

Aplicabilidade em dermatologia do plasma rico em plaquetas

Applicability of platelet-rich plasma in dermatology

Artigo de revisão

RESUMO

O plasma rico em plaquetas vem-se mostrando promissor quanto a sua aplicabilidade em dermatologia, sobretudo na cicatrização de úlceras crônicas e na atenuação de marcas decorrentes do envelhecimento. O plasma rico em plaquetas autólogo é obtido através da centrifugação do sangue, de modo que os componentes são separados por gradiente de densidade. O produto final obtido é um gel rico em fatores de crescimento que atuam na reparação tecidual, ativando fibroblastos e induzindo ao remodelamento da matriz extracelular.

Palavras-chave: cicatrização; fator de crescimento derivado de plaquetas; fatores de crescimento transformadores; fatores de crescimento do endotélio vascular; plasma rico em plaquetas

ABSTRACT

Platelet-rich plasma has been proven to be promising in regards to its applicability in dermatology, especially in the healing of chronic ulcers and for soothing signs of aging. The autologous platelet-rich plasma is obtained through blood centrifugation, in a way that its components are separated by density gradient. The final product is a gel rich in growth factors that act in tissue repair, activating fibroblasts and inducing the extracellular matrix remodeling.

Keywords: platelet-derived growth factor; platelet-rich plasma; transforming growth factors; vascular endothelial growth factors; wound healing

INTRODUÇÃO

Úlceras cutâneas são caracterizadas por perda tecidual que envolve a epiderme, derme e ocasionalmente, também o tecido adiposo e a fáscia muscular. A etiologia das lesões é variada, incluindo doença vascular periférica, doenças infecciosas e trauma, e pode ainda ser secundária a distúrbios neurológicos, imunológicos, neoplásicos e à injúria iatrogênica. A ulceração cutânea é evento bastante comum, com prevalência atual variando de 0,18% a 0,32%, incidência de 0,78% e clara tendência a aumentar de acordo com o aumento da idade média da população. Os efeitos no custo socioeconômico são inevitáveis. Úlceras cutâneas crônicas têm grande impacto na qualidade de vida dos pacientes e nos custos da saúde pública no Brasil e no mundo. A União Europeia destina 2% do orçamento anual da saúde para o tratamento de tais agravos.¹

Autores:

Jane Marcy Neffa Pinto¹
Natássia Soares Pizani²

¹ Professora do Departamento de Dermatologia Hospital Universitário Antonio Pedro – Niterói (RJ), Brasil.

² Médica residente de dermatologia da Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil.

Correspondência para:

Natássia Soares Pizani
Hospital Universitário Antônio Pedro
Av. Marquês de Paraná, 303 – Centro
Niterói – RJ - Brasil
24030-210
Email: natassia.pizani@gmail.com

Data de recebimento: 15/05/2013

Data de aprovação: 09/02/2015

Trabalho realizado na Universidade Federal Fluminense (UFF) – Niterói (RJ), Brasil

Suporte Financeiro: Nenhum

Conflito de Interesses: Nenhum

A cicatrização de feridas é processo complexo intermediado por sinais de interação molecular envolvendo mediadores e eventos celulares, o que é seguido por recrutamento de células mesenquimais, proliferação e regeneração da matriz extracelular. O processo de cicatrização é uma resposta da imunidade inata para restauração da integridade do tecido. É regulado por um padrão de eventos que inclui coagulação, inflamação, formação de tecido de granulação, epitelização e remodelamento tecidual. Esses eventos são mediados e modulados por citocinas e fatores de crescimento que estimulam e modulam tais atividades celulares. Recentemente, o plasma rico em plaquetas (PRP) tem chamado a atenção também para o campo da cosmética em relação ao rejuvenescimento cutâneo. O envelhecimento da pele humana resulta de uma combinação do declínio gradual na função ao longo do tempo (processo intrínseco) e do dano cumulativo causado por fatores ambientais (processo extrínseco), como tabagismo e, notadamente, a exposição à radiação ultravioleta B (UVB). Na derme, a UVB mostrou estimular a produção de colagenase pelos fibroblastos. Na pele continuamente exposta aos raios UVB, a degradação de colágeno e a deposição alterada de tecido elástico resultam em prejuízo à integridade estrutural da matriz extracelular dérmica, causando enrugamento da pele. A elasticidade cutânea também se encontra reduzida. Uma vez que o PRP secreta vários fatores de crescimento relacionados à regeneração da pele, pode-se supor que o PRP é capaz de induzir à síntese de colágeno e outros componentes da matriz extracelular através da estimulação dos fibroblastos, assim levando ao rejuvenescimento da pele. Nesse campo, porém, os estudos que confirmam o efeito do PRP em fibroblastos envelhecidos ainda são consideravelmente limitados.²

Uma breve revisão de literatura

Dos trabalhos realizados, o PRP mostrou-se efetivo em diversos casos-controle, além de em vários ensaios clínicos não controlados.³ Crovetti et al.¹ publicaram estudo prospectivo a respeito da eficácia do gel de plaquetas na cicatrização de úlceras cutâneas crônicas. As lesões dos 24 pacientes envolvidos no estudo variavam em etiologia, incluindo insuficiência vascular, doença infecciosa, úlcera pós-traumática, além das relacionadas a diabetes mellitus, neuropatias e vasculites. O protocolo desse estudo consistia em aplicações semanais de gel de plaquetas. No momento da publicação do estudo, nove pacientes se haviam curado completamente, dois passaram a receber enxertos cutâneos, quatro pararam o tratamento, e nove obtiveram resposta parcial e ainda continuaram o tratamento.¹ McAleer et al.⁴ constataram que o uso do PRP autólogo foi satisfatório na cicatrização de úlcera crônica de extremidade inferior em estudo de caso de homem de 57 anos portador de diabetes mellitus tipo 2. O tratamento com PRP foi instituído após tentativa frustrada de aplicação de enxerto de pele. O PRP autólogo foi sintetizado no consultório do médico assistente, e a inspeção da ferida, o desbridamento e a aplicação do gel de plaquetas foram realizados semanalmente. O fechamento completo da úlcera foi atingido na quarta semana de tratamento. Embora tenha sido estudo limitado, envolvendo apenas um paciente, sugeriu que o PRP pode ser bem-sucedido

na cicatrização de úlceras que não se fecham por outras técnicas de tratamento.⁴ Driver et al.⁵ realizaram o primeiro ensaio prospectivo randomizado multicêntrico controlado dos Estados Unidos sobre o uso de PRP autólogo para o tratamento de úlceras de pé diabético. Entre os participantes, foram incluídos 72 pacientes portadores de diabetes tipo 1 e tipo 2, com idades entre 18 e 95 anos e lesões com duração de, pelo menos, quatro semanas. Nesse estudo, os pesquisadores compararam a eficácia do PRP autólogo à do gel de salina usual durante 12 semanas. O objetivo primário desse estudo foi avaliar a segurança do PRP e a incidência de fechamento completo da ferida, definido como 100% de reepitelização, quando comparado ao tratamento do grupo-controle. O objetivo secundário dizia respeito à taxa de fechamento. Ao final do estudo, constatou-se que os pacientes tratados com PRP tiveram suas úlceras curadas em 68,4% dos casos, contra 42,9% do grupo tratado com salina. Além disso, no grupo do PRP a cicatrização ocorreu em cerca de 42,9 dias, enquanto no grupo-controle levou 47,4 dias em média.⁵ Salemi et al.⁶ realizaram recentemente estudo avaliando a efetividade da combinação de PRP e tecido adiposo autólogo em úlcera de paciente não diabético de 65 anos, localizada na extremidade inferior, com três anos de evolução. Esse estudo teve a duração de quatro semanas, com acompanhamento após um, três, seis e 15 meses. Embora nenhuma análise estatística tenha sido feita nesse estudo, os pesquisadores notaram que o enxerto resistiu bem e o paciente não sofreu nenhuma infecção local ou outras complicações. No décimo quinto mês de acompanhamento, a ferida estava completamente curada e houve recuperação da função do membro.⁶ Outros autores têm utilizado essa técnica para tratamento de úlceras de membros inferiores.⁷ Cho JM et al.⁸ conduziram estudo envolvendo camundongos geneticamente modificados, de pele desnuda, fotoenvelhecidos através da exposição à radiação UVB. Foram divididos em três grupos (sem tratamento; injetado com solução salina; e injetado com PRP). Após quatro semanas o grau de formação das rugas foi comparado nos três grupos por análise réplica, bem como foi realizada biópsia de pele. Um ensaio adicional *in vitro* com anticorpos neutralizadores de fatores de crescimento também foi desenvolvido para avaliar se os fatores de crescimento contidos no PRP podem acelerar a proliferação de fibroblastos e a produção de colágeno. Os promissores resultados desse estudo indicaram que o PRP é eficaz no rejuvenescimento da pele fotoenvelhecida.⁸

Composição do PRP

O plasma desempenha importante papel na criação de microambiente adequado para a reparação de tecidos.⁹ A presença de alguns leucócitos no PRP confere a esse preparado certa resistência natural aos processos infecciosos, melhorando o prognóstico do tratamento. As plaquetas, por sua vez, correspondem ao mais importante componente no que diz respeito à modulação cicatricial dos tecidos, devido a sua capacidade de liberar fatores de crescimento. Elas são responsáveis por regular uma série de eventos celulares, como síntese de DNA, quimiotaxia, citodiferenciação e síntese de matriz. Os grânulos alfa

das plaquetas liberam numerosos fatores de crescimento, os quais atuam unindo-se a receptores celulares situados na membrana celular e que transmitem o sinal do exterior para o interior da célula, mediante o acoplamento de diferentes proteocinasas que se fosforilam e que ativam uma cascata de sinais que acaba com a ativação de um ou vários genes (transdução de sinal). O fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) foi um dos primeiros fatores de crescimento identificados. É o principal contido nas plaquetas, por ser o primeiro a estar presente na ferida e guiar a revascularização, a síntese de colágeno e o reparo tecidual. O PDGF é produzido provavelmente nos megacariócitos e fica armazenado nos grânulos alfa das plaquetas. Outras fontes de PDGF são macrófagos, células endoteliais e osteócitos. São liberados de seus grânulos de origem quando as plaquetas aderem a sítios de rompimento de vasos e/ou na área de membranas basais. O PDGF das plaquetas inicia o processo de reparo, enquanto aquele presente nos macrófagos continua a cicatrização da ferida. Além disso, o PDGF estimula a síntese de DNA, quimiotaxia e síntese de colágeno, processos indispensáveis na cicatrização de feridas e reparo tecidual. Os fatores de crescimento de transformação beta (TGF- β) constituem uma superfamília de mediadores locais que regulam a proliferação e as funções da maioria das células do organismo. Os membros dessa família correspondem a TGF- β 1 a β 5. Os TGFs mais comuns no PRP são TGF- β 1 e TGF- β 2, que são fatores relacionados à cicatrização do tecido conjuntivo. Suas funções mais importantes, no que se refere ao reparo de tecidos, são a quimiotaxia de células inflamatórias e a síntese de matriz extracelular. Também conhecidos como somatomedinas, os fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) são produzidos no fígado e circulam ligados a proteínas e afins. Os tipos 1 e 2 (IGF1 e IGF2) estão envolvidos no processo de reparo tecidual, através da regulação da disponibilidade de aminoácidos para síntese de proteínas, colágeno e outras moléculas do tecido conjuntivo. O fator de crescimento epidérmico (EGF) é peptídeo que produz uma variedade de respostas biológicas – a maioria envolvendo regulação da replicação, movimento e sobrevivência celular. Pertence a uma família de ligantes relacionados (que inclui o fator transformador de crescimento alfa, TGF α) que compartilham uma sequência de aminoácidos homóloga e com alta afinidade pelo mesmo receptor, o EGFR. O fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF) desempenha importante papel regulador no desenvolvimento vascular fisiológico, aumentando a vascularização do tecido e, com isso, melhorando o aporte de oxigênio e nutrientes a determinado sítio.

Obtenção do PRP

O plasma rico em plaquetas é obtido de sangue autólogo, através de um processo que utiliza o princípio da separação celular por centrifugação diferencial.¹⁰ Atualmente, pelo menos 16 sistemas de preparação de PRP estão disponíveis.¹¹ O volume resultante de PRP e as concentrações finais de plaquetas e leucócitos diferem nos vários sistemas de preparação. Segundo Saucedo et al.,¹¹ Dohan Ehrenfest et al. classificaram o PRP de acordo com a concentração de fibrina e leucócitos e Mishra et al. conforme a concentração de plaquetas, a presença de leucócitos

e a inclusão de um ativador.¹¹ Para criar o PRP, o sangue total é usualmente coletado na presença de um anticoagulante, que se liga ao cálcio e impede o início da cascata de coagulação, evitando a conversão de protrombina em trombina. Embora existam vários anticoagulantes disponíveis, apenas dois foram considerados adequados para o processo de modo a não danificar as plaquetas: citrato ácido dextrose A e citrato fosfato dextrose.⁹ Obtida a amostra de sangue total, ela é então submetida a uma ou duas etapas de centrifugação, conforme as características do produto final desejado. A quantidade de dez a 20ml de sangue é coletada e distribuída em tubos de ensaio de 5ml contendo solução de citrato de sódio a 10%. Os tubos são posteriormente centrifugados à temperatura ambiente, resultando em três componentes básicos: células vermelhas, PRP e PPP, respectivamente, da porção mais inferior para a mais superior. Após esse processo, coleta-se o plasma. O volume de cerca de 1,2ml por tubo é associado a 5ml de cloreto de cálcio a 10%, e, aproximadamente cinco minutos depois, o gel é formado.¹²

Segurança no uso de PRP

Dada a natureza autóloga do PRP, as preocupações de segurança são mínimas no momento. As complicações relatadas na maior parte das séries clínicas têm sido limitadas a dor transitória e inflamação no local da aplicação. Um estudo de laboratório evidenciou que o PRP tem efeito antimicrobiano contra *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli*, reduzindo potencialmente o risco de infecção por esses organismos.¹³

Efeito dose-resposta

Estudos *in vitro* demonstraram que as curvas dose-resposta da maioria dos fatores de crescimento não é linear, de modo que, a partir de determinado ponto, o aumento na concentração de fatores de crescimento não traz efeitos adicionais, pois os receptores da superfície celular estariam completamente ocupados. Por outro lado, alguns fatores de crescimento podem efetivamente exercer efeito inibidor sobre as funções da célula, uma vez que concentração suficientemente alta é atingida. Dessa forma, não é apenas a presença de fatores de crescimento que ditam o nível da resposta de cicatrização, mas também a presença e a capacidade de as células-alvo utilizarem tais fatores de maneira apropriada.¹⁴

Discussão

Devido ao aumento da expectativa de vida e, conseqüentemente, ao notável envelhecimento da população, é comum que se torne maior a prevalência de úlceras cutâneas crônicas, sobretudo decorrentes de processos ateroscleróticos e microangiopáticos. O mesmo pode ser dito a respeito do envelhecimento da pele, haja vista maior tempo de exposição cumulativa aos raios UVB. Nesse aspecto, existe a necessidade de desenvolvimento de técnicas que auxiliem no processo de cicatrização e reparo da pele. O PRP surge como ferramenta que permite a aplicação de grande quantidade de fatores de crescimento que estimulam a produção de colágeno e matriz extracelular através de quantidades mínimas de plasma. Os fatores

de crescimento promovem rápido aumento do número de células mesenquimais indiferenciadas no sítio cicatricial durante o tempo de reparo e cicatrização. Desse modo, a vantagem do PRP é acelerar o processo regenerativo pela quantidade de fatores de crescimento presente nas plaquetas. Como desvantagens há o curto período de vida plaquetária, cerca de três a cinco dias, e o fato de os fatores de crescimento se extinguirem em sete a dez dias. Apesar do curto período de vida das plaquetas, provou-se que o PRP é capaz de promover reparo cutâneo mais rápido e qualitativamente melhor. Entretanto, existem muitas variáveis de confundimento possíveis nos estudos, tanto em relação à variação nas características dos pacientes como nas características do PRP. Daí a dificuldade em conduzir estudos padronizados.¹⁵

CONCLUSÃO

Com base na literatura apresentada, conclui-se que o uso de PRP em dermatologia, apesar de recente, constitui técnica bastante promissora. Trata-se de preparado orgânico, não imunorreativo, atóxico e de baixa morbidade. O custo de sua obtenção é razoavelmente baixo. Em relação à cicatrização de úlceras cutâneas crônicas, o tratamento com PRP pode resultar em menor tempo de cura e de recuperação da função do membro, além de diminuição da taxa de amputação, melhorando assim a qualidade de vida do paciente. No que tange à cosmética, pode-se sugerir que a estimulação com fatores de crescimento seja capaz de promover o rejuvenescimento cutâneo. Por fim, são necessários mais estudos acerca do mecanismo de ação e da padronização do preparado ideal de PRP, seja para cicatrização de úlceras crônicas, seja para atenuação de marcas decorrentes do envelhecimento. Muitas perguntas permanecem sem resposta em relação ao uso do PRP em dermatologia. Porém, apesar dessas questões remanescentes, o PRP promete ser uma modalidade eficaz de tratamento. ●

REFERÊNCIAS

1. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci*. 2004;30(2):145-51.
2. Kim DH, Je YJ, Kim CD, Lee YH, Seo YJ, Lee JH, et al. Can Platelet-rich Plasma Be Used for Skin Rejuvenation? Evaluation of Effects of Platelet-rich Plasma on Human Dermal Fibroblast. *Ann Dermatol*. 2011;23(4):424-31.
3. Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. *Yale J Biol Med*. 2010;83(1):1-9.
4. McAleer JP, Sharma S, Kaplan EM, Persich G. Use of autologous platelet concentrate in a nonhealing lower extremity wound. *Adv Skin Wound Care*. 2006;19(7):354-363.
5. Driver VR, Hanft J, Fyelling CP, Beriou JM; Autogel Diabetic Foot Ulcer Study Group. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy Wound Manage*. 2006;52(6):68-70, 72, 74.
6. Salemi S, Rinaldi C, Manna F, Guarneri GF, Parodi PC. Reconstruction of lower leg skin ulcer with autologous adipose tissue and platelet-rich plasma. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2008;61(12):1565-7.
7. O'Connell SM, Impeduglia T, Hessler K, Wang XJ, Carroll RJ, Dardik H. Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers. *Wound Repair Regen*. 2008;16(6):749-56.
8. Jeong Mok Cho, Yoon Ho Lee, Rong-Min Baek, Sang Woo Lee. Effect of platelet-rich plasma on ultraviolet b-induced skin wrinkles in nude mice. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2011;64(2):e31-9.
9. Arnoczky DVM, Steven P, Delos D, Rodeo AS. What is platelet-rich plasma. Operative techniques in Sports Medicine. 2011;19:142-8.
10. Mazzucco L, Medici D, Serra M, Panizza R, Rivara G, Orecchia S, et al. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to-heal wounds: a pilot study. *Transfusion*. 2004;44(7):1013-8.
11. Saucedo JM, Yaffe MA, Berschback JC, Hsu WK, Kallainov DM. Platelet-Rich Plasma. *J Hand Surg Am*. 2012;37(3):587-9; quiz 590.
12. Lenharo A, Cosso F. Fatores de crescimento: quando usar? *Inovations Journal*. 2001;5:21-5.
13. Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Krol W, Wielkoszynski T. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an *in vitro* study. *J Bone Joint Surg Br*. 2007;89(3):417-20.
14. Vendramin FS, Franco D, Nogueira CM, Pereira MS, Franco TR. Plasma rico em plaquetas e fatores de crescimento: técnica de preparo e utilização em cirurgia plástica. *Rev Col Bras Cir*. 2006;33(1):24-8.
15. Adler SC, Kent KJ. Enhancing wound healing with growth factors. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 2002;10(2):129-46.