Autogenne osocze bogatopłytkowe – rodzaje, sposoby aktywacji i zastosowanie

PRZEMYSŁAW PRZĄDKA, ZDZISŁAW KIEŁBOWICZ, PIOTR SKRZYPCZAK

Katedra i Klinika Chirurgii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław

Otrzymano 04.09.2015

Zaakceptowano 20.10.2015

Prządka P., Kielbowicz Z., Skrzypczak P.

Autogenic platelet-rich plasma: types, activation methods, and applications

Summary

Platelet-rich plasma (PRP) is an autogenic source of many growth factors that are a part of the healing process and tissue regeneration, which is the cause of its growing popularity in regenerative medicine. In this paper, we present a definition and characteristics of PRP, as well as ways of extracting it. We also present the issue of thrombocyte activation and the impact of thrombocytes on PRP. We explain how to obtain the optimal density of platelets in PRP, as well as its influence on tissues. Additionally, we describe some of the applications of PRP in experimental and clinical work.

Keywords: platelet-rich plasma, PRP, regenerative medicine

Płytki krwi (trombocyty) powstają w szpiku kostnym poprzez fragmentację megakariocytów. Pozbawione jądra komórkowego trombocyty uwalniane są do krwiobiegu, gdzie spełniają liczne funkcje w organizmie. Jednym z ich zadań jest udział w pierwotnej i wtórnej hemostazie, zapobiegając wynaczynieniu krwi w czasie urazu tkanek z uszkodzeniem ciągłości naczyń krwionośnych. Aktywacja płytek krwi i uruchomienie kaskady krzepnięcia prowadzą do uformowania w miejscu urazu skrzepu, w którym oprócz trombocytów znajdują się erytrocyty oraz białe krwinki (2, 4, 24).

Trombocyty odgrywają również kluczową rolę w gojeniu ran, wpływając na proliferację naczyń krwionośnych oraz naprawę i regenerację tkanek. Ich aktywacja powoduje uwolnienie lub odsłonięcie na ich powierzchni ponad 800 różnych, biologicznie czynnych substancji, tj. cytokin czy czynników wzrostu. Proces ten jest szczególnie intensywny w pierwszych godzinach po aktywacji. Dodatkowo dzięki obecności mRNA w płytkach krwi czynniki te są syntetyzowane i uwalniane przez okres co najmniej 7 kolejnych dni. Czynniki zawarte w trombocytach wpływają nie tylko na proces krzepnięcia krwi, ale także na migrację i proliferację różnych typów komórek: fibroblastów, chondrocytów, tenocytów, komórek śródbłonnka naczyń krwionośnych, osteoblastów, miocytów oraz mezenchymalnych komórek macierzystych różnych narządów. Pobudzają również odbudowę naczyń krwionośnych, co w połączeniu z innymi właściwościami umożliwia procesy naprawy i regeneracji

tkanek organizmu. Działanie to odbywa się na drodze autokrynej, parakrynej oraz endokrynej, a magazynem dla wspomnianych czynników są: cytoplazma trombocytów, ziarnistości alfa, ziarnistości gęste i lizosomy (2, 4, 5, 15, 28).

Spośród wszystkich biologicznych czynnych części występujących w płytkach krwi największy udział w procesie gojenia i naprawy tkanek przypisuje się tzw. czynnikom wzrostu, zmagazynowanym głównie w ziarnistościach alfa trombocytów (2, 4, 28). Czynniki wzrostu są niejednorodną grupą białek wydzielanych poza trombocyty również przez inne tkanki organizmu (tj. komórki tkanki łącznej, hematopoetyczne komórki macierzyste). Wykazują w organizmie krótki okres połowicznego rozpadu, wywołując w większości przypadków lokalny efekt działania (19).

Wśród czynników wzrostu zawartych w trombocytach do najlepiej poznanych i najczęściej wymienianych przez wielu autorów należą: płytkowopochodny czynnik wzrostu, transformujący czynnik wzrostu, naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, insulino-podobny czynnik wzrostu oraz naskórkowy czynnik wzrostu (1, 12, 18, 19, 21, 28, 29).

Płytkowopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor – PDGF) występuje w postaci homo- lub heterodimerów. Jest ważnym czynnikiem w procesie gojenia zarówno tkanek miękkich, jak i twardych. Pobudza mitogenezę fibroblastów, osteoblastów, gładkich komórek mięśniowych, komórek glejowych oraz mezenchymalnych komórek macierzystych. Stymuluje także napływ neutrofilów i makrofagów

w miejsce uszkodzenia tkanek (rany), pobudza proces angiogenezy i naskórkowania (4, 13).

Transformujący czynnik wzrostu (transforming growth factor – TGF) występuje w dwóch formach, alfa i beta. Do tej grupy czynników wzrostu należą również tzw. białka morfogenetyczne kości (BMPs), aktywnie uczestniczące m.in. w procesie gojenia tkanki kostnej. TGF, podobnie jak PDGF, uczestniczy w procesach gojenia ran poprzez wpływ na procesy zapalne, proliferację naczyń krwionośnych i naskórkowanie. Jego ważną rolą jest m.in. stymulacja syntezy kolagenu typu I przez tkankę łączną oraz wpływ na procesy dojrzewania kolagenu w fazie naprawczej procesu gojenia (4, 32).

Naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (vascular endothelium growth factor – VEGF) jest spokrewniony z czynnikiem PDGF. Poprzez stymulujący wpływ na migrację i proliferację komórek śródbłonka uczestniczy w procesie angiogenezy. Wykazuje również właściwości chemotaktyczne w stosunku do makrofagów i neutrofilów. Spełnia istotną rolę w ochronie i naprawie komórek nerwowych (4).

Insulinopodobny czynnik wzrostu (insulin-like growth factor – IGF) jako czynnik wzrostu wpływa stymulująco na procesy gojenia tkanki kostnej. Działanie to odbywa się poprzez stymulację osteoblastów do podziałów i formowania nowej tkanki kostnej. Właściwości te są wykorzystywane m.in. w osadzaniu implantów w kościach (32).

Naskórkowy czynnik wzrostu (epidermal growth factor – EGF) odgrywa istotną rolę w procesie gojenia ran. Stymuluje m.in. proces podziałów komórkowych keratynocytów oraz ich migrację w kierunku rany, przez co bierze udział w procesie naskórkowania. Powoduje również wzrost wytrzymałości rany na napięcia (4, 13, 32).

Osocze bogatopłytkowe

Mimo że otrzymywanie osocza bogatopłytkowego (Platelet-Rich Plasma, PRP) zostało opracowane w latach siedemdziesiątych XX w., dopiero dwadzieścia lat później zyskało na popularności, aż do czasów obecnych, kiedy to w medycynie jest często stosowanym preparatem, zwłaszcza w chirurgii (2, 18). Wynika to m.in. z jego właściwości, a dokładnie z obecności licznych czynników zawartych w płytkach krwi, wpływających na procesy zachodzące w żywym organizmie, m.in. na gojenie i regenerację miękkich i twardych tkanek (18).

Dokładna definicja osocza bogatopłytkowego nie została jeszcze jednoznacznie określona. Wynika to z obecności zbyt dużej ilości czynników uzyskanych w produktach pochodnych pełnej krwi, które mogłyby być rozpatrywane przy ustalaniu jednej wspólnej definicji. Jednocześnie zasadne wydaje się uznawanie różnych wariantów PRP, chociaż porównanie oraz określenie ich potencjału czy ograniczeń jest trudne do ustalenia (12).

Natomiast wszystkie źródła jednogłośnie uznają osocze bogatopłytkowe za autogeny preparat uzyskany z pełnej krwi, zawierający koncentrat płytek krwi w niewielkiej ilości osocza (18-20). Koncentracja trombocytów w PRP nie powinna być mniejsza niż 200% liczby trombocytów krwi wyjściowej (2, 12, 29).

Otrzymywanie i rodzaje osocza bogatopłytkowego

Krew żylną potrzebną do produkcji autogenego PRP uzyskuje się od leczonego pacjenta. Pobierana krew jest bezpośrednio mieszana z antykoagulantem zawartym w probówce, którym zwykle jest cytrynian sodu, w proporcjach 1 ml antykoagulantu na 7-8 ml pełnej krwi. Tak przygotowany materiał poddaje się następnie dalszym procesom, różniącym się w zależności od użytej metody (24).

Metoda uzyskiwania osocza bogatopłytkowego ma zasadniczy wpływ na skład i koncentrację jego poszczególnych składników, tj.: trombocytów, leukocytów czy erytrocytów (3). Jednocześnie niezależnie od użytej metody celem całej procedury jest zwiększenie liczby trombocytów w przygotowanym preparacie (24, 27).

Obecnie na rynku dostępne są gotowe jałowe zestawy do uzyskiwania PRP w warunkach ambulatoryjnych. Cała procedura opiera się na wirowaniu z różną prędkością (zwykle zalecaną przez producenta) pobranej wcześniej na antykoagulant pełnej krwi, w wyniku czego dochodzi do jej rozdzielenia na frakcje: krwinek czerwonych, osocza bogatopłytkowego oraz osocza ubogopłytkowego. Oddzielenie poszczególnych frakcji może zachodzić automatycznie dzięki obecności specjalnych przegród w probówkach lub być wykonywane ręcznie np. poprzez pipetowanie (5).

Według dostępnej literatury (3, 28), wśród sposobów ambulatoryjnego uzyskiwania PRP z pełnej krwi wyróżnia się trzy zasadnicze metody:

- pojedynczego wirowania – z wykorzystaniem typowych laboratoryjnych wirówek; po odwirowaniu ręcznie pobiera się koncentrat trombocytów z warstwy środkowej umieszczonej między warstwą erytrocytów a tzw. osoczem ubogopłytkowym,

- podwójnego wirowania – z wykorzystaniem komercyjnie dostępnych gotowych zestawów, pozwalających na większe zagęszczenie płytek krwi, poprzez drugie wirowanie odwirowanego wcześniej osocza,

- selektywnej filtracji krwi – z wykorzystaniem specjalnych filtrów dostępnych komercyjnie, które umożliwiają oddzielenie erytrocytów od PRP i leukocytów.

W zależności od metody otrzymywania można uzyskać PRP zawierające ponad 8 razy więcej trombocytów niż we krwi wyjściowej. Podwójne wirowanie umożliwia uzyskanie większej koncentracji trombocytów w porównaniu z jednokrotnym wirowaniem. Jednocześnie preparaty uzyskane metodą podwójnego wirowania zawierają większą koncentrację leukocytów, które, w przeciwieństwie do trombocytów, powodują wzrost uwalnianych czynników o działaniu

katabolicznym, dlatego pod tym względem można wyróżnić osocze bogatopłytkowe zawierające tylko trombocyty, określane jako czyste PRP (pure-PRP, P-PRP) oraz osocze bogatopłytkowe z dodatkiem leukocytów (leukocytes-PRP, L-PRP) (3, 8).

Rodzaje aktywacji osocza bogatopłytkowego

Wykorzystywane w medycynie osocze bogatopłytkowe może być użyte w formie aktywowanej i nieaktywowanej.

Powolna aktywacja PRP może być uzyskana poprzez dodanie do niego 10% roztworu chlorku wapnia, będącego źródłem jonów wapnia, uczestniczących w przemianie protrombiny w trombinę. Natomiast natychmiastową aktywację można przeprowadzić, dodając (oprócz wspomnianego wcześniej chlorku wapnia) trombinę pochodzenia bydlęcego, rzadziej ludzkiego.

Nieaktywowane osocze bogatopłytkowe ulega aktywacji dopiero w miejscu podania (*in situ*), co jest możliwe dzięki obecności w tkankach czynników potrzebnych do jego uaktywnienia (3, 19).

W zależności od zastosowanej formy aktywacji lub jej braku możemy uzyskać stopniowe lub gwałtowne uwalnianie czynników zawartych w PRP, co może mieć znaczenie w sygnalizowaniu i funkcjonowaniu komórek wrażliwych na ich działanie (3). Większość dostępnej literatury sugeruje konieczność aktywowania osocza bogatopłytkowego, głównie przez dodanie do uzyskanego PRP chlorku wapnia i/lub trombiny bydlęcej (rzadziej autogennej) (13). Innymi proponowanymi sposobami aktywacji trombocytów w PRP są: jego mrożenie (2) lub stosowanie syntetycznego peptydu podobnego do trombiny, nazywanego TRAP-6 (Thrombin Receptor Activator Peptide 6) (17, 24).

Stosowanie trombiny bydlęcej do aktywacji PRP związane jest z ryzykiem przeniesienia infekcji na biorcę (4). Jej stosowanie w niektórych przypadkach powoduje powstanie przeciwciał przeciwko czynnikom krzepnięcia: V, XI i trombinie, co może prowadzić do rozwoju koagulopatii (4, 11, 17, 24, 27).

Aktywacja egzogenna trombocytów zawartych w PRP przed zastosowaniem u pacjenta ma spowodować uwolnienie czynników wzrostu szybciej i w większej ilości (13). W badaniach porównujących wpływ aktywacji trombocytów w PRP człowieka wykazano, że spośród 37 badanych białek w przypadku 12 obserwowano wzrost ich stężenia tylko po aktywacji (2). Inne wnioski prezentują badacze koreańscy (18) porównujący stężenie dwóch grup białek: PDGF, TGF uznanych przez nich za główne czynniki wzrostu, biorące udział w procesie gojenia i regeneracji tkanek. Wykazali oni, że stężenie badanych czynników było w obu przypadkach równe lub wyższe w nieaktywowanym osoczu bogatopłytkowym w porównaniu do aktywowanego. Jednocześnie autorzy sugerują, że nie ma konieczności aktywacji PRP chlorkiem wapnia czy trombiną przed podaniem pacjentowi.

Zagęszczenie osocza bogatopłytkowego

Zagadnieniem, nieposiadającym jednoznacznej odpowiedzi, jest zagęszczenie płytek krwi w PRP optymalnie wpływające na procesy gojenia i naprawy uszkodzonych tkanek. Niektórzy autorzy sugerują, że zagęszczenie oscylujące w granicach 3-4-krotnego jest optymalne w przypadku gojenia tkanek, co zostało wykazane na przykładzie tkanki kostnej (9). Inni natomiast uważają, że optymalne terapeutyczne zagęszczenie trombocytów w PRP powinno wynosić minimum pięciokrotność wartości wyjściowej krwi pełnej (24). Mimo że dostępne obecnie urządzenia pozwalają uzyskać zagęszczenie powyżej 8-krotnego stężenia trombocytów w stosunku do krwi pełnej, istnieją prace, w których wykazano hamujący wpływ zbyt wysokiej koncentracji płytek krwi w zastosowanym PRP na proces regeneracji (2, 30). Potwierdzają to badania z użyciem PRP (o zagęszczeniu 9-11-krotnym w porównaniu do krwi pełnej) w leczeniu ubytków tkanki kostnej. Hamujący wpływ zastosowanego osocza bogatopłytkowego na procesy regeneracyjne autorzy tłumaczyli cytotoksycznym działaniem dużych stężeń czynników wzrostu zawartych w PRP (7). Niemniej jednak Kwon i wsp. (16) wykorzystali w swoich badaniach osocze bogatopłytkowe zawierające ponad 8-krotne zagęszczenie trombocytów w stosunku do wartości wyjściowych, uzyskując jednocześnie zadowalające wyniki w regeneracji eksperymentalnie uszkodzonej chrząstki stawu kolanowego u królików.

Odmianą osocza bogatopłytkowego jest tzw. fibryna bogatopłytkowa (PRF, Platelet-Rich Fibrin). Uzyskuje się ją poprzez natychmiastowe odwirowanie pełnej krwi pacjenta, która, w przeciwieństwie do metody uzyskania PRP, pobierana jest do probówek nie zawierających antykoagulantu. Aktywacja procesu krzepnięcia pobranej krwi i jej wirowanie powodują powstanie skrzepu fibryny w środkowej części probówki, tzn. między masą krwinek czerwonych na jej dnie a osoczem ubogopłytkowym nad uzyskanym skrzepem. Otrzymany w ten sposób produkt posiada konsystencję żelu, który zawiera cytokiny i czynniki wzrostu występujące w osoczu bogatopłytkowym, bez konieczności jego aktywacji. PRF znalazło zastosowanie m.in. w zaopatrywaniu zębodołów poekstrakcyjnych, co pomaga ograniczyć zanik kości wyrostka zębodołowego (6, 8, 23).

Przykłady zastosowania osocza bogatopłytkowego w medycynie

Spośród wszystkich doniesień naukowych prezentujących zastosowanie osocza bogatopłytkowego zarówno w medycynie człowieka, jak i weterynarii, PRP jest najczęściej wykorzystywane w: leczeniu schorzeń przyzębia i chirurgii jamy ustnej, chirurgii twarzowo-szczękowej, ortopedii i tzw. chirurgii urazowej. PRP znalazło również zastosowanie w leczeniu

trudno gojących się ran, takich jak owrzodzenia stopy cukrzycowej, oparzenia. Ponadto wykorzystuje się je w kardiochirurgii, neurochirurgii oraz w chirurgii plastycznej (14, 16, 28).

Zastosowanie osocza bogatopłytkowego w ortopedii zapoczątkowała chirurgia twarzowo-szczękowa, w której wykorzystano PRP do przyspieszenia regeneracji kości w implantacji protez zębowych. Uzyskanie dobrych wyników leczenia w tej dziedzinie pozwoliło na wykorzystanie czynników wzrostu zawartych w PRP do leczenia: złamań kości, stawów rzekomych oraz zapaleń kości (5).

Stymulujący wpływ czynników wzrostu zawartych w PRP na namnażanie się tenocytów pozwoliło na zastosowanie osocza bogatopłytkowego w leczeniu schorzeń tkanek miękkich narządu ruchu, tj. ścięgien i więzadeł. Jest ono wykorzystywane w leczeniu tzw. tendinopatii i znalazło zastosowanie zarówno u ludzi, jak i u zwierząt (głównie u koni) (5, 10).

Osocza bogatopłytkowego użyto również u ludzi w celu polepszenia wgajania się wszczepów (tkankowych) więzadła krzyżowego przedniego w kanałach kostnych, po zabiegach jego wewnątrzstawowej rekonstrukcji. Badania te wykazały poprawę przebudowy i wgojenia się użytych wszczepów, co wykazano w tomografii komputerowej i rezonansie magnetycznym (5, 25, 26). Przeprowadzono doświadczenie u psów, gdzie wykonano uszkodzenie (ubytek) więzadła krzyżowego doczaszkowego (WKD), który następnie wypełniano kolagenem typu I połączonym z PRP. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy pracy sugerują stymulujący wpływ zastosowanego preparatu na proces gojenia ubytku WKD oraz wzrost wytrzymałości powstałej blizny w porównaniu z grupą kontrolną (22).

Istnieją doniesienia, w których autorzy wskazują na pozytywny wpływ PRP podanego dostawowo w leczeniu choroby zwyrodnieniowej stawów, w tym również stawu kolanowego z uszkodzeniem więzadła krzyżowego doczaszkowego u psów (13, 14). Również zadowalające efekty działania osocza bogatopłytkowego podanego dostawowo uzyskali naukowcy w badaniach doświadczalnych na królikach, u których wcześniej wywołano stan zapalny stawu kolanowego, wprowadzając dostawowo kolagenazę. Wykazali oni w ten sposób ochronny wpływ osocza bogatopłytkowego na chrząstkę stawową oraz korzystny wpływ na jakość mazi stawowej. Wyniki zaprezentowanych badań są zgodne z wynikami badań przeprowadzonych *in vitro*, potwierdzając stymulujące działanie czynników wzrostu zawartych w PRP na proliferację i metabolizm chrząstki stawowej (15).

Wykorzystanie PRP w leczeniu zmian zwyrodnieniowych stawów, jak również ubytków chrząstki stawowej jest praktykowane również w medycynie człowieka. Przykładem jest artroskopowe leczenie ubytków chrząstki stawowej poprzez tzw. mikro-złamanie, po wykonaniu których w miejsce ubytku wprowadza się osocze bogatopłytkowe w formie

żelu. Działanie takie pozwala uzyskać lepsze wyniki leczenia w porównaniu z grupą kontrolną nawet u osób powyżej 40. roku życia, u których wcześniej zabieg ten bez użycia PRP nie dawał znaczącej poprawy klinicznej (19, 31).

Przyszłościowym kierunkiem wykorzystania PRP jest jego zastosowanie w inżynierii tkankowej. Pozwala ona na wyhodowanie potrzebnej tkanki przy wykorzystaniu czynników wzrostu, zawartych m.in. w osoczu bogatopłytkowym, połączonych z komórkami wyizolowanymi lub wyhodowanymi w laboratorium i osadzonych na odpowiednim rusztowaniu. Wśród badań tego typu wykonano m.in. ocenę skuteczności leczenia ubytków kostnych, wypełnionych mezenchymalnymi komórkami macierzystymi szpiku kostnego połączonymi z PRP, który spełniał jednocześnie funkcję rusztowania i źródła czynników wzrostu. Uzyskane wyniki były znacząco lepsze w porównaniu z grupą kontrolną czy też grupą leczoną tylko osoczem bogatopłytkowym (5).

Naukowcom udało się również wykazać obecność w trombocytach peptydów o właściwościach przeciwbakteryjnych (2, 8). Inne, udowodnione właściwości trombocytów to: ich działanie przeciwzapalne i przeciwbólowe, co potwierdzono zarówno w badaniach doświadczalnych, jak i klinicznych (2, 8, 13, 14).

Obecnie prowadzone są również badania nad wykorzystaniem połączenia czynników wzrostu zawartych w PRP z wyhodowanymi w laboratorium autogennymi chondrocytami, które wszczepione podskórnie u królików prowadziłyby do formowania tkanki chrzęstnej (19).

Już dziś można stwierdzić, że przyszłość medycyny to w dużej mierze medycyna regeneracyjna. Związane jest to m.in. z poznaniem i wykorzystaniem właściwości czynników wzrostu, których największym i łatwo dostępnym obecnie dla lekarza źródłem jest osocze bogatopłytkowe. Wspomniane czynniki wzrostu cieszą się dużym zainteresowaniem uczonych na całym świecie, co widoczne jest w licznych doniesieniach naukowych (12, 18, 20). Zainteresowanie to wynika m.in. z udziału czynników wzrostu i możliwości ich wykorzystania w procesach gojenia i naprawy wielu tkanek organizmu.

Pomimo dużej ilości dostępnych materiałów naukowych i ogromnej wiedzy w nich zawartych, na temat osocza bogatopłytkowego oraz możliwości jego zastosowania wciąż pozostaje wiele pytań budzących sporo wątpliwości. Najlepszym tego przykładem jest wspomniany wcześniej stopień zagęszczenia, a szczególnie jego wartości optymalne w leczeniu określonych urazów czy też regeneracji poszczególnych tkanek i narządów. W związku z powyższym wydaje się konieczne prowadzenie dalszych badań doświadczalnych, na bazie których będzie można opracować standardy postępowania z użyciem osocza bogatopłytkowego w leczeniu określonych obrażeń i regeneracji wybranych tkanek.

Piśmiennictwo

1. Akhundov K., Pietramaggiore G., Waselle L., Darwiche S., Guerid S., Scaletta C., Hirt-Burri N., Applegate L. A., Raffoul W. V.: Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing. *Annals of Burns and Fire Disasters* 2012, 25, 207-213.
2. Amable P. R., Carias R. B. V., Teixeira M. V. T., Pacheco I. C., Amaral R. J. F. C., Granjeiro J. M., Borojevic R.: Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res. Ther.* 2013, 67, 1-13.
3. Andia I., Sanchez M., Maffulli N.: Joint pathology and platelet-rich plasma therapies. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2012, 12, 7-22.
4. Burnouf T., Goubran H. A., Chen T.-M., Ou K.-L., EL-Ekiaby M., Radosevic M.: Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine. *Blood Rev.* 2013, 27, 77-89.
5. Chomicz-Bindas P., Zakrzewski P., Pomianowski S.: Koncentraty płytkowe zawierające czynniki wzrostu, jako nowa, obiecująca technika poprawy gojenia kości i tkanek miękkich w chirurgii ortopedycznej – wprowadzenie do zagadnienia. *Borgis – Post. Nauk Med.* 2010, 2, 153-157.
6. Ciapiński D., Malara P., Galaszek J., Kucięba K.: Zaopatrywanie zębodołów poekstrakcyjnych skrzepem fibryny bogatopłytkowej – jedna z metod zapobiegania zanikowi kości wyrostka zębodołowego. *Stomatol. Prak.* 2011, 9, 16-20.
7. Cieślak-Balicka A., Bielecki T., Gaździk T. S., Cieślak T.: Czynniki wzrostu zawarte w osoczu bogatopłytkowym jako autogennym materiale stymulującym procesy gojenia tkanki kostnej. *Czas Stomatol.* 2006, 59, 510-517.
8. Drago L., Bortolin M., Vassena C., Taschieri S., Fabbro M. D.: Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity. *BMC Microbiol.* 2013, 13, 1-5.
9. Issa J. P. M., Mello A. S. S., Lopes R. A., Di Mateo M. A. S., Iyomasa I. I.: PRP: Possibility in Regenerative Therapy. *Int. J. Morphol.* 2007, 25, 587-590.
10. Kalisiak O.: Zachowawcze leczenie ścięgien u koni. *Życie wet.* 2008, 83, 132-135.
11. Kaur P., Dahiya V.: Platelet-Rich Plasma: A Novel Bioengineering Concept. *Trends Biomater. Artif. Organs* 2011, 25, 86-90.
12. Kon E., Filardo G., Matteo B. D., Marcacci M.: PRP For the Treatment of Cartilage Pathology. *Open Orthop. J.* 2013, 7, 120-128.
13. Kostrzewski M., Aleksiewicz R., Bujna M., Kostro K., Kemilew J.: Terapia zapaleń kostno-stawowych u psów. *Weterynaria w praktyce* 2012, 11-12, 6-11.
14. Kostrzewski M., Aleksiewicz R., Kostrzewa D., Kostro K., Lutnicki K.: Zastosowanie kwasu hialuronowego oraz autologicznego osocza bogatopłytkowego w leczeniu choroby zwyrodnieniowej stawu kolanowego u psów, przebiegającej z uszkodzeniem więzadła krzyżowego doczaszkowego. *Weterynaria w praktyce* 2013, 4, 16-24.
15. Kwon D. R., Park G. Y., Lee S.: The Effects of Intra-Articular Platelet-Rich Plasma Injection According to the Severity of Collagenase-Induced Knee Osteoarthritis in Rabbit Model. *Ann. Rehabil. Med.* 2012, 36, 458-465.
16. Lacci K. M., Dardik A.: Platelet-Rich Plasma: Support for Its Use in Wound Healing. *Yale J. Biol. Med.* 2010, 83, 1-9.
17. Landesberg R., Burke A., Pinsky D., Katz R., Vo J., Eisig S. B., Lu H. H.: Activation of Platelet-Rich Plasma Using Thrombin Receptor Agonist Peptide. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2005, 63, 529-535.
18. Lee J. W., Kwon H., Kim T. K., Cho Y. K., Choi K. Y., Chung H. Y., Cho B. C., Yang J. D., Shin J. H.: Platelet-Rich Plasma: Quantitative Assessment of Growth Factor Levels and Comparative Analysis of Activated and Inactivated Groups. *Arch. Plast. Surg.* 2013, 40, 530-535.
19. Leong D. K. C., Benedict B. C. L. T., Chew K. T. L.: Autologous Growth Factors: A Biological Treatment in Sport Medicine. *Proc. Singapore Healthcare* 2010, 19, 229-236.
20. Marx R. E.: Platelet-Rich Plasma (PRP): What Is PRP and What Is Not PRP? *Implant Dent.* 2001, 10, 225-228.
21. Mazzocca A. D., McCarthy M. B. R., Chowanec D. M., Cote M. P., Romeo A. A., Bradley J. P., Arciero R. A., Beitzel K.: Platelet-Rich Plasma Differs According to Preparation Method and Human Variability. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2012, 94, 308-316.
22. Murray M. M., Spindler K. P., Devin C., Snyder B. S., Muller J., Takahashi M., Ballard P., Nannery L. B., Zurakowski D.: Use of a Collagen – Platelet-Rich Plasma Scaffold to Stimulate Healing of a Central Defect in the Canine ACL. *J. Orthop. Res.* 2006, 4, 820-830.
23. Nakajima Y., Kawase T., Okuda K., Wolff L. F., Yoshie H.: Bioactivity of freeze-dried platelet-rich plasma in an adsorbed form on a biodegradable polymer material. *Platelets.* 2012, 23, 594-603.
24. Pietrzykowska A.: Osocze bogatopłytkowe – perspektywy klinicznego zastosowania w medycynie estetycznej. *Med. Estet.* 2010, 3, 16-29.
25. Rupprecht M., Vogrin M., Hussein M.: MRI evaluation of tibial tunnel wall cortical bone formation after platelet – rich plasma applied during anterior cruciate ligament reconstruction. *Radiol. Oncol.* 2013, 47, 119-124.
26. Seijas R., Ares O., Catala J., Alvarez-Diaz P., Cusco X., Cugat R.: Magnetic resonance imaging evaluation of patellar tendon graft remodeling after anterior cruciate ligament reconstruction with or without platelet-rich plasma. *J. Orthop. Surg.* 2013, 21, 10-14.
27. Smith R. G., Gassmann C. J., Campbell M. S.: Platelet-Rich Plasma Properties and Clinical Applications. *J. L. G. H.* 2007, 2, 73-78.
28. Szpringer E.: Zastosowanie osocza bogatopłytkowego nowej generacji – GPS w zabiegach regeneracji skóry. *Dermatol. Estet.* 2011, 13, 378-384.
29. Textor J. A., Tablin F.: Intra – Articulation Use of a Platelet-Rich Plasma in Normal Horses: Clinical Signs and Cytologic Responses. *Vet. Surg.* 2013, 42, 499-510.
30. Weibrich G., Hansen T., Kleis W., Buch R., Hitzler W. E.: Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone* 2004, 34, 665-671.
31. Woo G., Son J.-H., Kim J.-D., Jung G.-H.: Is platelet-rich plasma able to enhance the results of arthroscopic microfracture in early osteoarthritis and cartilage lesion over 40 years of age. *Eur. J. Orthop. Surg. Traumatol.* 2013, 23, 581-587.
32. Zhang N., Wu Y.-P., Quin S.-J., Teng C., Chen S., Li H.: Research Progress in the Mechanism of Effect of PRP in Bone Deficiency Healing. *Sci. World J.* 2013. ID 134582, 1-7. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/134582>.

Adres autora: dr Przemysław Przadka, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław; e-mail: przemyslaw.przadka@gmail.com