable to those found in the current study in the 6-month evaluation of the Constant score and UCLA Shoulder Rating Scale, since there was a decrease in these scores, symbolizing worsening of symptoms in relation to the previous evaluation and may indicate the need for new applications or other adjunctive therapy.

Due to its autologous characteristic, PRP is a safe treatment for clinical use.¹ The patients in this study did not report any side effects during the whole follow-up period beyond the expected local pain up to 24 hours of the application, which is

expected from the needle injection in the period after the end of the local anesthetic effect.

The limitations found in this study were: absence of a placebo group for comparison with the natural history of the disease and the absence of complete six month follow-up of all patients in the sample. This work still opens the possibility of being optimized, with protocols of PRP preparation, with better concentrations and reproducibility. Current studies seem to indicate that multiple PRP applications may have value in increasing the clinical response to this treatment. The application of three doses of PRP has been shown to be significant in the treatment of early stages of osteoarthritis²³ and chronic patellar tendinopathy²⁴, and this pattern can also be repeated for rotator cuff tendinopathies. In addition, PRP has been studied²⁵ to be used in conjunction with corticosteroid, as PRP does not affect effects of dexamethasone on tenocytes and its anti-inflammatory effect, showing that these treatments may have a synergic clinical response regarding pain and tissue regeneration.

The efficacy of platelet-rich plasma as a therapeutic modality still needs to be better clarified, but its characteristics make it a promising therapy in the treatment of rotator cuff tendinopathy. Corticosteroids, although well studied when their efficacy and side effects, remain rising concern in its chronic use in clinical practice.

CONCLUSION

This study concludes that subacromial injections of autologous platelet-rich plasma and corticosteroids have a positive and similar clinical response in the treatment of rotator cuff tendinopathies. When analyzing scores that consider the range of motion and strength, the patients only found significant results in the short term (one to three months), and functional worsening was observed at six months in the corticosteroid group. These findings suggest that PRP is a safe treatment and may

be a useful tool in the therapeutic arsenal against rotator cuff diseases, especially by avoiding possible adverse effects associated with the use of corticosteroids.

CONFLICTS OF INTEREST

The authors declare no conflicts of interest.

REFERENCES

1. Killian ML, Cavinatto L, Galatz LM, Thomopoulos S. Recent advances in shoulder research. *Arthritis Res Ther*. 2012;14(3):214.
2. Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med*. 2003;33(5):381–94.
3. Klein MB, Yalamanchi N, Pham H, Longaker MT, Chang J. Flexor tendon healing in vitro: effects of TGF-beta on tendon cell collagen production. *J Hand Surg Am*. 2002;27(4):615–20.
4. Lynch SE, Nixon JC, Colvin RB, Antoniades HN. Role of platelet-derived growth factor in wound healing: synergistic effects with other growth factors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1987;84(21):7696–700.
5. Varga J, Jimenez SA. Stimulation of normal human fibroblast collagen production and processing by transforming growth factor-beta. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986;138(2):974–80.
6. Zhang F, Liu H, Stile F, Lei MP, Pang Y, Oswald TM, et al. Effect of vascular endothelial growth factor on rat Achilles tendon healing. *Plast Reconstr Surg*. 2003;112(6):1613–9.

7. Rees JD, Wilson AM, Wolman RL. Current concepts in the management of tendon disorders. *Rheumatology*. 2006;45(5):508–21.
8. Kleinman M, Gross AE. Achilles tendon rupture following steroid injection. Report of three cases. *J Bone Joint Surg Am*. 1983;65(9):1345–7.
9. Roberts WN Jr. Joint aspiration or injection in adults: Technique and indications. In: UpToDate, Post TW, editors, UpToDate, Waltham, MA. (acessado em: 21 de out. 2016).
10. Beaton DE, Davis AM, Hudak P, McConnell S. The DASH (Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand) outcome measure: What do we know about it now? *Br J Hand Ther*. 2001; 6(4):109-118.
11. Scarpone M, Rabago D, Snell E, Demeo P, Ruppert K, Pritchard P, et al. Effectiveness of platelet-rich plasma injection for rotator cuff tendinopathy: a prospective open-label study. *Glob Adv Health Med*. 2013;2(2):26–31.
12. Malavolta EA, Gracitelli ME, Sunada EE, Benegas E, de Santis Prada F, Neto RB, et al. Platelet-rich plasma in arthroscopic repairs of complete tears of the rotator cuff. *Rev Bras Ortop*. 2015;47(6):741–7.
13. Tahririan MA, Moezi M, Motifard M, Nemati M, Nemati A. Ultrasound guided platelet-rich plasma injection for the treatment of rotator cuff tendinopathy. *Adv Biomed Res [Internet]*. 27 de dezembro de 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5220679/>
14. Chen X, Jones IA, Park C, Vangsness CT. The Efficacy of Platelet-Rich Plasma on Tendon and Ligament Healing: A Systematic Review and Meta-analysis With Bias Assessment. *Am J Sports Med*. 1o de dezembro de 2017;363546517743746.

15. Shams A, El-Sayed M, Gamal O, Ewes W. Subacromial injection of autologous platelet-rich plasma versus corticosteroid for the treatment of symptomatic partial rotator cuff tears. *Eur J Orthop Surg Traumatol*. dezembro de 2016;26(8):837–42.
16. Say F, Gurler D, Bulbul M. Platelet-rich plasma versus steroid injection for subacromial impingement syndrome. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. 2016;24(1):62–6.
17. Kesikburun S, Tan AK, Yilmaz B, Yaşar E, Yazicioğlu K. Platelet-rich plasma injections in the treatment of chronic rotator cuff tendinopathy: a randomized controlled trial with 1-year follow-up. *Am J Sports Med*. 2013;41(11):2609–16.
18. Green S, Buchbinder R, Hetrick S. Physiotherapy interventions for shoulder pain. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(2):CD004258.
19. Rha D, Park G-Y, Kim Y-K, Kim MT, Lee SC. Comparison of the therapeutic effects of ultrasound-guided platelet-rich plasma injection and dry needling in rotator cuff disease: a randomized controlled trial. *Clin Rehabil*. 2013;27(2):113–
20. Buchbinder R, Green S, Youd JM. Corticosteroid injections for shoulder pain. *Cochrane Database Syst Rev*. 2003;(1):CD004016.
21. Min KS, St Pierre P, Ryan PM, Marchant BG, Wilson CJ, Arrington ED. A double-blind randomized controlled trial comparing the effects of subacromial injection with corticosteroid versus NSAID in patients with shoulder impingement syndrome. *J Shoulder Elbow Surg*. 2013;22(5):595–601.
22. Rhon DI, Boyles RB, Cleland JA. One-year outcome of subacromial corticosteroid injection compared with manual physical therapy for the management of the unilateral shoulder impingement syndrome: a pragmatic randomized trial. *Ann Intern Med*. 2014;161(3):161–9.
23. Görmeli G, Görmeli CA, Ataoglu B, Çolak C, Aslantürk O, Ertem K. Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees

with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017;25(3):958-65.

24. Charousset C, Zaoui A, Bellaiche L, Bouyer B. Are multiple platelet-rich plasma injections useful for treatment of chronic patellar tendinopathy in athletes? a prospective study. *Am J Sports Med.* 2014;42(4):906–11.

25. Jo CH, Lee SY, Yoon KS, Shin S. Effects of Platelet-Rich Plasma With Concomitant Use of a Corticosteroid on Tenocytes From Degenerative Rotator Cuff Tears in Interleukin 1 β -Induced Tendinopathic Conditions. *Am J Sports Med.* abril de 2017;45(5):1141–50.

CAPÍTULO IV – PATENTE

RESUMO

DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO

A presente patente de invenção (PI) diz respeito a um dispositivo adaptável e processo de obtenção de volume concentrado de plaquetas por dupla centrifugação. Como característica diferencial, o processo e dispositivo, aqui revelado e reivindicado, permite que o dispositivo de coleta seja o mesmo que o utilizado para a centrifugação, o que reduz a chance de ativação precoce das plaquetas, proporcionando, assim, o aumento da eficácia da técnica. Além da vantagem mencionada, dentre outras, o dispositivo é confeccionado com material inerte, evitando a adesão na parede e processo de degradação plaquetária. O dito dispositivo e processo desenvolvido se enquadram especificamente e preferencialmente no campo da medicina esportiva, ortopedia, dermatologia, odontologia e outras áreas afins, podendo contribuir de forma direta para reparação tecidual decorrente de diversas patologias. O dito dispositivo é compreendido pelos seguintes componentes: um êmbolo adaptável à seringa (1), uma haste de fundo cego (2), uma tampa de fundo cego (3), um tampão (4) e um tampão longo (5), enquanto que, a obtenção do volume concentrado de plaquetas, compreendido pelo plasma rico em plaquetas (PRP) ser obtido por dupla centrifugação envolvendo as etapas (a), (b), (c), (d), (e) e (f).

REFERENCIAL TEÓRICO

DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO

BREVE APRESENTAÇÃO

[001] A presente patente de invenção (PI) diz respeito a um dispositivo adaptável e processo de centrifugação de sangue periférico para obtenção de volume concentrado de plaquetas com atividade cicatricial, por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas, visando sua aplicação na medicina esportiva, ortopedia, dermatologia, odontologia e outras áreas afins. Como característica diferencial, o processo e dispositivo, aqui revelado e reivindicado, permite que o dispositivo de coleta seja o mesmo que o utilizado para a centrifugação, o que reduz a chance de ativação precoce das plaquetas, proporcionando, assim, o aumento da eficácia da técnica. Além da vantagem mencionada, dentre outras, o dispositivo é confeccionado com material inerte, evitando a adesão na parede e processo de degradação plaquetária.

[002] Mais especificamente, ressalta-se que a presente invenção refere-se ao desenvolvimento de um **'DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO'**, caracterizado por ser um processo e/ou técnica eficaz para a obtenção de volume concentrado de plaquetas, uma vez que envolve a realização preferencial de duas etapas de centrifugação, aumentando a eficácia do processo de obtenção de volume concentrado de plaquetas.

[003] Reforça-se ainda que, em relação ao problema existente no estado da técnica, destaca-se a inexistência de técnicas e/ou métodos e/ou processos em que o dispositivo de coleta seja o mesmo do que o utilizado para a centrifugação, o que reduz a chance de ativação precoce das plaquetas, contribuindo também para o aumento da eficácia do dito processo. Além disso, destaca-se que não há disponíveis processos e/ou técnicas que permitam um custo benefício semelhante ao apresentado no presente documento de patente de invenção, visto que o processo não envolve a aplicação de tecnologias complexas e/ou sofisticadas. As características apresentadas garantem o caráter diferenciado e vantajoso da presente invenção, bem como a atividade inventiva relacionada ao conceito inventivo aqui apresentado e

reivindicado, quando comparado especificamente aos outros tipos de técnicas/reações/processos/métodos para a obtenção de volume concentrado de plaquetas.

[004] Assim, neste documento de patente de invenção são reveladas todas as características do dito dispositivo, que compreende peças adaptáveis, bem como, do dito processo de obtenção de um volume concentrado de plaquetas por meio de centrifugação dupla de sangue periférico, com atividade cicatrical, por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas. Além disso, são reveladas de forma detalhada todas as etapas inerentes ao processo reivindicado, identificando e revelando de forma detalhada todos os mecanismos para obtenção de volume concentrado de plaquetas.

CAMPO DE APLICAÇÃO

[005] A presente invenção refere-se a um dispositivo com peças adaptáveis e processo de obtenção de um volume concentrado de plaquetas através de centrifugação dupla de sangue periférico, com atividade cicatrical, por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas. O dito dispositivo e processo desenvolvido se enquadram especificamente e preferencialmente no campo da medicina esportiva, ortopedia, dermatologia, odontologia e outras áreas afins, podendo contribuir de forma direta para reparação tecidual decorrente de diversas patologias.

FUNDAMENTOS DA TÉCNICA

[006] Diversos materiais têm sido desenvolvidos para promover a indução dos fatores de crescimento ósseo ou da osteoindução, estimulando a atividade osteoblástica do osso lesionado. O plasma rico em plaquetas (PRP) apresenta-se eficaz nesse processo de regeneração e cicatrização dos tecidos, em especial o tecido ósseo [SANTOS, B. A. - Plasma rico em plaquetas: verdades e controvérsias - *Tese de Doutorado*, 2009].

[007] O PRP tem sido usado em cirurgias plásticas e maxilofacial há mais de uma década. Atualmente, está cada vez mais sendo utilizado em ortopedia e medicina esportiva para o tratamento de tendinopatias, fibrose muscular, lesões no ombro, lesões de menisco e cartilagem articular [CERZA, F. et al. - Comparison between hyaluronic acid and platelet rich plasma infiltration in the treatment of gonarthrosis - *American Journal of Sports Medicine*, 2012].

[008] O PRP é preparado a partir de uma pequena quantidade de sangue, retirado do próprio paciente e obtido por centrifugação [SANTOS, B. A. - Plasma rico em plaquetas: verdades e controvérsias. - *Tese de Doutorado*, 2009]. Esta separação celular tem por finalidade obter um plasma com maior concentração de plaquetas quando comparada com a contagem basal do sangue periférico. Essa maior concentração de plaquetas tem como consequência a maior oferta de fatores de crescimento, que poderá induzir uma regeneração óssea mais rápida [MACEDO, A. P. - Plasma rico em plaquetas: uma análise quantitativa e qualitativa de dois protocolos de obtenção. - *Dissertação de Mestrado*, 2004; GARCIA, R. L. L. et al. - Plasma Rico em Plaquetas: uma revisão de literatura. - *Revista Brasileira de Implantodontia & Prótese*, 2005].

[009] A ação conjunta dos fatores de crescimento resulta na sinalização para que células mesenquimais e epiteliais migrem para o local lesado, sofram divisão mitótica, estimulem a síntese de matriz e colágeno, resultando assim em uma cicatrização mais rápida e eficiente. Além disto, outras proteínas das plaquetas como fibrina, fibronectina e vitronectina, atuam promovendo a adesão celular e osteocondução [DUSSE, L. M. S.; MACEDO, A. P.; BATSCHAUER, A. P.; CARVALHO, M. G. - Plasma rico em plaquetas (PRP) e sua aplicação em odontologia. - *Revista Brasileira de Análises Clínicas*, 2008].

[010] O uso do PRP tem como vantagem ser oriundo do próprio paciente (autólogo), o que reduz o risco de transmissão de doenças infectocontagiosas, não ser tóxico ou capaz de gerar imunorreação, além de ter baixa incidência de efeitos colaterais, cerca de 2% a 5% apenas. A maioria dos efeitos relatados são sensibilidade, inchaço e dor local [FILARDO, G.; KON, E.; ROFFI, A.; DI MATTEO, B.; MERLI, M. L.; MARCACCI, M. - Platelet-rich plasma: why intra- articular? A systematic review of preclinical studies and clinical evidence on PRP for joint degeneration. - *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy: official journal of the ESSKA*, 2015; GARCIA, R. L. L. et al. - Plasma Rico em Plaquetas: uma revisão de literatura. - *Revista Brasileira de Implantodontia & Prótese*, 2005; MORAES, V. Y., LENZA, M., TAMAOKI, M. J., FALOPPA, F., BELLOTI, J. C. - Platelet-rich therapies for musculoskeletal soft tissue injuries. - *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2014).

[011] Dentro desse contexto, e diante da necessidade de desenvolvimento de novos métodos e/ou processos e/ou técnicas e/ou reações específicas para obtenção de

volume concentrado de plaquetas de forma eficaz, segura e econômica, a presente patente de invenção tem como objeto principal revelar de forma detalhada um dispositivo com peças adaptáveis e o processo de obtenção de um volume concentrado de plaquetas através de centrifugação dupla de sangue periférico, com atividade cicatricial, por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas, responsáveis por estimularem o reparo tecidual, visando sua aplicação na medicina esportiva, ortopedia, dermatologia, odontologia e outras áreas afins. É importante destacar como problema do estado da técnica a inexistência de um método e/ou processos e/ou técnicas e/ou reações específicas com as características descritas neste pedido de patente, ou seja, que apresente as vantagens aqui descritas.

LITERATURA TÉCNICA ESPECIALIZADA

[012] A literatura científica apresenta vários estudos realizados em busca de técnicas para obtenção de volume concentrado de plaquetas, a exemplo de um estudo que revelou um método dito como econômico de concentração plaquetária [FUKAYA, M.; ITO, A. – A new economic method for preparing platelet-rich plasma – *PRS Global Open*, 2014]. Entretanto, tal método utiliza-se da manipulação do material plasmático, com transferência de uma seringa para outras repetidas vezes, por meio de *scalps* finos e longos, aspectos que podem resultar na ativação plaquetária antecipada e indesejável.

[013] Encontram-se disponíveis no estado da técnica algumas técnicas/processos de obtenção de PRP, a exemplo da técnica Biomet System GPS II, que permite obter o PRP sem o risco de as amostras serem contaminadas pela manipulação excessiva. Por meio desta técnica, o sangue é coletado e transportado para um tubo GPS II e centrifugado por 15 minutos em uma velocidade de 3200 rpm. Após esse processo, o plasma pobre em plaquetas é retirado. O sistema é agitado por 30 segundos para resuspender a zona de névoa. Logo em seguida o PRP é coletado. Este é um método complexo e é feita apenas uma centrifugação, porém uma centrifugação não produz PRP, mas uma mistura de plasma pobre em plaquetas (PPP) e PRP, o que resulta em baixa concentração total de plaquetas [MACEDO, A. P. - Plasma rico em plaquetas: uma análise quantitativa e qualitativa de dois protocolos de obtenção. - *Dissertação de Mestrado*, 2004; PEREIRA, R. C. F. - Avaliação de sete protocolos de obtenção de plasma rico em plaquetas (PRP). - *Dissertação de Mestrado*, 2012).

Diferentemente, a invenção aqui apresentada neste documento de patente permite obter PRP com custos menores e em ambiente com pouca tecnologia.

[014] Outro método disponível atualmente no mercado, o Genesis CS®, dispõe de um kit com dois tubos estéreis. O sangue coletado é transferido para esses tubos e é realizada a centrifugação. Após isso, o plasma é coletado através de um sistema fechado, o que minimiza o risco de contaminação, por outro lado, o referido método permite uma maior concentração de células vermelhas, ocasionando numa maior dificuldade de ativar as plaquetas no PRP.

[015] A literatura técnica especializada revela alguns documentos de patentes que fazem referência a algumas técnicas/processos, dispositivos automáticos, semiautomáticos e manuais para obtenção do concentrado de plaquetas, os quais apresentam algumas desvantagens e não ferem o requisito de novidade e atividade inventiva da invenção aqui proposta. Para embasar o critério de novidade e atividade inventiva foi realizada uma pesquisa na base de patentes do Instituto Nacional de Propriedade Industrial (INPI) que compila o acervo de patentes depositadas do Brasil, e na base europeia de Patentes (Espacenet) que compila o acervo de patentes depositadas em mais de 90 países. Na pesquisa realizada não foi identificado nenhum documento de patente que faz referência a um dispositivo ajustável e processo de centrifugação dupla de sangue periférico para obtenção de volume concentrado de plaquetas que apresente características semelhantes à deste pedido.

[021] Os documentos de maior relevância serão descritos a seguir, entretanto, é importante deixar claro que nenhum deles fere o quesito de novidade e atividade inventiva da patente de invenção requerida nesse documento.

[022] O documento de patente americano **US6558307** descreve um método de coleta, a partir de sangue total, das plaquetas suspensas no plasma. O sangue é centrifugado a uma velocidade de rotação suficientemente elevada e as plaquetas são separadas do plasma e dos glóbulos vermelhos. Uma parte do plasma é removido enquanto a centrífuga gira para manter as plaquetas separadas do plasma. Em seguida, a velocidade de rotação é alterada de modo a fazer com que as plaquetas se misturem com o plasma restante. O referido método utiliza apenas uma etapa de centrifugação, diferindo da invenção aqui proposta, que realiza duas centrifugações, resultando num concentrado com um maior número de plaquetas, o que torna a técnica mais eficaz. Assim, a tecnologia aqui requerida e reivindicada é consideravelmente distinta do que

é solicitado nesse documento de patente de invenção, e, portanto, não pode ser considerada como limitante para a solicitação de exclusividade do que é proposto neste documento de patente, bem como, para limitar a atividade inventiva.

[023] O documento de patente americano **US5494578** descreve um sistema de separação de componentes de sangue que inclui uma centrífuga e um conjunto descartável de uso único que envolve uma câmara de separação flexível, que tem uma porta de entrada, uma porta de saída de componente separado e uma porta de saída de fluido residual. A câmara de separação está posicionada na fenda em forma anelar e rodado a uma velocidade de rotação predeterminada. Os fluidos, tais como sangue total flui através da câmara de separação e são separados em vários componentes terapêuticos, tais como plasma rico em plaquetas e os glóbulos vermelhos residuais concentrados. O plasma rico em plaquetas pode ser retirado como o componente terapêutico separado. O PRP é separado das células vermelhas do sangue numa primeira parte. O plasma rico em plaquetas flui para a segunda parte e é separado em plasma pobre em plaquetas e plaquetas. O plasma pobre em plaquetas pode ser retirado e devolvido ao doador. Apesar de relatar método de obtenção de PRP, a técnica e método descrito no referido documento de patente difere consideravelmente do que é solicitado nesse pedido, e, por isso, tal documento não pode ser considerado como limitante, ou seja, como documento do estado da técnica que interfira no direito de exclusividade do que é solicitado nesta patente.

[024] O documento de patente **EP2910258** tem por objetivo descrever um separador e concentrador de PRP, compreendendo um invólucro, um conjunto de separação e uma montagem de concentração. O conjunto de separação está ligado e posicionado por cima do conjunto de concentração. O conjunto de separação inclui uma câmara de separação revestida com um filtro com poros, que são dimensionados para receber e reter os eritrócitos durante a centrifugação. O compartimento de concentração tem um piso de suporte para grânulos dessecados e uma parede com pelo menos uma abertura fechada com um ecrã. O PRP concentrado é produzido por contato de PRP com grânulos dessecados. A rotação do compartimento de concentração em determinadas velocidades serve para separar o PRP concentrado a partir dos grânulos. Destaca-se que a invenção referida não revela escopo de proteção que está sendo requerido no presente pedido de patente de invenção e por isso não pode ser considerada como documento limitante do estado da técnica.

[025] O documento de patente americano **US2006017524** também descreve um separador-concentrador de PRP, que compreende um conjunto de separação centrífuga motorizado, e um conjunto de concentrador. O conjunto separador compreende um separador centrífugo que inclui um módulo de captura de eritrócitos e um motor com um eixo de acionamento ligado ao tambor separador. O conjunto de concentrador compreende um módulo de remoção de água para a preparação de concentrado de PRP. O módulo de remoção de água pode ser um dispositivo de seringa com os grânulos de absorção de água. Apesar de o pedido referir-se um dispositivo de obtenção de PRP, não pode em hipótese alguma ser considerada como limitante do estado da técnica já que seu mecanismo difere consideravelmente do que é solicitado proteção neste documento de patente.

[026] Dentre os equipamentos disponíveis no mercado que tem como finalidade a obtenção de PRP, o MK-Ortho Proteal® é o que mais se assemelha à invenção aqui proposta. No entanto, por possuir três etapas, é um método que demanda maior tempo para concentrar plaquetas, apresentando maior risco de degradação celular. Além da redução de uma etapa, tornando o processo mais rápido, a invenção aqui proposta, envolve a realização de duas centrifugações, aumentando a concentração plaquetária no produto final.

[027] No que tange às tecnologias patenteadas disponíveis no estado da técnica, existem ainda outros sistemas, a exemplo do RegenKit® PRP, do Cytomedix Angel® e do Harvest Smart PReP® 2, entretanto, todos apresentam conceitos inventivos completamente diferentes da invenção proposta neste documento de patente, e por isso, não devem ser considerados como produtos limitantes do estado da técnica.

[028] O sistema RegenKit® PRP descreve um método com apenas uma etapa de centrifugação, o que torna a preparação mais rápida, entretanto, com menos eficácia quando comparada ao processo aqui proposto. Diferentemente do RegenKit® PRP, a invenção aqui proposta envolve no seu processo a realização de duas centrifugações, aumentando a eficácia da técnica visto que aumenta a concentração plaquetária no produto final.

[029] Já o método Cytomedix Angel® contém uma centrífuga específica onde é acoplado um saco reservatório de três compartimentos para armazenar os produtos derivados do sangue (sangue completo, as células vermelhas do sangue e o plasma pobre em plaquetas). Uma seringa é fornecida para recolher o plasma rico em

plaquetas. Apesar do baixo risco de contaminação, requer um material próprio e de custo elevado. A invenção aqui proposta é de fácil aplicação e dispensa uma tecnologia complexa e sofisticada, barateando o custo do processo. Além disso, o material desenvolvido para a invenção aqui proposta é inerte, evitando a adesão na parede e degradação plaquetária.

[030] Por fim, o Harvest Smart PReP® 2 sugere a coleta de sangue através de uma seringa e transferência deste para um dispositivo exclusivo e específico que é conectado apenas em uma centrífuga particular, o que eleva o custo. É um método com baixo risco de contaminação, porém, é um método trabalhoso e necessita de aprendizagem por parte de quem irá realizar o procedimento. Devido a isto, está mais sujeito a erros na preparação, prejudicando a qualidade do produto. A invenção proposta no presente documento de patente se utiliza aparelhos mais simples, permitindo a preparação do PRP com custo menor. Além de ser um método de fácil reprodução.

[031] Com isso, o desenvolvimento e utilização do produto e processo propostos neste documento de patente de invenção, possui o parâmetro de novidade, pois até o presente momento nenhum trabalho científico ou técnico compreendido no estado da técnica possui um mecanismo de produção, funcionamento e aplicação semelhantes, podendo ser utilizado para obtenção de volume concentrado de plaquetas de forma eficaz, econômica e segura. Destaca-se ainda que a tecnologia proposta neste documento de patente de invenção apresenta todos os critérios de patenteabilidade: novidade, atividade inventiva e aplicação industrial, requisitos estes necessários para a concessão da patente requerida.

VANTAGENS DA INVENÇÃO

[032] Torna-se importante destacar que dispositivos automáticos, semiautomáticos e manuais vêm sendo desenvolvidos para obtenção do concentrado de plaquetas. Ressalta-se que os sistemas automáticos requerem alta tecnologia, mão de obra especializada e um grande volume de sangue, entretanto apresenta baixo risco de contaminação bacteriana. O método semiautomático permite concentrar um número elevado de plaquetas e fatores de crescimentos, quando comparados com as outras duas técnicas e apresenta risco de contaminação menor do que a técnica manual, entretanto o método manual realizado por centrifugação em tubo é simples e barato,

necessitando apenas de uma preparação asséptica adequada para evitar contaminação bacteriana.

[032] Em relação às vantagens e diferenciais apresentados pelo dito '**DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO**', pode-se destacar como mais relevantes:

[033] Como característica diferencial do dispositivo e processo/técnica propostos ressalta-se que o dispositivo da etapa de coleta é o mesmo do utilizado para a etapa de centrifugação, o que reduz a chance de ativação precoce das plaquetas, proporcionando, assim, o aumento da eficácia da técnica.

[034] Apresenta-se como importante diferencial a composição do dispositivo envolver material inerte, evitando a adesão na parede e degradação plaquetária.

[035] Apresenta-se como uma técnica e/ou processo e/ou reação eficaz para obtenção de volume concentrado de plaquetas uma vez que realiza duas centrifugações, concentrando um maior número de plaquetas o que torna a técnica mais eficaz.

[036] Trata-se de um processo de fácil aplicação, uma vez que não necessita de uma tecnologia sofisticada, o que barateia o custo e consequentemente sua maior possibilidade de aplicação e utilização.

[037] Após as vantagens apresentadas, e, para que o processo da invenção proposta nesse documento de patente possa ser mais bem compreendido e avaliado, a descrição dos desenhos será feita a seguir.

DESCRIÇÃO DOS DESENHOS

[038] A invenção será, a seguir, explicada em seus detalhes, sendo que, a título ilustrativo, são apresentados os seguintes desenhos: Figura 1, Figura 2, Figura 3, Figura 4 e Figura 5.

[039] A Figura 1, revela de forma ilustrativa, e em hipótese alguma de forma limitante, um êmbolo adaptável à seringa de 20mL (1).

[040] A Figura 2, revela de forma ilustrativa, e em hipótese alguma de forma limitante, uma haste de fundo cego (2).

[041] A Figura 3, revela de forma ilustrativa, e em hipótese alguma de forma limitante, uma tampa de fundo cego (3).

[042] A Figura 4, revela de forma ilustrativa, e em hipótese alguma de forma limitante, um tampão (4).

[043] A Figura 5, revela de forma ilustrativa, e em hipótese alguma de forma limitante, um tampão longo (5).

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

[044] O objeto principal deste pedido de patente de invenção é descrever com detalhes o processo e o produto relacionado ao dito **'DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO'**. Assim, e mais especificamente, a invenção aqui revelada tem como objetivo fornecer as informações tecnológicas, referente ao desenvolvimento de um dispositivo adaptável, onde o dito dispositivo apresenta-se com características diferenciadas de ser o dispositivo utilizado para a coleta e também o utilizado para a etapa de centrifugação. Além disso, e dentro do mesmo conceito inventivo, revela-se o processo de centrifugação de sangue periférico para obtenção de volume concentrado de plaquetas com atividade cicatricial (por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas). O dito processo e/ou técnica, após concretização realizada, revela-se como um processo e/ou técnica eficaz para a obtenção de volume concentrado de plaquetas, uma vez que envolve a realização preferencial de duas etapas de centrifugação, aumentando a eficácia do processo de obtenção de volume concentrado de plaquetas.

[045] O desenvolvimento da presente invenção foi realizado com o objetivo de solucionar o problema existente no estado da técnica, que apresenta como inconvenientes a inexistência de técnicas e/ou métodos e/ou processos em que o dispositivo de coleta seja o mesmo que o utilizado para a centrifugação, o que reduz a chance de ativação precoce das plaquetas e contribui de forma significativa para o aumento da eficácia do dito processo. Assim, a proposta desta invenção é reduzir uma etapa do processo de preparação, correspondente a transferência da seringa de coleta do sangue periférico para o tubo da primeira centrifugação. A técnica descrita nesse documento permite que o dispositivo de coleta seja o mesmo do utilizado para a centrifugação, o que reduz a chance de ativação precoce das plaquetas, proporcionando, assim, o aumento da eficácia da técnica. Além da utilidade mencionada, o material desenvolvido para a invenção é inerte, evitando a adesão na parede e degradação plaquetária, outra importante vantagem do dito dispositivo e processo revelado.

[046] Assim, a presente invenção revela todos os parâmetros relacionados à obtenção e desenvolvimento de um dispositivo com peças adaptáveis e processo de obtenção de um volume concentrado de plaquetas através de centrifugação dupla de sangue periférico, com atividade cicatricial, por meio de fatores de crescimento contido nas plaquetas, sendo o dito dispositivo e processo caracterizado como prático, simples, barato e rápido. Ressalta-se que a intenção de simplificar o método/processo levou a utilização de aparelhos mais simples. Embora necessite de aprendizagem por parte de quem irá realizar o procedimento, permite a preparação do volume concentrado de plaquetas com custo menor e em ambientes mais simples, desde que possuam uma centrífuga. Além de ser um método de fácil reprodução por outras equipes, é a primeira alternativa nacional dentro do conceito inventivo apresentado.

[047] Dentro do contexto apresentado, e, para que o processo desenvolvido e produto obtido, objeto de proteção desse pedido de patente, possam ser compreendidos e avaliados de forma mais clara e objetiva, sua descrição detalhada será feita a seguir.

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

[046] Nesta seção serão revelados todos os detalhes do dito

‘DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO’, cujo intuito é o de descrever de forma suficiente e clara, todas as etapas que envolvem o processo de obtenção do volume concentrado e plaquetas e o dispositivo adaptável utilizado para tal finalidade, e dessa forma, embasar a suficiência descritiva desta invenção.

[047] Para desenvolvimento do dito dispositivo adaptável e processo de obtenção de volume concentrado de plaquetas onde as etapas (a), (b), (c), (d), (e) e (f) devem ser consideradas:

[048] **Etapa (a)** → A etapa (a) refere-se à utilização de um êmbolo especial (1), o qual foi preferencialmente elaborado para seringas de capacidade de 20mL, no qual é possível, inicialmente enroscar uma haste de fundo cego (2) e desta forma consegue-se coletar os 20mL do sangue periférico do indivíduo. Entretanto, é importante deixar claro que seringas de outros volumes podem ser adaptadas, e isso, vai depender das dimensões do êmbolo especial (1) e da haste de fundo cego (2).

[049] **Etapa (b)**→Após a coleta, deve ser realizada o procedimento de retirada da agulha, e no local, deve-se enroscar uma tampa de fundo cego (3), e do outro lado,

retira-se a haste (2) e enrosca-se o tampão (4). Com isto, é obtido um sistema hermético e seguro para centrifugação.

[050] **Etapa (c)**→A etapa (c) envolve a primeira centrifugação do material. Deixa-se claro que as etapas de centrifugação (primeira e segunda) podem ser realizadas em qualquer tipo de centrífuga, de qualquer modelo e marca, com diferentes capacidades, desde que, adaptável à capacidade do dispositivo revelado.

[051] A primeira centrifugação deve ser realizada em uma velocidade entre 1000 rpm e 3000 rpm à temperatura de 22°C por um tempo de 2 a 20 minutos. Após esse processo de centrifugação, deve ser retirado o tampão (4), e, deve posteriormente ser enroscada a haste (2) no êmbolo (1), e, em seguida, deve-se retirar a tampa de fundo cego (3), permitido que a camada inferior do centrifugado (glóbulos vermelhos) seja desprezada à medida que o êmbolo (1) é pressionado.

[052] **Etapa (d)**→A etapa (d) envolve a segunda centrifugação do material. Para a segunda centrifugação, deve-se enroscar novamente a tampa de fundo cego (3), seguida pela retirada da haste (2) e depois, deve-se necessariamente enroscar o tampão longo (5) no êmbolo (1). Essa segunda centrifugação deve ser realizada em uma velocidade entre 2000 rpm e 4600 rpm por um tempo de 5 a 40 minutos.

[053] **Etapa (e)**→Após a segunda centrifugação, a etapa (e) refere-se a retirada do tampão longo (5), e, deve ser conectada uma seringa padrão comum, preferencialmente de capacidade de 10ml, ao êmbolo (1). Em seguida, deve-se pressionar a seringa conectada, e, à medida que o êmbolo (1) vai sendo deslocado, a camada superior do centrifugado (compreendido pelo plasma pobre em plaquetas – PPP) vai sendo deslocado para o interior da seringa, interrompendo o progresso até atingir a camada inferior do centrifugado. Na sequência, desconecta-se a seringa de 10ml, por exemplo, e despreza-se o PPP.

[054] **Etapa (f)**→Na etapa (f), a seringa de capacidade preferencial de 10 mL (podendo ser a mesma utilizada na etapa anterior, ou outra) deve ser conectada ao êmbolo (1), onde deve ser realizado o processo de transferência da última camada do centrifugado (compreendido pelo plasma rico em plaquetas – PRP) para a seringa, através do deslocamento do êmbolo (1).

[055] O êmbolo especial (1) possui dimensões de 25 mm x 21 mm, mais especificamente de 23 mm x 20 mm.

[056] A haste de fundo cego (2) possui dimensões de 115 mm x 30 mm, mais especificamente de 108 mm x 26 mm.

[057] A tampa de fundo cego (3) possui dimensões de 17 mm x 15 mm, mais especificamente de 12 mm x 11 mm.

[058] O tampão (4) apresenta dimensões de 25 mm x 18 mm, mais especificamente de 20 mm x 15 mm.

[059] O tampão longo (5) apresenta dimensões de 115 mm x 30 mm, mais especificamente de 108 mm x 26 mm.

[060] O êmbolo especial (1), a haste de fundo cego (2), a tampa de fundo cego (3), o tampão (4) e o tampão longo (5) podem ser desenvolvidos utilizando diferentes tipos de materiais poliméricos, como, polipropileno, poliestireno, policloreto de vinilo, politereftalato de polietileno, entre outros, e/ou, blendas poliméricas, bem como, vidro, acrílico, aço inoxidável, entre outros materiais inertes.

[061] Dentro do contexto apresentado e após ter revelado com detalhes todo o processo e produto desta invenção, deve, entretanto, mais uma vez ficar claro, que a invenção não está limitada à concretização revelada e as vantagens apresentadas, pois aqueles com habilidades na técnica irão imediatamente perceber que alterações e substituições na formulação e/ou etapas do processo podem ser feitas dentro do conceito inventivo aqui descrito. Desta forma, não pode de forma alguma ser considerada como limitante da invenção, a qual está limitada ao escopo das reivindicações que seguem.

REIVINDICAÇÕES

1. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, CARACTERIZADO POR referir-se a um processo de obtenção de volume concentrado e plaquetas, compreendido pelo plasma rico em plaquetas (PRP), e para isso, utiliza-se um dispositivo adaptável ao processo e/ou técnica de dupla centrifugação de sangue periférico, onde o dito dispositivo é compreendido pelos seguintes componentes: um êmbolo adaptável à seringa (1), uma haste de fundo cego (2), uma tampa de fundo cego (3), um tampão (4) e um tampão longo (5), e, o dito processo ser preferencialmente realizado por meio das etapas (a), (b), (c), (d), (e) e (f);

2. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1, CARACTERIZADO POR a Etapa (a) envolver a utilização de um êmbolo especial (1), o qual deve ser preferencialmente elaborado para seringas de capacidade de 20mL, no qual é possível, inicialmente enroscar uma haste de fundo cego (2) e desta forma consegue-se coletar os 20mL do sangue periférico do indivíduo, entretanto, é importante deixar claro que seringas de outros volumes podem ser adaptadas, e isso, vai depender das dimensões do êmbolo especial (1) e da haste de fundo cego (2);

3. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, CARACTERIZADO POR a etapa (b) envolver o procedimento de retirada da agulha da seringa padrão utilizada, e no local, deve-se enroscar uma tampa de fundo cego (3), e do outro lado, retira-se a haste (2) e enrosca-se o tampão (4), e com isto, é possível obter um sistema hermético e seguro para centrifugação;

4. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1, 2 ou 3, CARACTERIZADO POR a etapa (c) envolver a primeira centrifugação do material, deixando-se claro que as

etapas de centrifugação (primeira e segunda) podem ser realizadas em qualquer tipo de centrífuga, de qualquer modelo e marca, com diferentes capacidades, desde que, adaptável à capacidade do dispositivo revelado, assim, a primeira centrifugação deve ser realizada em uma velocidade entre 1000 rpm e 3000 rpm por um tempo de 2 a 20 minutos, e, após esse processo de centrifugação, deve ser retirado o tampão (4), e, deve posteriormente ser enroscada a haste (2) no êmbolo (1), e, em seguida, deve-se retirar a tampa de fundo cego (3), permitido que a camada inferior do centrifugado (glóbulos vermelhos) seja desprezada à medida que o êmbolo (1) é pressionado;

5. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3 ou 4, CARACTERIZADO POR a etapa (d) envolver a segunda centrifugação do material, onde, deve-se primeiramente enroscar novamente a tampa de fundo cego (3), seguida pela retirada da haste (2) e depois, deve-se necessariamente enroscar o tampão longo (5) no êmbolo (1), e, realizar a segunda centrifugação em uma velocidade entre 2000 rpm e 4600 rpm por um tempo de 5 a 40 minutos;

6. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3, 4 ou 5, CARACTERIZADO POR a etapa (e) envolver a retirada do tampão longo (5), e, deve ser conectada uma seringa padrão comum, preferencialmente de capacidade de 10ml, ao êmbolo (1), e, em seguida, deve-se pressionar a seringa conectada, e, à medida que o êmbolo (1) vai sendo deslocado, a camada superior do centrifugado (compreendido pelo plasma pobre em plaquetas – PPP) vai sendo deslocado para o interior da seringa, interrompendo o progresso até atingir a camada inferior do centrifugado, e, na sequência, desconecta-se a seringa de 10ml, por exemplo, e despreza-se o PPP;

7. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1, 2, 3, 4, 5 ou 6, CARACTERIZADO POR a etapa (f) envolver ao encaixe (conexão) da seringa de capacidade preferencial de 10 mL (podendo ser a mesma utilizada na etapa anterior, ou outra) ao êmbolo (1),

onde deve ser realizado o processo de transferência da última camada do centrifugado (compreendido pelo plasma rico em plaquetas – PRP) para a seringa, através do deslocamento do êmbolo (1);

8. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1, CARACTERIZADO POR o êmbolo especial (1) possuir dimensões de 25 mm x 21 mm, mais especificamente de 23 mm x 20 mm, a haste de fundo cego (2) possuir dimensões de 115 mm x 30 mm, mais especificamente de 108 mm x 26 mm, a tampa de fundo cego (3) possuir dimensões de 17 mm x 15 mm, mais especificamente de 12 mm x 11 mm, o tampão (4) possuir dimensões de 25 mm x 18 mm, mais especificamente de 20 mm x 15 mm, e, o tampão longo (5) possuir dimensões de 115 mm x 30 mm, mais especificamente de 108 mm x 26 mm;

9. DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO, de acordo com a reivindicação 1, CARACTERIZADO POR o êmbolo especial (1), a haste de fundo cego (2), a tampa de fundo cego (3), o tampão (4) e o tampão longo (5) poderem ser desenvolvidos utilizando diferentes tipos de materiais poliméricos, como, polipropileno, poliestireno, policloreto de vinilo, politereftalato de polietileno, entre outros, e/ou, blendas poliméricas, bem como, vidro, acrílico, aço inoxidável, entre outros materiais inertes.

FIGURA 1 - Êmbolo principal

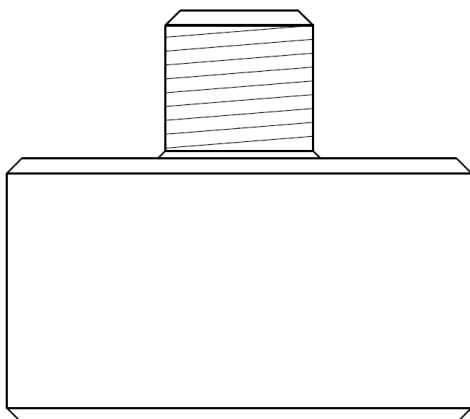


FIGURA 2 – Haste do êmbolo

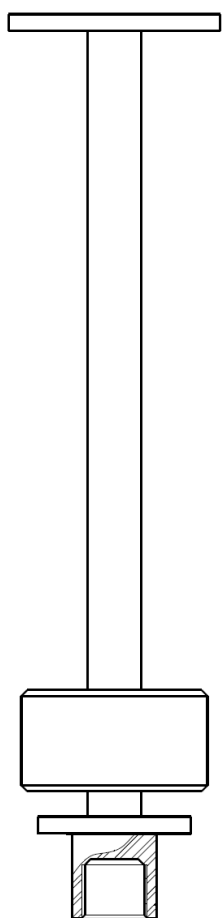


FIGURA 3 – Tampa do Êmbolo

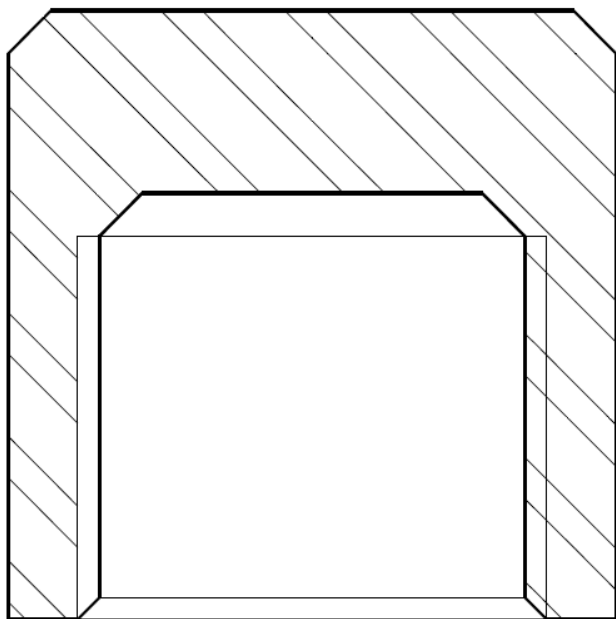


FIGURA 4 – Tampa-apoio da seringa

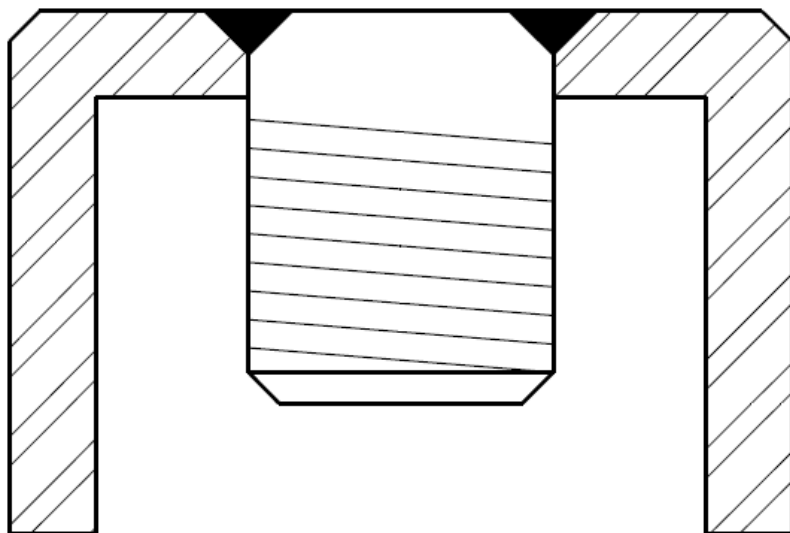
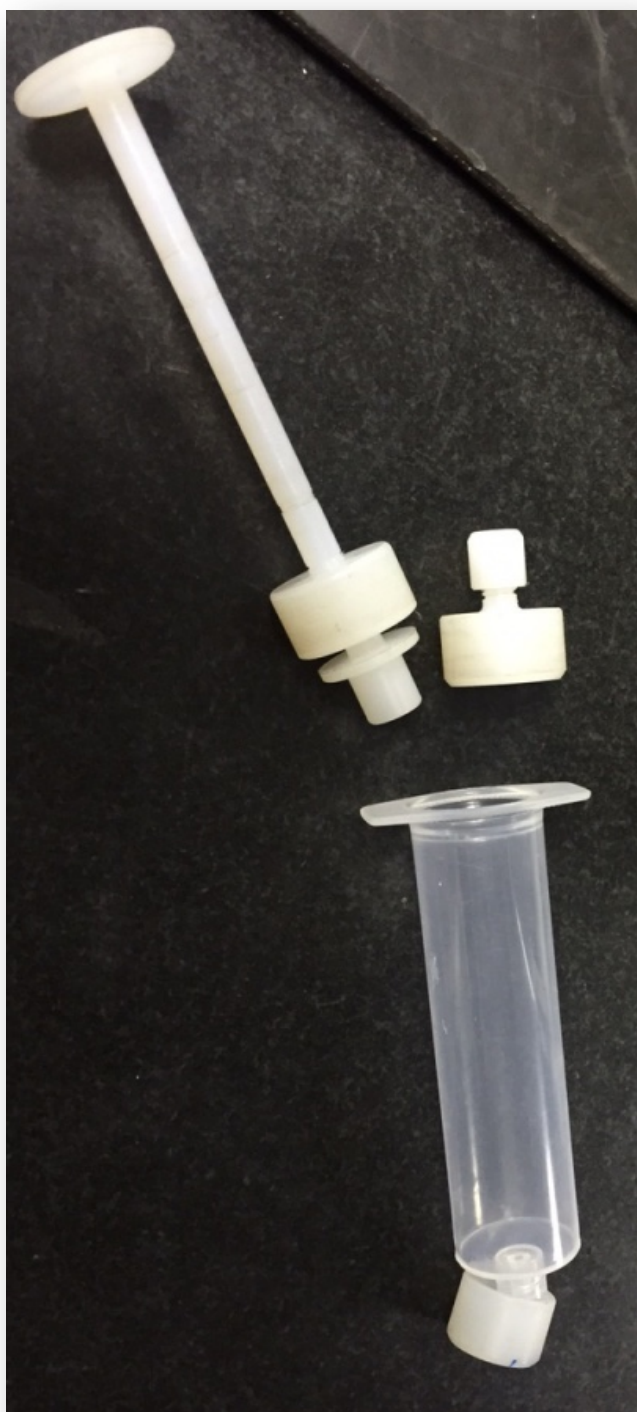


FIGURA 5 - Foto do Protótipo



8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foram apresentados dois estudos clínicos randomizados controlados, com tamanhos amostrais adequados e suficientes para atingir poder estatísticos relevantes, que demonstraram a eficiência terapêutica no uso do PRP na redução dos níveis de dor e melhora da função articular tanto em pacientes com artrose de joelho, quanto em pacientes com tendinopatia do manguito rotador. Ao mesmo tempo não foi relatado nenhum efeito adverso ao uso do PRP nos 180 dias de seguimento após o tratamento. Fica assim evidente a viabilidade, do ponto de vista clínico, de incluir o PRP no arsenal terapêutico de doenças osteoarticulares.

Neste trabalho foi desenvolvido um novo dispositivo para produzir o PRP por meio de um sistema fechado. Ele poderá ser industrializado nacionalmente com custos reduzidos. No entanto este é um protótipo e ainda precisa ser testado para se poder caracterizar todo o conteúdo do PRP produzido. Fica então, mais uma contribuição para viabilizar a regularização do uso do PRP. Desta vez, do ponto de vista em propor um sistema fechado, o qual ofereceria maior probabilidade de padronização do protocolo de produção do PRP.

APÊNDICES/ANEXOS



DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título Público: Estudo comparativo entre infiltração de plasma rico em plaquetas e infiltração de corticosteróides no tratamento de osteoartrite de joelhos
Pesquisador Responsável: Denison Santos Silva
Contato Público: Denison Santos Silva
Condições de saúde ou problemas estudados: osteoartrite joelhos
Descritores CID - Gerais: Gonartrose [artrose do joelho]
Descritores CID - Específicos: Gonartrose [artrose do joelho]
Descritores CID - da Intervenção: Gonartrose [artrose do joelho]
Data de Aprovação Ética do CEP/CONEP: 27/06/2017

DADOS DA INSTITUIÇÃO PROPONENTE

Nome da Instituição: Universidade Tiradentes - UNIT
Cidade: ARACAJU

DADOS DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Comitê de Ética Responsável: 5371 - Universidade Tiradentes - UNIT
Endereço: Campus Farolândia - Av. Murilo Dantas, 300 - DPE - Bloco F - Térreo
Telefone: (79)3218-2206
E-mail: cep@unit.br

ANEXO II

UNIVERSIDADE TIRADENTES -
UNIT



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Estudo comparativo do uso de plasma rico em plaquetas e corticoide no tratamento da tendinopatia do manguito rotador

Pesquisador: Ronald Barreto

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 49144515.9.0000.5371

Instituição Proponente: Universidade Tiradentes - UNIT

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.519.797

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

ARACAJU, 28 de Abril de 2016

Assinado por:
ADRIANA KARLA DE LIMA
(Coordenador)

ANEXO III



20/10/2017

870170080113

12:02



29409161708756263

Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2017 022608 5

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 2

Nome ou Razão Social: INSTITUTO DE TECNOLOGIA E PESQUISA

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 02886710000196

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av Murilo Dantas, 300, Prédio do ITP, Bairro Farolândia

Cidade: Aracaju

Estado: SE

CEP: 49032-490

País: Brasil

Telefone: (79) 3218-2190

Fax: (79) 3218-2190

Email: agitec@itp.org.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 20/10/2017 às 12:02, Petição 870170080113

Depositante 2 de 2

Nome ou Razão Social: UNIVERSIDADE TIRADENTES

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 13013263000187

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Jurídica: Instituição de Ensino e Pesquisa

Endereço: Av Murilo Dantas, 300, Bairro Farolândia

Cidade: Aracaju

Estado: SE

CEP: 49032-490

País: BRASIL

Telefone: (79) 321 82226

Fax:

Email: reitoria@unit.br

Dados do Pedido

Natureza Patente: 10 - Patente de Invenção (PI)

Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54): DISPOSITIVO ADAPTÁVEL E PROCESSO DE OBTENÇÃO DE VOLUME CONCENTRADO DE PLAQUETAS POR DUPLA CENTRIFUGAÇÃO DE SANGUE PERIFÉRICO

Resumo: A presente patente de invenção (PI) diz respeito a um dispositivo adaptável e processo de obtenção de volume concentrado de plaquetas por dupla centrifugação. Como característica diferencial, o processo e dispositivo, aqui revelado e reivindicado, permite que o dispositivo de coleta seja o mesmo que o utilizado para a centrifugação, o que reduz a chance de ativação precoce das plaquetas, proporcionando, assim, o aumento da eficácia da técnica. Além da vantagem mencionada, dentre outras, o dispositivo é confeccionado com material inerte, evitando a adesão na parede e processo de degradação plaquetária. O dito dispositivo e processo desenvolvido se enquadram especificamente e preferencialmente no campo da medicina esportiva, ortopedia, dermatologia, odontologia e outras áreas afins, podendo contribuir de forma direta para reparação tecidual decorrente de diversas patologias. O dito dispositivo é compreendido pelos seguintes componentes: um êmbolo adaptável à seringa (1), uma haste de fundo cego (2), uma tampa de fundo cego (3), um tampão (4) e um tampão longo (5), enquanto que, a obtenção do volume concentrado de plaquetas, compreendido pelo plasma rico em plaquetas (PRP) ser obtido por dupla centrifugação envolvendo as etapas (a), (b), (c), (d), (e) e (f).

Figura a publicar: f1

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Petição Eletrônica em 20/10/2017 às 12:02, Petição 870170080113

Dados do Inventor (72)

Inventor 1 de 3

Nome: RONALD BISPO BARRETO DA SILVA

CPF: 78229421587

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Professor do ensino superior

Endereço: RUA ÁLVARO DE BRITO, 748, APT 802

Cidade: Aracaju

Estado: SE

CEP: 49026-030

País: BRASIL

Telefone: (79) 991 363379

Fax:

Email: dr.ronaldbarreto@gmail.com

Inventor 2 de 3

Nome: MAYVELISE CORREIA DE GÓIS

CPF: 01828875538

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Estudante de Graduação

Endereço: AVENIDA OTONIEL DOREA, 320

Cidade: ITABAIANA

Estado: SE

CEP: 49500-000

País: BRASIL

Telefone: (79) 999 774398

Fax:

Email: mayvelise@hotmail.com

Inventor 3 de 3

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 20/10/2017 às 12:02, Petição 870170080113

Nome: ARIONALDO RODRIGUES MENEZES

CPF: 25638270515

Nacionalidade: Brasileira

Qualificação Física: Economista, administrador, contador, auditor e afins

Endereço: RUA JUAREZ CARVALHO, 322- APR 203

Cidade: Aracaju

Estado: SE

CEP: 49025-370

País: BRASIL

Telefone:

Fax:

Email: arionaldomenezes@yahoo.com.br

Documentos anexados

Tipo Anexo	Nome
Comprovante de pagamento de GRU 200	REDEPOSITO.pdf
Desenho	2_FIGURA_PI_PRP_ITP.pdf
Reivindicação	REINVINDICAÇÃO.pdf
Relatório Descritivo	RELATÓRIO DESCRITIVO.pdf
Resumo	RESUMO.pdf
Procuração	PROCURAÇÃO UNIT.pdf
Contrato Social	Contrato Social UNIT.pdf
ATA DE NOMEAÇÃO DA DIRETORIA	ATA DE PRESIDENCIA DIEGO.PDF

Acesso ao Patrimônio Genético

- ☒ Declaração Negativa de Acesso - Declaro que o objeto do presente pedido de patente de invenção não foi obtido em decorrência de acesso à amostra de componente do Patrimônio Genético Brasileiro, o acesso foi realizado antes de 30 de junho de 2000, ou não se aplica.

Declaração de veracidade

- ☒ Declaro, sob as penas da lei, que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 20/10/2017 às 12:02, Petição 870170080113