

Titolo articolo / Article title:

Utilità clinica dei fattori di crescita nel plasma ricco di piastrine (PRP). Analisi dell'efficacia di differenti metodi di preparazione

Clinical utility of growth factors in platelet rich plasma (PRP). Analysis of the effectiveness of different preparation methods

Autori / Authors: V. Cunsolo, V. Luti, F. Fossi, C. Grossini, V. Fulgido, I. Cipollini, A. Marzo, R. Saccardi

Pagine / Pages: 87-98, N.1, Vol.4 - 2020

Submitted: 19 April 2020 – *Revised:* 16 May 2020 – *Accepted:* 22 June 2020 – *Published:* 30 June 2020

Contatto autori / Corresponding author:

Veronica CUNSOLO, cunsolov@aou-careggi.toscana.it

Periodico per le professioni biomediche a carattere tecnico - scientifico - professionale

Direttore responsabile/Editor in chief: Francesco Paolo SELLITTI

Direttore di redazione/Editorial manager: Antonio ALEMANNI, Luca CAMONI

Comitato di redazione/Editorial team:

Editors: Antonio ALEMANNI, Mario CORIASCO, Simone URIETTI, Annamaria VERNONE, Sergio RABELLINO, Francesco SCIACCA, Luciana GENNARI, Patrizia GNAGNARELLA, Alessandro PIEDIMONTE, Luca CAMONI, Manuela GIACOMELLI, Andrea MASINO

Journal manager e ICT Admin: Simone URIETTI, Annamaria VERNONE

Book manager: Francesco P. SELLITTI

Graphic Design Editor Francesco P. SELLITTI, Mario CORIASCO, Sergio RABELLINO, Andrea MASINO

Comitato scientifico/Scientific board:

Prof. Roberto ALBERA	Prof. Federico D'AGATA	Prof. Daniela MESSINEO
Dott. Massimo BACCEGA	Dott. Laura DE MARCO	Dott. Sergio MODONI
Dott. Alberto BALDO	Dott. Patrizio DI DENIA	Dott. Alfredo MUNI
Prof. Nello BALOSSINO	Dott. Chiara FERRARI	Dott. Grazia Anna NARDELLA
Prof. Paolo BENNA	Prof. Diego GARBOSSA	Dott. Salvatore PIAZZA
Prof. Mauro BERGUI	Dott. Luciana GENNARI	Prof. Lorenzo PRIANO
Dott. Salvatore BONANNO	Dott. Ramon GIMENEZ	Ing. Sergio RABELLINO
Prof. Ezio BOTTARELLI	Dott. Gianfranco GRIPPI	Dott. Fabio ROCCIA
Prof. Gianni Boris BRADAC	Prof. Caterina GUIOT	Dott. Saverio STANZIALE
Dott. Gianfranco BRUSADIN	Prof. Leonardo LOPIANO	Dott. Lorenzo TACCHINI
Dott. Luca CAMONI	Prof. Alessandro MAURO	Prof. Silvia TAVAZZI
Prof. Alessandro CICOLIN	Dott. Cristian MAZZEO	Dott. Ersilia TROIANO
Dott. Mario Gino CORIASCO	Prof. Aristide MEROLA	Dott. Irene VERNERO

Periodico per le professioni biomediche a carattere tecnico - scientifico - professionale

SOMMARIO / TABLE OF CONTENTS Numero 1, Volume 4 - 2020

1	<i>Dolore cervicale in pazienti con disordini temporomandibolari</i> <i>Cervical pain in patients with temporomandibular disorders</i>	M. Ragonesi
12	<i>Utilizzo dell'olio extravergine d'oliva (EVOO) nel trattamento di un'ulcera traumatica nel cavo orale. Un case report</i>	
19	<i>Use of Extra Virgin Olive Oil (EVOO) in the treatment of traumatic ulcers. A case report</i>	A. Sinesi, C. Casu, S. Cefola, R. Damato, G. Orrù
26	<i>Analisi epidemiologica sull'immunità da SARS-CoV-2 in un campione di soggetti residenti nella capitale romana</i> <i>Epidemiological analysis on immunity from SARS-CoV-2 virus in subjects from Rome, Italy</i>	M. Cupellaro, K. Margiotti, S. Emili, A. Mesoraca, C. Giorlandino
36	<i>Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA): valutazione della disfagia e gestione degli aspetti nutrizionali</i> <i>Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS): dysphagia assessment and nutritional aspects management</i>	A. Bua, L. U. Collovà, A. Lombino, A. Petronaci, D. Sprini

56	<p><i>Implementazione e ottimizzazione di un protocollo per l'imaging ibrido a bassa dose con tomografia ad emissione di fotone singolo, studio preliminare</i></p> <p><i>Preliminary low-dose hybrid imaging protocol scan optimization in single photon emission computed tomography</i></p>	R. Rinaldi, L. Camoni
71	<p><i>Terapia non farmacologica dell'insonnia: igiene del sonno e restrizione a confronto</i></p> <p><i>Non pharmacological therapy for insomnia: a comparison between sleep hygiene and sleep restriction</i></p>	A. Cicolin, A. Giordano
87	<p><i>Utilità clinica dei fattori di crescita nel plasma ricco di piastrine (PRP). Analisi dell'efficacia di differenti metodi di preparazione</i></p> <p><i>Clinical utility of growth factors in platelet rich plasma (PRP). Analysis of the effectiveness of different preparation methods</i></p>	V. Cunsolo, V. Luti, F. Fossi, C. Grossini, V. Fulgido, I. Cipollini, A. Marzo, R. Saccardi

Utilità clinica dei fattori di crescita nel plasma ricco di piastrine (PRP). Analisi dell'efficacia di differenti metodi di preparazione

Clinical utility of growth factors in platelet rich plasma (PRP). Analysis of the effectiveness of different preparation methods

Cunsolo Veronica¹, Luti Valentina¹, Fossi Fiammetta¹, Grossini Chiara¹, Fulgido Valentina¹, Cipollini Iacopo¹, Marzo Alba², Saccardi Riccardo¹

¹SODc Terapie Cellulari e Medicina Trasfusionale, Dipartimento Oncologia, Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze, Italia

²Scuola di Scienze della Salute Umana, Università degli Studi di Firenze e Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze, Italia

Contatto autori: Veronica CUNSOLO – cunsolov@aou-careggi.toscana.it

N. 1, Vol. 4 (2020) – 87:98

Submitted: 19th April 2020

Revised: 16th May 2020

Accepted: 22th June 2020

Published: 30th June 2020

Think **green** before you print



Riassunto

Introduzione e scopo

Nel corso degli ultimi anni l'impiego di emocomponenti ad uso non infusionale o non trasfusionale, come il concentrato piastrinico (o plasma ricco di piastrine – PRP), si è rapidamente allargato a varie applicazioni cliniche di diversi ambiti specialistici. Il PRP ha un'elevata concentrazione di piastrine che lo rendono funzionale ai processi di riparazione e rigenerazione dei tessuti lesi. Tali effetti dipendono dal fatto che nei granuli alfa delle piastrine sono presenti dei fattori di crescita, in grado non solo di stimolare la rigenerazione tissutale, ma, anche, di mettere in campo un'imponente risposta antinfiammatoria locale, chiamata chemiotassi. I principali fattori di crescita identificati che innescano e promuovono i processi di rigenerazione tissutale sono il TGF- β (Transforming Growth Factor beta), il VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) e il PDGF (Platelet Derived Growth Factor).

Lo scopo di questo lavoro è quello di confrontare i parametri caratteristici degli emocomponenti ad uso non infusionale ottenuti con le diverse possibili modalità di preparazione, al fine di poter individuare quale sia quella in grado di garantire, ai pazienti trattati, il miglior effetto terapeutico, in termini di efficacia e durevolezza.

Materiali e metodi

La tipologia di emocomponente ad uso non infusionale da preparare, per il trattamento dei pazienti, viene scelta dal medico trasfusionista, in base alle loro caratteristiche cliniche, quali età, accessi venosi e patologie concomitanti, scegliendo tra il PRP da Sistema Dedicato (PRP-SD), il PRP da aferesi (PRP-AFE), il PRP omologo (PRP-OMO) e la Leuco-plasma-piastrinoafèresi (L-PRP).

Risultati

Su tutti i pazienti trattati con il PRP è stato eseguito l'emocromo di controllo prima del prelievo e, successivamente, sull'emocomponente. I risultati ottenuti sono stati, quindi, confrontati con i dati riportati in letteratura, al fine di identificare il metodo di preparazione del PRP più efficace, in termini di resa piastrinica e di leucociti.

Conclusioni

I dati presenti in letteratura evidenziano che il numero di piastrine e leucociti, presenti nel PRP, influenza notevolmente l'*outcome* del paziente. Dal confronto dei risultati ottenuti si è osservata una certa variabilità del contenuto di piastrine e di leucociti nel PRP preparato con le diverse modalità di lavorazione. Tenendo conto, quindi, delle nuove evidenze scientifiche in materia, si può affermare che il PRP-SD sia l'emocomponente in grado di garantire il miglior effetto terapeutico, in termini di efficacia e durevolezza.

Parole chiave: PRP, Fattori di crescita, Piastrine, Leucociti.

Abstract

Background and aim

Over the past few years, the use of blood components for non-infusion or non-transfusion procedure has rapidly expanded to various clinical applications in different speciality fields.

PRP has a high concentration of platelets that make it functional for the repair and regeneration processes of damaged tissues.

These effects depend on the fact that growth factors are present in the alpha granules of the platelets, able not only to stimulate tissue regeneration, but also to field a striking local anti-inflammatory response, called chemotaxis.

The main identified growth factors that trigger and promote tissue regeneration processes are TGF- β (Transforming Growth Factor beta), VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) and PDGF (Platelet Derived Growth Factor).

The purpose of this study is to compare the characteristic parameters of the blood components for non-infusion use obtained with the various possible preparation methods: this study will be able to identify the parameters for the best therapeutic effect on the patients treated, in terms of effectiveness and durability.

Materials and methods

The type of blood component to prepare, for the treatment of patients, is chosen by the transfusion doctor, based on their clinical characteristics, such as age, venous access and concomitant pathologies, choosing between the PRP Single Device (PRP-SD), the PRP by apheresis (PRP-AFE), the PRP homologous (PRP-OMO) and the Leuco-platelet apheresis (L-PRP).

Results

Control blood count was performed on all patients treated with the PRP before sampling and subsequently, on the blood component.

The results has been compared with the data reported in literature, in order to identified the most effective PRP preparation method, in terms of platelet yield and of leukocyte.

Conclusions

The literature's data show that the number of platelets and leukocytes present in the PRP greatly influences the patient's outcome.

The results obtained have showed a variety of platelets and leukocytes contained in the PRP prepared with the various processing methods. The PRP-SD is the blood component capable of guaranteeing the best therapeutic effect, in terms of efficacy and durability.

Keywords: PRP, Growth factors, Platelets, Leukocytes.

INTRODUZIONE

Nel corso degli ultimi anni l'impiego di emocomponenti, con finalità diverse da quelle classicamente definite (supporto trasfusionale), ovvero dei cosiddetti emocomponenti ad uso non infusionale o non trasfusionale, si è rapidamente allargato a varie applicazioni cliniche di diversi ambiti specialistici [1].

Tra gli emocomponenti ad uso non trasfusionale, un ruolo centrale ha assunto il concentrato piastrinico (o plasma ricco di piastrine - PRP). Il PRP ha un'elevata concentrazione di piastrine che lo rendono funzionale ai processi di riparazione e rigenerazione dei tessuti lesi [2].

Tale caratteristica dipende dal fatto che nei granuli alfa delle piastrine, sono presenti dei fattori di crescita, in grado non solo di stimolare la rigenerazione tessutale, ma, anche, di mettere in campo un'imponente risposta antinfiammatoria locale, chiamata chemiotassi [3].

I principali fattori di crescita ad oggi identificati, che innescano e promuovono i processi di rigenerazione tessutale risultano essere:

1. **TGF- β (Transforming Growth Factor)**: un peptide multifunzionale che controlla la proliferazione, la differenziazione ed altre funzioni di molte linee cellulari. Questo fattore di crescita è cruciale nella formazione della matrice ossea, in quanto stimola la deposizione, nonché la mitogenesi dei precursori degli osteoblasti;

2. **PDGF (Platelet Derived Growth Factor)**: è un fattore di crescita che favorisce la riparazione e la rigenerazione del tessuto, stimolando le cellule mesenchimali a differenziarsi in fibroblasti, osteoblasti e condrociti. Il PDGF stimola anche la chemiotassi di neutrofili e macrofagi nel sito di lesione e in alcuni tessuti induce l'angiogenesi. Il PDGF riveste, inoltre, un ruolo primario, in quanto è in grado di agire anche a livello delle cellule staminali indifferenziate, normalmente presenti nei tessuti, favorendone la moltiplicazione;

3. **EGF (Epidermal Growth Factor)**: è un fattore di crescita capace di indurre la proliferazione e la differenziazione delle cellule mesenchimali ed epiteliali, promuovendo, inoltre, l'angiogenesi;

4. **FGF (Fibroblast Growth Factor)**: è un potente fattore di crescita coinvolto nella regolazione della proliferazione cellulare e della differenziazione dei fibroblasti;

5. **VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor)** che comprende VEGF-A, -B, -C, D e E: la forma più importante conosciuta è il VEGF-A, il quale favorisce l'attività di angiogenesi, neovascologenesi e permeabilizzazione vascolare, ed ha, inoltre, un effetto chemiotattico sui macrofagi e sui granulociti. Negli ultimi anni al VEGF è stata attribuita anche, un'attività di angiogenesi e di neuroprotezione [4].

Questi ed altri fattori di crescita agiscono in sinergia per aumentare l'infiltrazione di neutrofili e macrofagi, nonché per promuovere l'angiogenesi, la fibroplasia, la deposizione di matrice e il processo di riepitelizzazione.

La concentrazione soprafisiologica dei fattori di crescita presenti nel concentrato piastrinico può, quindi, accelerare la riparazione delle ferite, diminuire la reazione infiammatoria e promuovere la rigenerazione, piuttosto che promuovere solo una semplice riparazione dei tessuti danneggiati [5].

Un ruolo importante nei processi di riparazione, in particolare nelle fasi di infiammazione, è svolto anche dalle citochine prodotte dai globuli bianchi, ivi comprese le interleuchine IL-1, IL-3, IL-6 e IL-8.

La contemporanea presenza, quindi, sia dei fattori di crescita che delle citochine è essenziale durante le diverse fasi di guarigione di una ferita, in particolare nel processo di rigenerazione cellulare, nella proliferazione e nella migrazione cellulare, nella sintesi della matrice extracellulare, nel processo di riepitelizzazione e di rimodellamento.

Il PRP non essendo un emocomponente tossico o immunoreattivo, viene utilizzato per la rigenerazione tissutale in diversi ambiti clinici. Già da diversi anni, in traumatologia, il PRP è entrato a far parte delle diverse opzioni terapeutiche, soprattutto nel trattamento dei processi degenerativi osteoarticolari o patologie tendinee (6-7).

Il PRP viene utilizzato più spesso nelle patologie degenerative della cartilagine articolare a livello del ginocchio, dell'anca e della caviglia. La cartilagine articolare presenta una capacità limitata di autorigenerazione e proprio per questo che la sua degradazione, in seguito ad eventi traumatici o a malattie degenerative croniche come l'osteoartrite e l'artrite reumatoide, rappresenta uno dei maggiori problemi legati alla salute, soprattutto negli stati industrializzati in cui l'aspettativa di vita è molto alta.

Incoraggianti risultati sono stati ottenuti con l'utilizzo del PRP, anche in altri contesti clinici, come nella chirurgia estetica, nella chirurgia oculistica, nell'odontoiatria e nel trattamento delle ulcere cutanee (8-9).

Tuttavia, sebbene alcuni studi hanno mostrato risultati complessivamente positivi nelle diverse applicazioni cliniche del PRP, un'analisi più approfondita ha mostrato che i risultati pubblicati non erano coerenti e talvolta contraddittori.

Le possibili spiegazioni di questi risultati discordanti, possono essere ascrivibili alla modalità di selezione dei pazienti, nella modalità di applicazione del trattamento e ad errori metodologici.

Comunque, ciò che emerge sicuramente dall'analisi della letteratura è l'eterogeneità nei metodi di preparazione del PRP, con i quali si ottengono prodotti che differiscono non solo nella concentrazione piastrinica ma anche per la presenza di altre cellule come i globuli bianchi, il cui ruolo nel meccanismo di azione del PRP è ancora controverso [10].

In effetti, alcuni autori attribuiscono un effetto tossico alla presenza dei leucociti a causa del rilascio di mediatori infiammatori, proteasi e ossigeno reattivo da parte di queste cellule.

D'altro canto, i leucociti sono considerati una fonte di citochine ed enzimi che sembrano essere coinvolti nella prevenzione delle infezioni.

Dall'analisi incrociata dei diversi dati presenti in letteratura, dove vengono riportati valori alquanto difforni sul contenuto piastrinico e leucocitario del PRP, è nata l'esigenza di effettuare un'analisi monocentrica su una coorte di pazienti afferenti al centro di Medicina Rigenerativa dell'AOU-Careggi, al fine di effettuare un confronto tra i diversi metodi di preparazione del PRP e potere, quindi, individuare quello in grado di garantire la preparazione di un plasma ricco di piastrine ottimale e che sia, inoltre, conforme ai requisiti riportati nel Decreto del Ministro della Salute 2 novembre 2015 Allegato X, recante "Disposizioni relative ai requisiti di qualità e sicurezza del sangue e degli emocomponenti" e successive modifiche.

MATERIALI E METODI

L'interesse per l'impiego di emocomponenti definiti non infusionali/trasfusionali, nel corso degli anni, si è rapidamente allargato [11].

Ad oggi, sono circa un migliaio i pazienti che hanno avuto accesso all'ambulatorio di Medicina Rigenerativa dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi di Firenze per eseguire emoterapia topica.

Lo scopo dell'emoterapia è quello di accelerare il meccanismo di rigenerazione tissutale grazie all'azione dei fattori di crescita contenuti negli α -granuli delle piastrine (12-13).

Gli emocomponenti attualmente disponibili si dividono in:

- prodotti preparati presso il Servizio Trasfusionale a partire da donazioni autologhe o allogeneiche e comprendono il PRP omologo (PRP-OMO), il PRP da aferesi (PRP-AFE) e la Leuco-plasma-piastrinoafèresi (L-PRP);
- prodotti autologhi ottenuti con utilizzo di dispositivi medici dedicati, come quello utilizzato per la preparazione del PRP-SD.

Agli emocomponenti autologhi e allogeneici (fig. 1) vengono applicati gli esami di validazione biologica che devono essere eseguiti all'inizio di ogni ciclo terapeutico, quali la determinazione del gruppo ABO/Rh e i controlli sierologici di legge (HBsAg, HCV-Ab, HIV1-2Ab) [14].

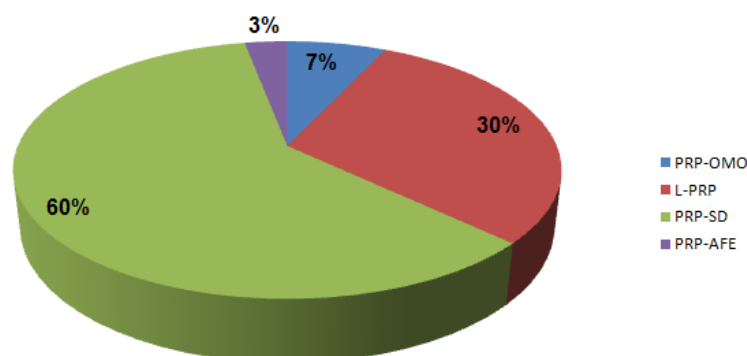


Figura 1: Procedure di preparazione del Plasma Ricco di Piastrine (PRP) eseguite presso il centro di Medicina Rigenerativa dell'AOU-Careggi

Questi controlli possono essere omessi per l'emocomponente autologo se il prelievo, la produzione e l'applicazione vengono eseguiti lo stesso giorno, senza alcuna conservazione del prodotto.

La tipologia di emocomponente da utilizzare per il trattamento dei pazienti viene scelta dal medico trasfusionista in base alle loro caratteristiche cliniche, quali, età, accessi venosi e patologie concomitanti scegliendo tra:

1. Il PRP-SD (PRP da Sistema Dedicato), un emocomponente ottenuto da prelievi ematici tramite dispositivi dedicati (provette BD® standard) la cui lavorazione è effettuata, di norma, entro tre ore dalla procedura di raccolta ed infiltrato al paziente dopo poche ore dalla preparazione;
2. La L-PRP (Leuco-plasma-piastrinoaferesi) si ottiene mediante la procedura di leuco-plasma-piastrinoaferesi autologa, eseguita mediante il separatore cellulare Haemonetics MCS+ (HaemoneticsCorp., Braintree, MA, USA), che consente di separare il concentrato leucopiastrinico e il plasma (fino a un massimo di 200 ml), mentre i globuli rossi vengono reinfusi. Durante la procedura, il sangue non viene a contatto diretto con l'apparecchiatura e per mantenerne la fluidità è proporzionalmente immessa una soluzione anticoagulante (1:9-1:12). Al termine della procedura i due emocomponenti, plasma e concentrato leucopiastrinico, sono raccolti in sacche separate. La sacca madre contenente L-PRP viene frazionata entro 24 ore dalla procedura di raccolta e le aliquote non infiltrate vengono congelate a temperatura $\leq -20^{\circ}\text{C}$;
3. Il PRP-AFE (PRP da aferesi) si ottiene mediante una procedura di plasma-piastrinoaferesi autologa, mediante l'utilizzo del separatore cellulare Haemonetics MCS+ (HaemoneticsCorp., Braintree, MA, USA). Al termine della procedura si ottiene il plasma e il concentrato piastrinico, raccolti in sacche separate. La sacca madre contenente il concentrato piastrinico, viene frazionata e le aliquote congelate a temperatura $\leq -20^{\circ}\text{C}$;
4. Il PRP-OMO (PRP Omologo) è un emocomponente allogenic per uso non infusione/trasfusionale, ottenuto dalla lavorazione di un'aferesi piastrinica di un donatore, con un contenuto piastrinico di $3,5 \times 10^6 \mu\text{L} \pm 20\%$ e volume variabile. Dalla sacca madre contenente PRP-OMO, si ottengono aliquote che vengono congelate a temperatura $\leq -20^{\circ}\text{C}$.

RISULTATI

Su tutti i pazienti trattati con il PRP è stato eseguito l'emocromo di controllo prima del prelievo e, successivamente, sull'emocomponente. Dal confronto dei risultati ottenuti si è osservata una certa variabilità, più o meno rilevante, della concentrazione di piastrine e di leucociti nel PRP ottenuto con i diversi metodi di preparazione.

Il Decreto del 2 novembre 2015, recante "Disposizioni relative ai requisiti di qualità e sicurezza del sangue e degli emocomponenti", indica il range di accettabilità della concentrazione piastrinica ($1,0 \times 10^6 \mu\text{L} \pm 20\%$), che deve essere presente negli emocomponenti ad uso non

infusione. Nel suddetto Decreto, invece, non viene riportato nessun intervallo di accettabilità per i leucociti contenuti nel PRP. Con la procedura del PRP-SD e del PRP-AFE si ottiene un emocomponente con una concentrazione piastrinica di tre/quattro volte superiore rispetto al valore iniziale di piastrine dell'emocromo del paziente (fig. 2), in entrambi i casi, comunque, la concentrazione risulta essere all'interno dell'intervallo di accettabilità indicato dal Decreto.

Mediante la L-PRP si ottiene, invece, un plasma ricco di piastrine con valori di concentrazione piastrinica mediamente superiori a quelli riportati dal Decreto. Il numero di leucociti presenti nel PRP ottenuto con le diverse modalità di preparazione, dimostra una significativa variabilità. Mediante il PRP-SD si ottiene un recupero di leucociti molto inferiore rispetto a quello registrato con la procedura della leuco-plasma-piastrinoafèresi (L-PRP), mentre con il PRP-AFE si ottiene un gel piastrinico contenente solo piastrine e privo di leucociti (fig. 3).

I risultati ottenuti sono stati, quindi, confrontati con i dati riportati in letteratura (15-19), al fine di identificare il metodo di preparazione del PRP più efficace, in termini di recupero piastrinico e leucocitario.

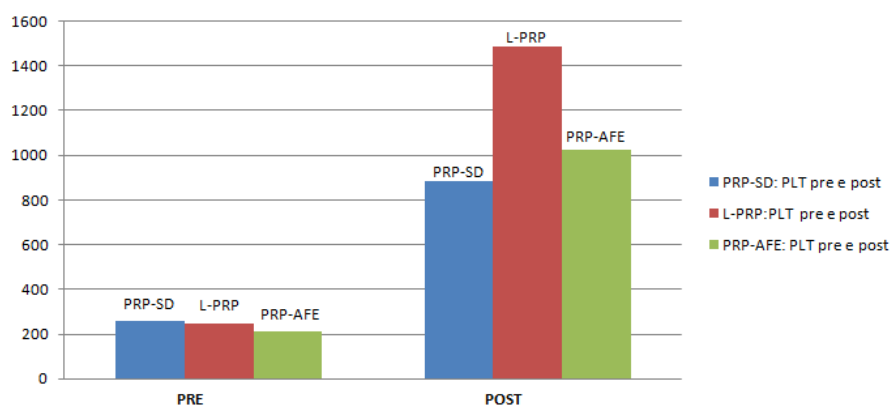


Figura 2: Confronto tra i valori medi delle piastrine (PLT) ottenuti con i diversi metodi di preparazione del Plasma Ricco di Piastrine (PRP)

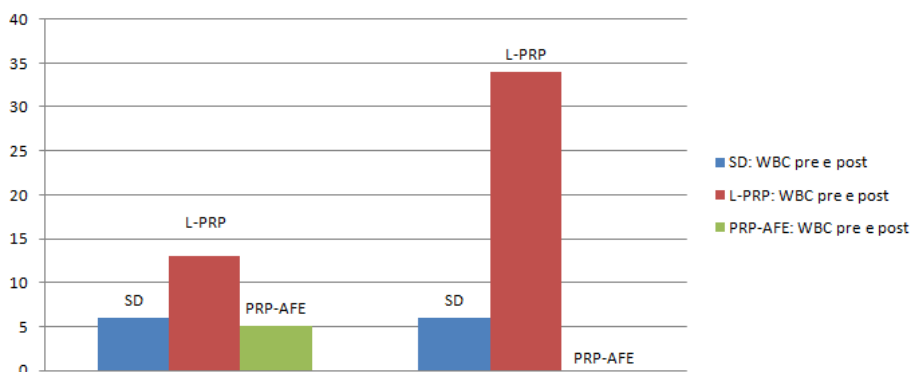


Figura 3: Confronto tra i valori medi dei leucociti (WBC) ottenuti con i diversi metodi di preparazione del Plasma Ricco di Piastrine (PRP)

DISCUSSIONE

Affinché il PRP possa essere un prodotto ottimale e con effetti durevoli nel tempo, il PRP deve avere determinate caratteristiche, come indicato dal Decreto del 2 novembre 2015.

I dati presenti in letteratura mettono in evidenza come i fattori di crescita presenti nei granuli alfa delle piastrine sono proteine coinvolte nei meccanismi di comunicazione intercellulare e svolgono un ruolo chiave nei processi di riparazione e rigenerazione tissutale; ma è importante che siano presenti nella concentrazione più idonea e funzionale a stimolare la replicazione e a regolare la differenziazione delle cellule di origine mesenchimale, che sono responsabili dei processi riparativi (quali fibroblasti, osteoblasti e cellule endoteliali) (20-21).

Questi fattori di crescita esercitano, inoltre, una funzione chemiotattica verso cellule ad azione antinfiammatoria, quali macrofagi, monociti e polimorfonucleati.

Un ruolo importante nei processi di riparazione è svolto anche dalle citochine prodotte dai leucociti, che, agendo in maniera sinergica con i fattori di crescita piastrinici, concorrono sia al processo di rigenerazione cellulare, che al processo di riepitelizzazione e di rimodellamento (22-23). I dati presenti in letteratura evidenziano, però, che concentrazioni elevate di leucociti nel Plasma Ricco di Piastrine determinano un maggior aumento delle morti cellulari a livello dei tessuti trattati rispetto alle preparazioni di PRP con un contenuto più ridotto di leucociti. Questo fenomeno sembrerebbe correlato all'innescò ed alla cronicizzazione di un processo infiammatorio, favorito dall'elevata concentrazione di leucociti, che ostacolerebbe il processo di rigenerazione tissutale (Tabella I e II).

DATI EMOCOMPONENTI PRODOTTI PRESSO AOU-CAREGGI			
ANALITI	LR-PRP	LP-PRP	PPP
PLT K/ μ l	802 (510-1071)	740 (414-1136)	27,8 (20-41)
WBC K/ μ l	26,6 (12,6-44,5)	6,1 (4,4-8,0)	0,08 (0-0,1)

Tabella 1: Valori medi della concentrazione di Piastrine (PLT) e Leucociti (WBC) presenti nelle diverse tipologie di emocomponenti ad uso non infusionale riportati in letteratura. Legenda: LR-PRP (Plasma Ricco di Piastrine con elevato contenuto di Leucociti); LP-PRP (Plasma Ricco di Piastrine con ridotto numero di Leucociti); PPP (Plasma Povero di Piastrine)

DATI EMOCOMPONENTI PRODOTTI PRESSO AOU-CAREGGI			
ANALITI	PRP-SD	L-PRP	PRP-AFE
PLT K/ μ l	930 (744-1116)	1491 (1193-1739)	900 (650-1150)
WBC K/ μ l	12,6 (10,0-15,0)	34,2 (27,4-41,0)	0

Tabella 2: Valori medi della concentrazione di Piastrine (PLT) e Leucociti (WBC) presenti nelle diverse tipologie di emocomponenti ad uso non infusionale prodotti nel centro di Medicina rigenerativa di AOU-Careggi

Tenendo conto, quindi, delle evidenze scientifiche, dal confronto dei risultati ottenuti con i diversi metodi di preparazione del PRP, si può affermare che il PRP-SD sia una procedura con la quale si riesce ad ottenere un emocomponente che risponde a tutti i requisiti, in grado di garantire il miglior effetto terapeutico, in termini di efficacia e durezza.

L'analisi monocentrica, effettuata su una coorte di pazienti afferenti al centro di Medicina Rigenerativa dell'AOU-Careggi, ha confermato l'efficacia della scelta terapeutica dei medici trasfuzionisti di proporre, per il trattamento delle diverse patologie trattate (fig. 4), il PRP-SD come emocomponente ad uso non infusione o non trasfusionale.

Ad oggi, il PRP-SD viene prodotto con una procedura che dipende molto dalla efficace manualità dell'operatore, rendendo la standardizzazione del processo di preparazione meno attendibile.

Con questa tecnica si recupera un volume massimo di PRP pari a 4 ml, che risulta essere sufficiente per una singola infiltrazione.

Un limite importante del metodo di preparazione del PRP-SD è, infatti, l'impossibilità di ottenere un quantitativo sufficiente da poter aliquotare e congelare per le infiltrazioni successive e quindi, la necessità di praticare ad ogni ciclo di trattamento una venipuntura al paziente [24].

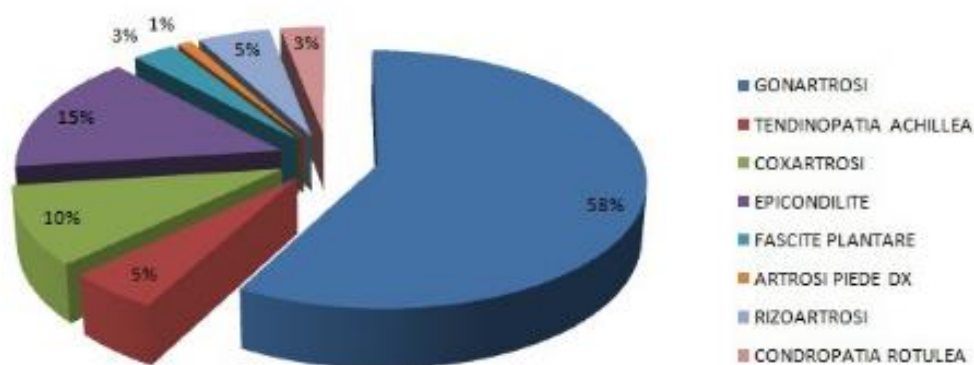


Figura 4: Principali patologie trattate presso il centro di Medicina Rigenerativa dell'Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi

CONCLUSIONI

Dal confronto dei dati ottenuti, il PRP-SD risulta essere, quindi, un emocomponente per uso non infusione/trasfusionale, con una concentrazione di piastrine e di leucociti ottimale, che permette di ottenere un prodotto in grado di garantire un risultato terapeutico efficace e durevole nel tempo [25].

La preparazione di un PRP con un adeguato quantitativo sia di leucociti che di piastrine, favorisce, quindi, la replicazione e la differenziazione delle cellule coinvolte nei meccanismi fisiologici di riparazione e rigenerazione tissutale dell'organismo [26].

Riferimenti bibliografici

- [1] Andrae J., Gallini R., Betsholtz C.: Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev* 2008; 22:1276-1312.
- [2] Tsay RC, Vo J, Burke A., Eising SB, Lu HH, Landesberg R (2005) Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg* 63:521-528.
- [3] Anitua E., Sánchez M., del Mar Zaldueño M., de la Fuente M., Prado R., Orive G., Andia J.: Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Prolif* 2009; 42: 162-170.
- [4] Carmeliet P., Storzbaum E.: Vascular and neuronal effects of VEGF in the nervous system: implications for neurological disorders. *Semin Cell Dev Biol* 2002; 13:39-53.
- [5] Borzini P, Mazzucco L: Platelet-rich plasma (PRP) and platelet derivatives for topical therapy. What is true from the biological view point? *ISBT Science Series* 2007; 2:272-281.
- [6] Browning S.R., Weiser A.M., Woolf N., Golish R., SanGiovanni T.P., Scuderi G.J., Carballo C., Hanna L.S.: Platelet-rich plasma increases matrix metalloproteinases in cultures of human synovial fibroblasts. *J Bone Joint Surg Am* 2012; 94:1-7.
- [7] Assirelli E., Filardo G, Mariani E, Kon E, Roffi A, Vaccaro F, Marcacci M, Facchini A, Pulsatelli L. Effect of two different preparations of platelet-rich plasma on synoviocytes. *Knee surg sports traumatol arthrosc.* 2015; 9:2690-703.
- [8] Barrientos S., Stojadinovic O., Golinko M.S., Brem H., Tomic-Canic M.: Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair. Regen* 2008; 16:585-601.
- [9] Haseeb A, Haqqi TM (2013) Immunopathogenesis of Osteoarthritis. *Clin Immunol* 146:185-196.
- [10] Whitman, D. H; Berry, R. L.; Green, D. M. Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J. Oral. Maxillofac. surg.*, 55:1294-9, 1997.
- [11] Garcia-Martinez O., Reyes-Botella C., Diaz-Rodriguez L., De Luna-Bertos E., RamosTorrecillas J., Vallecillo-Capilla M.F., Ruiz C.: Effect of platelet-rich plasma on growth and antigenic profile of human osteoblasts and its clinical impact. *J Oral Maxillofac Surg* 2012; 70:1558-1564.
- [12] Borzini P., Mazzucco L.: Tissue regeneration and in-loco administration of platelet derivatives. Clinical outcome, heterogeneous products, heterogeneity of the effector mechanisms. *Transfusion* 2005; 35:1759-1767.
- [13] Carter M.J., Fylling C.P., Parnell L.K.: Use of platelet rich plasma on wound healing: "a systematic review and meta-analysis." *Eplasty* 2011; 11:38.
- [14] DECRETO 2 novembre 2015 : Disposizioni relative ai requisiti di qualità e sicurezza del sangue e degli emocomponenti.
- [15] Cho H.S., Song I.H., Park S. Y., Sung M.C., Ahn M.W., Song K.E.: Individual variation in growth factor concentrations in platelet-rich plasma and its influence on human mesenchymal stem cells. *Korean J Lab Med* 2011; 31 :212-218.
- [16] Drengk A., Zapf A., Stürmer E.K., Stürmer K.M., Frosch K.H.: Influence of platelet-rich plasma on chondrogenic differentiation and proliferation of chondrocytes and mesenchymal stem cells. *Cells Tissues Organs.* 2009; 189:317-326.

- [17]Graziani F., Ivanovski S., Cei S., Ducci F., Tonetti M., Gabriele M.: The in vitro effect of different concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res* 2005; 17:212-219.
- [18]Hilary J. Braun, Hyeon Joo Kim, Constance R. Chu, Jason L. Dragoo The effect of Platelet-Rich plasma formulation and blood products on human synoviocytes.
- [19]Jackson S.P.: The growing complexity of platelet aggregation. *Blood* 2007; 109:5087-5095.
- [20]Goldring MB, Otero M (2011) Inflammation in osteoarthritis. *Curr Opin Rheumatol* 23:471-478.
- [21]Jurk K., Kehrel B.E.: Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost* 2005; 31:381-392.
- [22]Macaulay L.c., Carr P., Gusnanto A., Ouwehand W.H., Fitzgerald D., Watkins N.A. Platelet genomics and proteomics in human health and disease. *J Clin Invest* 2005; 115:3370-3377.
- [23]Park SI, Lee HR, Kim S, Ahn MW, Do SH (2012) Time sequential modulation in expression of growth factors from platelet-rich plasma (PRP) on the chondrocyte cultures. *Moll Cell Biochem* 361:9-17.
- [24]Tschon M, Fini M, Giardino R, Filiardo G, Dallari D, Torricelli P, Martini L, Giavaresi G, Kon E, Maltarello MC, Nicolini A, Carpi A (2011) Lights and shadow concerning platelet products for musculoskeletal regeneration. *Front Biosci (Elite Ed)* 3:96-107.
- [25]Werner S, Grose R.: Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev.* 2003; 83:835-870.
- [26]Cole BJ, Seroyer ST, Filiardo G, Bajaj S, Fortier LA (2010) Platelet-Rich Plasma: where are we now and where are we going? *Sports Health* 2:203-210.

CONTATTO AUTORE

Veronica Cunsolo
SOD Terapie Cellulari e Medicina Trasfusionale, Dipartimento Oncologia
Azienda Ospedaliero Universitaria Careggi, Firenze
cunsolov@aou-careggi.toscana.it
cell. 3387777399 – telefono AOU-Careggi 0557949250