

Plasma Rico em factores de crescimento

- Abordagem laboratorial e cirúrgica -

Fernando Duarte*, Carina Ramos*, Marco Martins* e Laurentina Queirós**

RESUMO

Plasma rico em plaquetas tem sido utilizado como um veículo de transporte de factores de crescimento, que têm o potencial de acelerar naturalmente o processo de regeneração, cicatrização e crescimento ósseo e tecidos envolventes.

O processo de obtenção do plasma rico em plaquetas envolve fundamentalmente a separação e concentração de plaquetas.

O método tradicional apresenta diversas desvantagens. Assim, propomos uma técnica de obtenção de plasma rico em plaquetas de fácil execução, podendo ser realizada em ambulatório, uma vez que não necessita de equipamento específico, nem de pessoal especializado tornando-se assim, numa técnica pouco dispendiosa e com grandes benefícios para o paciente. É ainda apresentado um caso clínico em que foi aplicada a técnica descrita.

ABSTRACT

Platelet-rich plasma has been used as a vehicle for growing factors potentially increasing the natural process of regeneration and cicatrization and bone and soft tissue growth.

The process to obtain platelet-rich plasma is achieved by the separation and concentration of platelets.

The traditional method presents various disadvantages therefore we propose a platelet-rich plasma technique that can be done in private practice due to its easy execution, non specific equipment and trained staff. This technique is not expensive and can bring great benefit to the patient. It is also presented a clinical case where this technique was applied.

PALAVRAS-CHAVE

Plasma rico em plaquetas, plasma rico em factores de crescimento, factores de crescimento, plaquetas.

KEY-WORDS

Platelet-rich plasma, growth factors plasma, growth factors, platelets.

* **Médico Dentista**

** **Assistente de Imuno-hemoterapia**

Hospital da Senhora da Oliveira - Guimarães, SA

Plasma Rico em Factores de Crescimento

INTRODUÇÃO

O sangue apresenta-se como um factor primordial na função biológica do homem.

Quase metade do volume sanguíneo é formado por células, ou seja, eritrócitos, leucócitos e plaquetas. O restante volume sanguíneo é constituído por plasma, um líquido aquoso amarelado que contém proteínas, açúcares, gorduras e sais minerais ⁽¹⁾.

As plaquetas, pequenos fragmentos celulares não nucleados, apresentam enormes reservatórios de factores de crescimento que têm o potencial de acelerar naturalmente o processo de regeneração, cicatrização e crescimento dos tecidos, tendo sido inicialmente usadas para o controle hemostático ^(2,4,6,8,9).

Recentemente, plasma rico em plaquetas tem sido utilizado como um veículo de transporte de factores de crescimento com efeito local ^(2,3,4).

O uso de factores de crescimento é desta forma reportado por diversos autores como uma nova fronteira da terapia clínica, criando assim um novo marco que afecta diversas áreas médicas ^(4,6).

No âmbito da medicina dentária o seu uso tem sido enquadrado na reconstrução de defeitos ósseos, enxertos ósseos, aumento do rebordo alveolar e levantamentos de seio maxilar ⁽⁴⁾.

O processo de obtenção do plasma rico em plaquetas, envolve fundamentalmente, a separação e concentração de plaquetas e consequentemente, os factores de crescimento que estas contêm ^(6,7,8,9).

Vários estudos revelam a presença de, pelo menos, 3 factores de crescimento importantes, nos grânulos a das plaquetas: factor de crescimento derivado das plaquetas (PDFG), factor de crescimento transformante b1 (TGF-b1), factor de crescimento transformante b2 (TGF-b2) ^(2,4,6,7,8,9).

O factor de crescimento derivado das plaquetas é assim designado, visto ter sido encontrado pela primeira vez nas plaquetas, nos seus grânulos a, embora actualmente se conheça a sua existência em outras células, como os macrófagos, células endoteliais, monócitos e fibroblastos, assim como na matriz óssea ^(2,7,8).

O factor de crescimento derivado das plaquetas parece ter diversos efeitos positivos no processo de cicatrização, incluindo a mitogénese, angiogénese e regulação de outros factores de crescimento celular. Actua também, na promoção da função dos fibroblastos e osteoblastos, promoção da diferenciação celular e aceleração

dos efeitos dos factores de crescimento em outras células, tais como os macrófagos ^(7,8,9).

Devido à presença de plaquetas no coágulo sanguíneo, o factor de crescimento derivado destas é o primeiro factor de crescimento tecidular a actuar na revascularização, síntese de colagénio e regeneração óssea, no processo de cicatrização ⁽⁷⁾.

O termo, factor de crescimento transformante b (TGF-b) é aplicado a uma superfamília de factores de crescimento e diferenciação, e recebe esta designação, visto ter sido efectuado o seu isolamento, pela primeira vez, em tecidos transformante (sarcomas) ^(2,7). Os TGF-b presentes no plasma rico em plaquetas, são as proteínas TGF-b1 e TGF-b2, cujas funções primordiais parecem ser a quimiotaxia, a mitogénese dos precursores de osteoblastos e a capacidade de estimular a deposição de osteoblastos, na matriz de colagénio, durante o processo de regeneração óssea ^(2,7,8,9). Adicionalmente, os TGF-b inibem a formação de osteoclastos e reabsorção óssea, favorecendo assim, a formação óssea por dois mecanismos diferentes ^(7,8).

O tradicional método de obtenção de plasma rico em plaquetas envolve o isolamento das plaquetas através de um separador de células, formando um gel com o uso de cloreto de cálcio e trombina de origem bovina ^(6,7,10).

Este procedimento apresenta diversas desvantagens. O equipamento é bastante dispendioso e em regra geral, apenas está disponível em meio hospitalar, pelo que se torna difícil o uso de plasma rico em plaquetas autólogo em consultório privado ^(6,7). Além disso, o uso de trombina de origem bovina tem sido associada com o desenvolvimento de anticorpos contra factores V, XI e trombina, resultando numa dificuldade acrescida no tratamento das coagulopatias ^(5,6,7).

Assim, propomos uma técnica de obtenção de plasma rico em plaquetas de fácil execução, podendo ser executado num consultório privado. Uma vez que esta técnica não exige equipamento específico, não apresenta riscos para o paciente e tem-se revelado muito pouco dispendiosa ⁽⁶⁾.

MATERIAL E MÉTODOS

A selecção do paciente é baseada na ausência de doenças locais ou sistémicas que possam contra-indicar o tratamento, como é o caso de estados hipovolémicos severos, instabilidade

Plasma Rico em Factores de Crescimento



Figura 1 - Colheita de sangue do paciente



Figura 2 - Centrifugação do sangue



Fig. 3 - Tubos após centrifugação



Fig. 4 - Remoção de 1ml de plasma pobre em proteínas



Fig. 5 - Separação de plasma rico em plaquetas



Fig. 6 - Cloreto de cálcio a 10%



Fig. 7 - Adição de cloreto de cálcio a 10%



Fig. 8 - Plasma rico em plaquetas

Plasma Rico em Factores de Crescimento

hemodinâmica, sepsis, isquémia miocardia, angina instável, doença coronária esquerda, paciente com hematócrito abaixo dos 30%, número de plaquetas abaixo de 100.000/ μ l e terapia fibrinolítica^(2,9,11).

TÉCNICA

O sangue é obtido antes do começo da cirurgia e da administração da anestesia.

Cerca de 10 a 20 ml de sangue são colhidos do paciente em sistema de vácuo usando tubos de 5 ml, contendo solução de citrato tri-sódio como anticoagulante.

Os tubos são centrifugados a 160G durante 6 minutos, à temperatura ambiente. O sangue é desta forma separado em 3 componentes básicos: glóbulos vermelhos que se apresentam na parte inferior do tubo; o plasma rico em plaquetas no meio do tubo; e o plasma pobre em plaquetas na parte superficial do tubo.

Cerca de 1 ml do plasma pobre em proteínas (parte superficial do tubo) de cada tubo de 5 ml é rejeitado.

Pipeta-se o restante plasma e cerca de 1 a 2 mm da superfície da camada dos glóbulos vermelhos, no volume total de 1,2 ml, sendo transferido para tubos Eppendorf esterilizados e adicionado de 50 ml de cloreto de cálcio a 10%, a cada tubo.

Passados 15 a 20 minutos o gel de plasma rico em proteínas está formado.

O tempo existente entre a formação do gel de plasma rico em plaquetas e a optimização dos factores de crescimento está padronizado como 5 a 10 minutos.

O gel de plasma rico em plaquetas pode assim ser aplicado durante a cirurgia na área do defeito, levando a uma rápida regeneração e cicatrização óssea e dos tecidos envolventes^(7,8).

CASO CLÍNICO

Indivíduo do sexo feminino de 27 anos de idade, compareceu no Serviço de Estomatologia / Medicina Dentária do Hospital da Senhora da Oliveira - Guimarães, referindo sintomatologia dolorosa ao nível do 1º Quadrante.

Efectuou-se a história clínica e exame radiográfico (ortopantomografia) que permitiu diagnosticar a inclusão do dente 1.3 ao nível do seio maxilar, tendo sido proposto à paciente a exo-

dontia da peça dentária e posterior reimplantação da mesma na arcada.

O tratamento cirúrgico foi realizado sob anestesia local, em que se efectuou uma incisão de Neumann de 1.1 a 1.6 e descolamento em espessura total.

Devido ao avançado estado de rizálise dos dentes 5.3 e 1.4 procedeu-se às exodontias e posterior reimplantação do dente 1.3 (inclusive ao nível do seio maxilar), na loca cirúrgica entretanto criada. O dente 1.3 foi ferulizado ao dente 1.5 utilizando arame de 0.5 mm.

A loca cirúrgica foi posteriormente preenchida com substituto ósseo Bio-Oss® de granulometrias 0.25-1mm e 0.5-1mm e fixação do enxerto com plasma rico em factores de crescimento, preparado de acordo com a técnica laboratorial descrita anteriormente. Foi também colocada uma membrana reabsorvível OsseoQuest® para criar uma interface entre o enxerto e a mucosa, prevenindo assim a invasão de tecido de granulação e promovendo uma regeneração óssea e tecidual guiadas.

A paciente foi submetida a uma terapêutica antibiótica, analgésica e anti-inflamatória, durante 7 dias.

Após 2 meses, em relação à data da cirurgia, procedeu-se à desvitalização dos dentes 1.2 e 1.3.

Ao fim de 12 meses de follow-up a paciente apresenta um aspecto clínico favorável e sem sintomatologia, sendo visível radiologicamente uma boa trabeculação óssea da área intervençionada.

DISCUSSÃO

A técnica apresentada de obtenção de plasma rico em plaquetas autólogo, como forma de utilização de factores de crescimento em pacientes de ambulatorio, parece-nos ser um método rápido e de fácil utilização, obtendo assim, as condições necessárias para uma regeneração mais rápida e efectiva. O uso desta técnica poderá trazer grandes benefícios quando usada em conjunto com enxertos ósseos autólogos^(2,6,7).

Desta forma evitamos o uso de equipamento específico e de trombina bovina utilizados para a elaboração do gel no método tradicional, podendo assim ser realizado no consultório privado.

Contudo, é de reter que o gel de plasma rico em

Plasma Rico em Factores de Crescimento

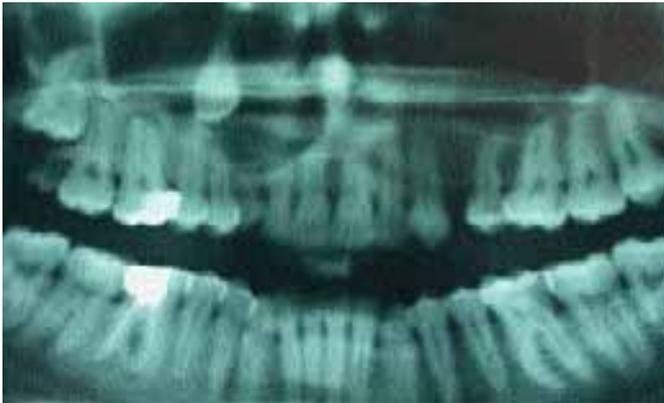


Fig. 9 - Ortopantomografia pré-operatória



Fig.10 - Aspecto clínico após exodontia dos dentes 5.3 e 1.4, e reimplantação do dente 1.3 com ferulização ao dente 1.5



Fig.11 - Colocação do enxerto ósseo



Fig.12 - Aplicação do plasma rico em factores de crescimento



Fig.13 - Adaptação e sutura da membrana reabsorvível



Fig.14 - Aspecto clínico após terminada a cirurgia



Fig.15 - Ortopantomografia pós-operatória



Fig.16 - Pormenor da trabeculação óssea 12 meses após a cirurgia

Plasma Rico em Factores de Crescimento

plaquetas autólogo, embora de fácil utilização, apresenta um tempo limite de manipulação de cerca de 10 minutos após a sua formação, o que exige que este seja elaborado no momento da sua aplicação de forma a preservar a actividade dos factores de crescimento ^(2,10).

O uso desta técnica não introduz riscos de transmissão de doenças para o paciente, uma vez que o produto obtido tem origem no próprio sangue do doente e não é associado com outros componentes de origem animal ou humana ^(2,6). Estudos futuros deverão ser realizados, com vista à determinação de diferentes factores de crescimento e fisico-químicos que poderão estar presentes no plasma rico em plaquetas, de forma a potenciar o efeito destes no crescimento, regeneração óssea e dos tecidos envolventes. Desta forma esta técnica poderia ser otimizada, chegando mesmo às concentrações ideais dos diversos factores para uma melhor cicatrização, regeneração e crescimento da área receptora.

CONCLUSÃO

A técnica proposta de obtenção do plasma rico em plaquetas é uma técnica de fácil execução, não necessita de material específico nem de pessoal altamente especializado, podendo ser realizada em ambulatório. Pelo que é de realçar o baixo custo e rápida preparação da técnica. A incorporação desta técnica leva a grandes benefícios para o paciente, tendo em vista a rápida regeneração, de forma quantitativa e qualitativa, dos tecidos e a ausência de riscos de infecção ou transmissão de doenças.

BIBLIOGRAFIA

- 1 - **ALBERT, J., DALESKOG, M., WALLÉN, N.H.** - *A comparison of the antiplatelet effect of snitrosoglutathione in whole blood and platelet-rich plasma.* Thrombosis Research 2001; 102: 161-165.
- 2 - **ANITUA, E.** - *Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants.* Int J Maxillofac Implants 1999; 14 (4): 529-535.
- 3 - **GREEN, D.M.; KLINK, B.** - *Platelet gel as an intraoperatively procured platelet-based alternative to fibrin glue.* Plast Reconstr Surg 1998; 101 (4): 1161-1162.
- 4 - **KASSOLIS, J.D.; ROSEN, P.S.; REYNOLDS, M.A.** - *Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series.* J Periodontol 2000; 71 (10): 1654-1661.
- 5 - **LANDESBERG, R.; KARPATKIN, M.** - *Risks of using platelet rich plasma gel.* J Oral Maxillofac Surg 1998; 56 (9): 1116-1117.
- 6 - **LANDESBERG, R.; ROY, M.; GLICKMAN, R.S.** - *Quantification of growth factor levels using a simplified met platelet-rich plasma gel preparation.* J Oral Maxillofac Surg 2000; 58 (3): 297-300.
- 7 - **MARX, R.E.; CARSON, E.R.; EICHSTADT, R.M.; SCHIMMELE, S.R.; STRAUSS, J.E.; GEORGEFF, K.R.** - *Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts.* Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radol Endod 1998; 85 (6): 638-646.
- 8 - **SCHIMITZ, J.P.; HOLLINGER, J.O.** - *The biology of platelet-rich plasma.* J Oral Maxillofac 2001; 59 (9): 1119-1120.
- 9 - **SHANAMAN, R.; FILSTEIN, M.R.; DANESH-MEYER, M.J.** - *Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports.* Int J Periodontics Restorative Dent 2001; 21 (4): 345-355.
- 10 - **SONNLEITNER, D.; HUEMER, P.; SULLIVAN, D.Y.** - *A simplified technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate for intraoral bone grafting techniques: a technique note.* Int J Maxillofac Implants 2000; 15 (6): 879-882.
- 11 - **WHITMAN, D.H.; BERRY, R.L.** - *A technique for improving the handling of particulate cancellous bone and marrow grafts using platelet gel.* J Oral Maxillofac Surg 1998; 56: 1217-1218.

CONTACTO

Fernando Duarte
E-mail: fduarte_omfs@hotmail.com