

# Autologiczne osocze bogatopłytkowe – możliwości zastosowania klinicznego

ROMAN ALEKSIEWICZ, IWONA STARCZEWSKA\*, MAREK KOSTRZEWSKI\*

Uniwersyteckie Centrum Medycyny Weterynaryjnej, UJ-UR, al. Mickiewicza, 31-120 Kraków

\*Stowarzyszenie Śląska Poliklinika Weterynaryjna, ul. St. Batorego 11, 41-500 Chorzów

Otrzymano 22.01.2014

Zaakceptowano 07.04.2014

Aleksiewicz R., Starczewska I., Kostrzewski M.

## Autologous platelet rich plasma – possibilities of clinical application

### Summary

Platelet rich plasma (PRP) is an ortobiological material, which is gaining popularity in the treatment, regeneration and acceleration of tissue healing. The article contains extensive information about the nature, mechanism of action, therapeutic properties and application of autologous platelet rich plasma (PRP) in medicine. The authors describe the technology of the acquisition and the effects of the PRP injection site, its beneficial effects on the regeneration of collagen, wound healing and reconstruction operations involving transplants.

**Keywords:** platelet rich plasma (PRP), surgery, animals

Trombocyty to oderwane, bezbarwne, różnokształtne fragmenty cytoplazmy megakariocytów o żywotności około 7 do 10 dni. Część obwodowa – hialomer – pełni funkcję osłony dla fosfolipidów błony komórkowej i glikoprotein będących receptorami (m.in. dla ADP, trombiny i serotoniny) na powierzchni płytki krwi, gdzie znajdują się immunoglobuliny IgG, IgM, plazminogen i wszystkie osoczowe czynniki krzepnięcia. W części środkowej trombocytów, zwanej glanuromerem, znajdują się ziarnistości; delta, z których uwalniane są: serotonina, ADP i wapń oraz ziarnistości alfa, uwalniające: fibrynogen, trombospodynę, osteokalcynę, tromboksan A2, czynnik von Willebranda (*vWF*), plazminogen, alfa2 inhibitor plazminy, płytkowe czynniki wzrostu (25). Dotychczas w płytkach krwi wykazano obecność ponad 30 czynników wzrostu. Niektóre z nich zaprezentowano w tab. 1.

Płytki krwi zawierają duże ilości serotoniny, adrenaliny, noradrenaliny oraz kationy, między innymi wapnia i potasu. Wapń wewnątrzkomórkowy bierze udział w stymulowaniu procesu uwalniania substancji zmagazynowanych w ziarnistościach wewnątrz płytek, głównie ADP, ATP i serotoniny (25). Podczas aktywacji płytek dochodzi do egzocytozy ziarnistości z udziałem mechanizmu molekularnego, takiego samego, jak w innych komórkach organizmu. Głównymi magazynami w trombocytach są: alfa ziarnistości, ziarnistości gęste (zbite) i lizosomy.

## Osocze bogatopłytkowe (PRP – Platelet Rich Plasma) – i jego zastosowanie

Ponad 60 substancji biologicznie czynnych, które biorą udział w procesach naprawy tkanek znajduje się w płytkach krwi (12, 38). Są one wykorzystywane w celu stymulacji odnowy tkankowej w ramach ortobiologii, stosunkowo nowej nauki zajmującej się stosowaniem materiałów biologicznych i oferującej nowe możliwości leczenia. Osocze bogatopłytkowe jest materiałem ortobiologicznym, który zyskuje popularność w leczeniu, regeneracji i przyspieszaniu gojenia tkanek. Procedury z użyciem preparatów osocza bogatopłytkowego znajdują szczególne zastosowanie w leczeniu zapaleń ścięgien, ostrych i przewlekłych stanów zapalnych mięśni, zwłóknienia mięśni, niektórych uszkodzeń stawów (19, 21), zarówno w medycynie ludzkiej (33), jak i w leczeniu koni i psów (16, 18, 32). W przypadkach stosowania autogenicznego PRP ograniczane jest ryzyko transmisji chorób zakaźnych oraz reakcji alergicznych (37).

Typowa próbka krwi zawiera 93% krwinek czerwonych, 6% płytek krwi i 1% krwinek białych. Idea stosowania PRP opiera się o odwróceniu stosunku czerwonych krwinek do płytek krwi przez zmniejszenie erytrocytów do 5% (które są mniej użyteczne w procesie gojenia) i, co ważniejsze, przez zwiększenie koncentracji trombocytów aż do 94%. Skuteczności terapeutycznej PRP należy oczekiwać przy minimum

Tab. 1. Wybrane czynniki wzrostu i ich działanie (37)

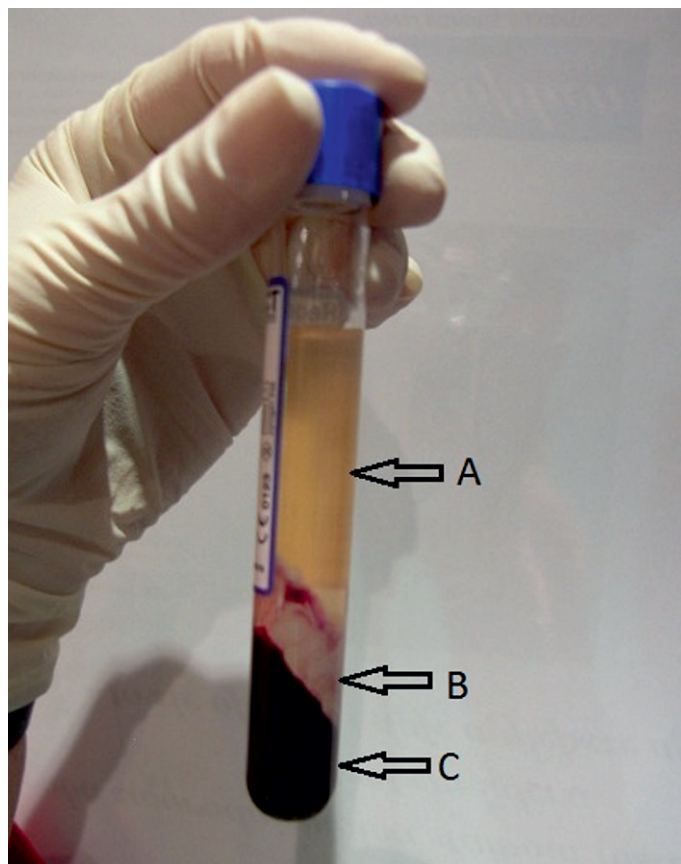
Czynnik wzrostu	Funkcja
Transformujący czynnik wzrostu- $\beta$ (Transforming growth factor- $\beta$ – TGF- $\beta$ )	stymuluje proliferację niezróżnicowanych komórek mezenchymalnych, reguluje mitogenezę śródbłonna, fibroblastów i osteoblastów, reguluje syntezę kolagenu i wydzielania kolagenazy, reguluje mitogenne działanie innych czynników wzrostu, pobudza śródbłonkową chemotaksję i angiogenezę, hamuje proliferację limfocytów i makrofagów
Czynnik wzrostu fibroblastów (Fibroblast growth factor – FGF)	promuje wzrost i różnicowanie osteoblastów i chondrocytów, działa mitogenicie w stosunku do komórek mezenchymalnych, chondrocytów i osteoblastów
Płytkopochodny czynnik wzrostu (Platelet-derived growth factor – PDGF)	działa miogenicie w stosunku do komórek mezenchymalnych i osteoblastów, stymuluje chemotaksję i mitogenezę fibroblastów, gleju i komórek mięśni gładkich, reguluje wydzielanie kolagenazy i syntezę kolagenu, pobudza chemotaksję neutrofilów i makrofagów
Czynnik wzrostu naskórka (Epidermal growth factor – EGF)	pobudza chemotaksję śródbłonkową lub angiogenezę, reguluje wydzielanie kolagenazy, pobudza mitogenezę nabłonka lub mezenchymy
Czynnik wzrostu śródbłonna naczyń (Vascular endothelial growth factor – VEGF)	zwiększa przepuszczalność naczyń i pobudza angiogenezę, stymuluje mitogenezę komórek śródbłonna
Czynnik wzrostu tkanki łącznej (Connective tissue growth factor – CTGF)	promuje angiogenezę, regenerację chrząstki, zwłóknienie i adhezję płytek krwi
Insulinopodobny czynnik wzrostu (Insulin like growth factor – ILGF 1 i 2)	czynnik chemotaktyczny dla fibroblastów, stymuluje syntezę białek, zwiększa tworzenie kości
Czynnik płytkowy 4 (Platelet factor 4 – PF-4)	stymuluje wstępny napływ neutrofilów do ran, jest chemoatraktantem dla fibroblastów
Interleukiny 8 (IL-8)	mediator zapalenia, rekrutacja komórek zapalnych
Czynnik wzrostu keratynocytów (Keratinocyte growth factor – KGF)	promuje wzrost komórek śródbłonna, migrację, adhezję, przeżywalność, angiogenezę

pięciokrotnym wzroście stężenia, tj. w przybliżeniu 1 000 000 płytek/ $\mu$ l.

Koncepcja regeneracji za pomocą własnych komórek i tkanek nie jest nowa, jej początki sięgają 1970 r., kiedy otrzymano autologiczne osocze bogatopłytkowe PRP jako produkt uboczny wieloskładnikowej aferezy. Osocze bogatopłytkowe otrzymuje się poprzez tromboferezę w wyniku odwirowania pełnej krwi żyłnej. Na rynku medycznym występuje duża różnorodność procedur otrzymywania PRP oraz szeroka oferta aparatury przeznaczonej do separacji płytek krwi. Niezależnie od rodzaju użytego zestawu, po odwirowaniu otrzymuje się trzy oddzielne warstwy. Pierwsza warstwa na dole to frakcja erytrocytarna, druga to osocze bogatopłytkowe, a trzecia, górna warstwa to osocze ubogopłytkowe PPP (Platelet Poor Plasma) ryc. 1.

Oddzielenie od siebie poszczególnych frakcji zachodzi dzięki przegrodom w postaci specjalnego pływaka/boi bądź żelu sedymentacyjnego (7). Różne czasy i prędkości wirowania zalecane przez producentów zestawów wpływają na proces tromboferezy oraz na skład ilościowy i jakościowy PRP. Komercyjne systemy pozwalają na uzyskiwanie osocza zawierającego nawet 11-krotnie większą liczbę płytek w mikrolitrze niż w krwi pełnej, a uzyskiwane objętości najczęściej nie przekraczają kilku mililitrów (2). Rewitalizacja tkanek jest możliwa dzięki autologicznej odnowie komórkowej ACR (Autologous Cell Rejuvenation), która sprowadza się do dobroczynnego działania własnych czynników wzrostu i mezenchymalnych komórek macierzystych. Użycie autologicznego osocza bogatopłytkowego wykazuje korzystne działanie w regeneracji kolagenu, leczeniu ran oraz w operacjach rekonstrukcyjnych z udziałem przeszczepów (28, 30).

Właściwości przeciwzapalne, w tym ograniczenie obrzęku oraz zmniejszenie liczby wybroczyn udokumentowane zostały w medycynie rekonstrukcyjnej w wielu przypadkach zabiegów kosmetycznych



Ryc. 1. A – supernatant zawierający osocze bogatopłytkowe PRP, B – żel separacyjny do aferezy morfotycznych składników krwi, C – oddzielone krwinki czerwone

(29, 36). Śródoperacyjne stosowanie PRP wpływa na ograniczenie krwawienia włóściwego w trakcie chirurgicznej korekcji zmarszczek i w zabiegach redukcji efektów fotostarzenia skóry (6, 23, 31). Zastosowanie PRP pozwala na skrócenie czasu operacji chirurgicznych, zwalnia z konieczności użycia drenów i opatrunków uciskowych, a także zmniejsza ryzyko komplikacji (9, 28, 34). PRP wykorzystywane w kombustologii w przypadkach leczenia trudno gojących się ran aktywuje formowanie się siateczki fibrynowej, stymuluje regenerację skóry, zwiększa prawdopodobieństwo przyjęcia przeszczepu skóry oraz przyspiesza epitalizację. PRP wykazuje właściwości ochronne przed niekorzystnym działaniem wolnych rodników tlenowych, zarówno w przestrzeni ochrony enzymatycznej, jak i z udziałem mechanizmów nieenzymatycznych (21, 30). PRP użyte śródoperacyjnie zapewnia szybki efekt hemostatyczny, stymuluje angiogenezę, rozwój śródbłonka, zwiększa syntezę kolagenu, poprawia krzepnięcie w łożysku rany, aktywuje proces gojenia rany oraz przyspiesza nabłonkowanie, powoduje stymulację mezenchymalnych komórek macierzystych. Szybkość gojenia się ran zależy od początkowej liczby płytek krwi. Efekty działania PRP w miejscu podania są konsekwencją stymulującego wpływu na cytokiny odpowiedzialne za chemotaksję, angiogenezę, immunomodulację, rewaskularyzację oraz formowanie macierzy zewnątrzkomórkowej. Jest to możliwe dzięki przyłączeniu uwalnianych przez aktywowany trombocyt czynników wzrostu do receptorów transbłonowych komórek docelowych (tj. mezenchymalnych komórek macierzystych, osteoblastów, fibroblastów, komórek śródbłonka, nabłonka, itp.). Jednokrotne związanie z receptorami transbłonowymi aktywuje wewnątrzkomórkowe białko sygnałowe, co powoduje ekspresję sekwencji genu, który odpowiada za efekt w postaci proliferacji komórek, tworzenie macierzy, produkcję osteoidu, syntezę kolagenu (10). Czynne wydzielanie czynników wzrostowych zaczyna się kilka minut po rozpoczęciu procesu krzepnięcia. Ponad 90% czynników wzrostowych jest wydzielanych w ciągu pierwszej godziny. Po początkowym „wybuchu” płytki syntezują i wydzielają dodatkowe czynniki wzrostu przez kolejne 7 dni (37). Koncentraty krwinek płytkowych aplikuje się wraz z różnymi aktywatorami (trombina wołowa, kolagen, preparaty wapnia). PRP może być podawane na drodze iniekcji w konkretne miejsce pod kontrolą USG lub RTG. Inną metodą aplikacji jest połączenie koncentratu krwinek płytkowych z własnymi lub allogenicznymi przeszczepami kostnymi czy też z komórkami szpiku.

### Możliwości zastosowania PRP

Szerokie spektrum regeneracyjne PRP wykazał w badaniach Bernuzzi i wsp. w 2010 r. Badania przeprowadzono na 17 pacjentach z owrzodzeniami skóry (4 przypadki cukrzycowe, 11 w wyniku zaburzeń

naczyniowych, 1 pourazowy, 1 odleżyna), u których zastosowano żel (bioklej) bogatopłytkowy. W wyniku leczenia u czterech pacjentów doszło do całkowitego wygojenia owrzodzenia (1 przypadek cukrzycowy, 1 pourazowy, 2 naczyniowe), w 11 przypadkach doszło do zmniejszenia powierzchni owrzodzenia o 50%, natomiast u dwóch przypadkach nie było wpływu na gojenie (4). Knighton i wsp. (17) stosując dwa razy dziennie osocze z czynnikami wzrostu u chorych z przewlekłymi owrzodzeniami skóry, zaobserwował wygojenie ran u 17 z 21 leczonych pacjentów, natomiast Maciel i wsp. (22) dokonali oceny mikroskopowej biopłatów pobranych z obszarów gojenia oparzeń skóry II stopnia u koni leczonych z użyciem PRP. Autorzy ci wykonali również badania bakteriologiczne oparzonych miejsc. W czterdziestym dniu po zakończeniu leczenia wykazano, że PRP przyspiesza procesy naprawy i bliznowacenia oraz ogranicza zakażenie rany oparzeniowej w oparzeniu drugiego stopnia. Podobne badania przeprowadziła Iacopetti i wsp. (14) u 17-letniej klaczy arabskiej z dużą raną dartą (30 × 40 cm) na grzbietowej powierzchni okolicy stawu łokciowego. Do rany podawano żel PRP 3 razy co 3 tygodnie celem przyspieszenia i polepszenia gojenia. Rana wygoiła się całkowicie po 5 miesiącach od pierwszej aplikacji PRP, bez powikłań, pozostawiając małą bliznę. W okulistyce PRP stosowane jest głównie przy leczeniu wrzodów i ubytków rogówki. Marquez-De-Aracena i wsp. (24) opisali istotne różnice w wynikach leczenia w 10 przypadkach urazów, których przyczyną było oparzenie tkanek oka. Aplikacja PRP przyspieszyła znacząco nabłonkowanie rogówki oka, natomiast podspojówkowe iniekcje osocza bogatopłytkowego znacznie zredukowały czas bliznowacenia spojówek w przypadku oparzenia III stopnia. PRP znalazło zastosowanie również w neurochirurgii i ortopedii. Podczas operacji laminectomii, stabilizacji i tylnobocznej fuzji kręgów bogatopłytkowy żel łączony bywa z fragmentami autologicznej oraz syntetycznej kości. W badaniach Landi i wsp. (20) przeprowadzonych celu dokonania oceny porównawczej w trakcie badań zdecydowano o zastosowaniu żelu bogatopłytkowego w ograniczeniu do połowy pola operacyjnego. U wszystkich chorych wykonano badanie CT (tomografię komputerową) oraz zdjęcia rentgenowskie w 3. i 6. miesiącu po zabiegu, oceniając zrost kostny. Dobre tempo fuzji w aspekcie tworzenia prawidłowej blizny zaobserwowano u wszystkich pacjentów poddanych tej procedurze. W badaniach kontrolnych wykonanych po sześciu miesiącach od zabiegu stwierdzono, że gęstość kości w połowie pola operacyjnego, w którym został zastosowany żel bogatopłytkowy była znacząco wyższa od gęstości blizny kostnej po stronie leczonej bez zastosowania PRP. Cho i wsp. (8) używając modelu świnek morskich, wykazali, że zastosowanie PRP wraz z neuronalnymi induktorami mezenchymalnych komórek macierzystych człowieka (nMSCs) przyspiesza

regenerację aksonów w obrębie części twarzowej po ich chirurgicznym przecięciu. W stomatologii Anitua (1) u 20 pacjentów po ekstrakcji zębów i podaniu do zębodołów PRP stwierdził szybszą regenerację tkanki kostnej oraz gojenie się błony śluzowej jamy ustnej uszkodzonej w czasie wykonywania zabiegu. Oyama i wsp. (26) u 12 pacjentów z zanikiem wyrostka zębodołowego szczęki wykonali podniesienia wyrostków poprzez autogeny przeszczep kostny. W trakcie badań wydzielono dwie grupy badawcze: w pierwszej stosowano wyłącznie autogenną kość gąbczastą pobraną z talerza kości biodrowej, a w drugiej kość autogenną z dodatkiem PRP. Autorzy uzyskali większy stopień regeneracji kości w grupie z użyciem PRP. Jednakże aplikacja PRP w ubytkach zuchwy świnek morskich nie pobudzała odbudowy kości (35). Badania gojenia kości czaszki królików przy zastosowaniu PRP nie wykazały jednoznacznego wpływu osocza bogatopłytkowego na polepszenie procesu gojenia. Erkilet i wsp. (11) przeprowadzili badania błony bębenkowej poddanych 3 mm perforacji u 44 szczurów. W miejsce perforacji zostało podane osocze bogatopłytkowe, podczas gdy uszkodzoną błonę bębenkową z drugiej strony pozostawiono samoistnej regeneracji jako kontrolę. Uzyskane wyniki dowodzą, że osocze bogatopłytkowe przyspiesza gojenie perforowanej błony bębenkowej. W ortopedii PRP stosuje się między innymi w zabiegach całkowitej wymiany stawu biodrowego oraz kolannowego, przy stabilizacjach wewnętrznych, redukcjach kości, przeszczepach kości, przewlekłych zapaleniach, zaburzeniach zrostu kostnego, uszkodzeniach mięśni i ścięgien. Wśród wielu metod rekonstrukcji kości osteoindukcja cieszy się coraz większym zainteresowaniem. Kostrzewski i wsp. (18) w badaniach klinicznych wykazali pozytywny wpływ autologicznego osocza bogatopłytkowego na poprawę parametrów kinetycznych stawów łokciowych oraz kolannowych psów dotkniętych zapaleniem kostno-stawowym. Polepszenie warunków motorycznych stawów opisane było poprzez zmianę wartości zgięcia i wyprostu w stawie, odnotowane w badaniach goniometrycznych. Celem doświadczenia przeprowadzonego przez Sarkar i wsp. (35) było wykazanie wartości PRP w odbudowaniu trzonu kości długiej, dotkniętej zaburzeniami regeneracyjnymi. W tym celu PRP wraz z kolagenem typu I wszczepiono w duży ubytek trzonu kości piszczelowej owiec. Nowo powstała kość po 12 tygodniach została poddana ocenie histologicznej, radiologicznej i biochemicznej. W efekcie badań stwierdzono, iż PRP w połączeniu z kolagenem typu I nie wpłynęło na tworzenie kości *de novo*. Po okresie gojenia objętość, sztywność, gęstość oraz budowa histologiczna nowo powstałej kości w ubytku nie różniła się od kości zwierząt grupy kontrolnej leczonych tylko kolagenem. Z kolei w ubytkach kostnych talerza kości biodrowej u psów podanie PRP wraz z proszkiem kostnym zwiększyło tworzenie tkanki kostnej wokół implantu

tytanowego. Kasten i wsp. (15) przeprowadzili badania na 6-9-miesięcznych samicach królików nowozelandzkich białych o znacznym uszkodzeniu kości długich przedramienia, stosując PRP wraz z hydroksyapatytem zubożonym w wapń (CDHA) oraz z autogenymi mezenchymalnymi komórkami macierzystymi (MSC). Po 16 tygodniach badań stwierdzono, że PRP posiadało istotny pozytywny wpływ na tworzenie masy tkanki kostnej w porównaniu z zastosowaniem samego CDHA. Ocenę przeprowadzono w badaniu histologicznym, jak i w badaniu z zastosowaniem mikrotomografii komputerowej. Nie zaobserwowano różnic w biochemicznej ocenie kości. Połączenie MCS z PRP statystycznie nie poprawiło gojenia kości. Dodanie PRP poprawiło resorpcję CDHA, czego nie obserwowano przy stosowaniu tylko MCS.

Aspenberg i Virchenko (3) ocenili wyniki leczenia uszkodzeń ścięgna Achillesa u szczurów z wykorzystaniem PRP. Autorzy wykazali, że pojedyncze wstrzyknięcie PRP do miejsca uszkodzenia powoduje przyspieszenie procesów gojenia ścięgna. Ponadto stwierdzili, że po 8 dniach od podania PRP dochodzi do zwiększenia wytrzymałości oraz sztywności ścięgna o 30% w porównaniu do grupy kontrolnej. Ventura i wsp. (39) podjęli próby poprawy wgajania przeszczepów więzadła krzyżowego przedniego w kanałach kostnych w operacjach rekonstrukcyjnych stawu kolannowego z użyciem PRP. Badanie CT wykonane po 6 miesiącach od zabiegu wykazało, że gęstość tkanek więzadła krzyżowego przedniego była większa w przypadkach, w których zastosowano PRP. Ponadto autorzy zaobserwowali reakcję zapalną błony maziowej wokół przeszczepu więzadła krzyżowego u jednego z 10 pacjentów, u których użyto koncentratu płytek krwi. Z kolei Sanchez i wsp. (34) podkreślają mniejszą częstość reakcji zapalnych po rekonstrukcjach więzadła krzyżowego, w trakcie których zastosowano koncentraty płytkowe. Gerco Bosch i wsp. (5) porównywali metodą ultrasonograficzną gojenie ścięgna mięśnia zginacza powierzchownego palców koni leczonych z zastosowaniem PRP w stosunku do grupy z zastosowanym placebo (sól fizjologiczna). Dzięki procedurze UTC (ultrasonographic tissue characterisation – ultrasonograficzna charakterystyka tkanek) możliwe było wykrycie istotnych różnic między grupami w różnych fazach naprawy. W etapie końcowym grupa z PRP wykazała 80% poprawę w porównaniu z 60% poprawą stanu zanotowaną w grupie z placebo. Fresno i wsp. (13) badając problem nieszczelności zespolenia jelit oraz wycieku treści pokarmowej do jamy otrzewnej u świń, przebadali możliwości przyspieszenia procesu gojenia przy użyciu PRP. W tym celu uzyskano autologiczne osocze bogatopłytkowe od 35 świń, a następnie każdą z nich poddano dwóm zabiegom zespolenia jelit. W pierwszym zastosowano przy zespoleniu PRP, a drugie opracowywano konwencjonalnie i służyło jako kontrola. Po badaniach histologicznych oraz pró-

bach wytrzymałości zespolenia stwierdzono, że PRP przyspiesza proces ziarninowania oraz bliznowacenia, ale nie wpływa na wytrzymałość zespolenia.

Niestety, ciągle niewiele wiemy na temat bezpieczeństwa użycia PRP. Stosowanie jako aktywatora trombiny bydłowej budzi zrozumiałe kontrowersje z racji obaw przed zakażeniem prionami. W doniesieniach poświęconych ogólnemu bezpieczeństwu stosowania PRP, autorzy proponują inne formy aktywacji skrzepu, tj. rozpuszczony kolagen typu I lub syntetyczną trombinę. Wśród przeciwwskazań do stosowania terapii z użyciem osocza bogatopłytkowego najczęściej wymienia się okres ciąży i laktacji, leczenie przeciwzakrzepowe, choroby krwi i nowotwory (27). Pacjenci dotknięci toczeniem rumieniowatym układowym (*Systemic lupus erythematosus* SLE), porfirią i alergią skórą, chorobami metabolicznymi i układowymi powinni być wykluczeni z tego typu terapii. Stosunkowo mało jest prac dotyczących bezpieczeństwa stosowania autologicznego osocza bogatopłytkowego w porównaniu do liczby prac opisujących skuteczność jego działania. Potrzebne są dalsze zaawansowane badania, aby ocenić i zobiektywizować jego skuteczność.

### Piśmiennictwo

- Anitua E.: Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants.* 1999, 14, 529-535.
- Appel T. R., Pötzsch B., Müller J.: Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clin. Oral. Impl. Res.* 2002, 13, 522-528.
- Aspenberg P., Virchenko O.: Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop. Scand.* 2004, 75, 93-99.
- Bernuzzi G., Tardito S., Bussolati O.: Platelet gel in the treatment of cutaneous ulcers: the experience of the Immunohaematology and Transfusion Centre of Parma. *Blood Transfus.* 2010, 8, 237-247.
- Bosch G., René van Weeren P., Barneveld A., Hans T. M. van Schie: Computerised analysis of standardised ultrasonographic images to monitor the repair of surgically created core lesions in equine superficial digital flexor tendons following treatment with intratendinous platelet rich plasma or placebo. *Vet. J.* 2011, 187, 92-98.
- Carvell V., Palla L., Pascali M., De Angelis B., Curcio B. C., Gentile P.: Analogous platelet-rich plasma Mied with purified fat graft in aesthetic plastic surgery. *Aesthetic Plast. Surg.* 2009, 5, 716-721.
- Ciślik-Bielecka A., Bielecki T., Gaździk T. S., Cieślik T.: Czynniki wzrostu zawarte w osoczu bogatopłytkowym jako autogennym materiale stymulującym procesy gojenia tkanki kostnej. *Czas. Stomatol.* 2006, 7, 22-25.
- Cho H. H., Jang S., Lee S. C., Jeong H. S., Park J. S., Han J. Y., Lee K. H., Cho Y. B.: Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. *Laryngoscope* 2010, 120, 907-913.
- Cho J., Lee Y., Baek R., Lee S.: Effect of platelet-rich plasma on ultraviolet-induced skin wrinkles in nude mice. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* 2010, 28.
- Eppley B. L., Pietrzak W. S., Blanton M.: Platelet-Rich Plasma; A Review of Biology and Applications in Plastic Surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 2006, 6, 147-159.
- Erkilet E., Koyuncu M., Atmaca S., Yarim M.: Platelet-rich plasma improves healing of tympanic membrane perforations: experimental study. *J. Laryngol. Otol.* 2009, 123, 482-487.
- Fauci A., Braunwald E., Kasper D., Hauser S., Longo D., Jameson J., Loscalzo J.: *Interna Harrisona. T. I: Krwawienie i krzepnięcie.* Czelej Publishing Company, Lublin 2009, s. 402-405.
- Fresno L., Fondevila D., Bambo O., Chacaltana A., García F., Andaluz A.: Effects of platelet-rich plasma on intestinal wound healing in pigs. *Vet. J.* 2010, 185, 322-327.
- Iacopetti I., Perazzi A., Ferrari V., Busetto R.: Application of Platelet-Rich Gel to Enhance Wound Healing in the Horse: A Case Report. *J. Equin. Vet. Sci.* 2012, 32, 123-128.
- Kasten P., Vogel J., Geiger F., Niemeyer P., Luginbühl R., Szalay K.: The effect of platelet-rich plasma on healing in critical-size long-bone defects. *Biomaterials.* 2008, 29, 3983-3992.
- Kim J., Park C., Park H.: Curative effect of autologous platelet-rich plasma on a large cutaneous lesion in a dog. *Vet. Dermatol.* 2009, 2, 123-126.
- Knighon D. R., Fiegel V. D., Austin L. L., Ciresi K. F., Butler E. L.: Classification and treatment of chronic non healing wounds. *Ann. Surg.* 1986, 3, 322-330.
- Kostrzewski M., Aleksiewicz R., Kostrzewa D., Kostro K., Luinicki K.: The use of hyaluronic acid and autologous platelet-rich plasma in canine degenerative knee joint disease and anterior cruciate ligament injury. *Wet. Prakt.* 2013, 4, 16-24.
- Krasna M., Domanović D., Tomšić A., Švajger U., Jeras M.: Platelet gel stimulates proliferation of human dermal fibroblast in vitro. *Acta Dermatoven APA* 2007, 3, 105-110.
- Landi A., Tarantino R., Marotta N., Ruggeri A. G., Domenicucci M., Giudice L., Martini S., Rastelli M., Ferrazza G., De Luca N., Tomei G., Delfini R.: The use of platelet gel in postero-lateral fusion: preliminary results in a series of 14 cases. *Eur. Spine J.* 2011, 20, 61-67.
- Laplante A., Germain L., Auger F., Moulin V.: Mechanisms of wound reepithelialization: hints from a tissue-engineered reconstructed skin to long-standing questions. *FASEB J.* 2001, 15, 2377-2389.
- Maciel F. B., Derossi R., Módolo T. J., Pagliosa R. C., Leal C. R., Delben A. A.: Scanning electron microscopy and microbiological evaluation of equine burn wound repair after platelet-rich plasma gel treatment. *Burns* 2012, 38, 1058-1065.
- Man D., Plosker H., Winland-Brown J.: The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast. Reconstr. Surg.* 2001, 1, 229-237.
- Marquez-De-Aracena R., Ontereo-de-Espinosa I., Munoz M., Pereira G.: Subconjunctival application of plasma platelet concentrate In the treatment of ocular burns. Preliminary results. *Arch. Soc. Oftalmol.* 2007, 82, 475-481.
- Orłowski W.: *Nauka o chorobach wewnętrznych.* PZWL, Warszawa 1990, s. 309-312.
- Oyama T., Nishimoto S., Tsugawa T., Sbizu F.: Efficacy of platelet rich plasma in alveolar bone grafting. *J. Oral Maxillofac. Surg.* 2004, 62, 555-558.
- Pietramaggiore G., Scherer S., Cervi D., Klement G., Orgill D.: Tumors stimulate platelet delivery of angiogenic factors in vivo. An unexpected benefit. *Am. J. Pathol.* 2008, 9, 1609-1616.
- Pikula M., Trzonkowski P.: Biologia komórek macierzystych naskórka oraz ich znaczenie w medycynie. *Post. Hig. Med. Dośw.* 2009, 63, 449-456.
- Powell D., Chang E., Farrior E.: Recovery from deep-plane rhytidectomy following unilateral wound treatment with autologous platelet gel: a pilot study. *Arch. Facial Plast. Surg.* 2001, 4, 245-250.
- Rabago D., Slattengren A., Zgierska A.: Prolotherapy in primary care practice. *Prim. Care* 2010, 1, 65-80.
- Radaelli A., Romano D., Marciano A.: Face and Neck revitalization with platelet-rich plasma (PRP): clinical outcome in series of 23 consecutively treated patients. *J. Drug Dermatol.* 2010, 5, 466-472.
- Rossi R. De, Anciliero de Oliveira Coelho A. C., Silveira de Mell G., Oliveira Frazilio F., Bonuccielli Brum K.: Effects of platelet plasma gel on skin healing in surgical wound in horses. *Acta Chir. Brasil.* 2009, 4, 276-281.
- Rożman P., Bota Z.: Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatoven APA* 2007, 4, 156-165.
- Sánchez M., Azofra J., Anitua E.: Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report. *Med. Sci. Sports. Exerc* 2003, 35, 1648-1652.
- Sarkar M. R., Augat P., Shefelbine S. J., Schorlemmer S., Huber-Lang A., Claes L., Kinzl L., Ignatius A.: Bone formation in a long bone defect model using a platelet-rich plasma-loaded collagen scaffold. *Biomaterials* 2006, 27, 1817-1823.
- Sclafani A.: Platelet-rich fibrin matrix for improvement of deep nasolabial folds. *J. Cosm. Dermatol.* 2010, 1, 66-71.
- Smith R. G., Gassmann C. J., Campbell M. S.: Platelet-rich Plasma: Properties and Clinical Applications. *JLGH* 2007, 2, 73-77.
- Umeno Y., Okuda A., Kimura G.: Proliferative behaviour of fibroblasts in plasma-rich culture medium. *J. Cell Science* 1989, 94, 567-575.
- Ventura A., Terzaghi E., Borgo C.: Use of growth factors in ACL surgery: preliminary study. *J. Orthopaed. Traumatol.* 2005, 6, 76-79.

Adres autora: dr hab. Roman Aleksiewicz, ul. H. Wróbla 10a, 41-100 Siemianowice Śl.; e-mail: provet1@poczta.onet.pl