

## L'USO DEL GEL PIASTRINICO NELLA RIGENERAZIONE DI TESSUTI IN ORTOPEDIA E TRAUMATOLOGIA

Carmine Angrisani<sup>1</sup>, Armando Del Prete<sup>2</sup>, Salvatore Del Prete<sup>1</sup>, Guido Libondi<sup>2</sup>

### Riassunto

Gli autori hanno sperimentato il gel piastrinico per verificare il suo effetto sulla rigenerazione tissutale ovvero la ricostituzione della forma e della funzione del tessuto danneggiato. Il preparato è stato impiegato in pazienti cosiddetti "difficili", in cui tale processo risulta rallentato per una serie di fattori che ne ostacolano l'attività, quali malattie croniche come: il diabete complicato da neuropatia e microangiopatia, età avanzata, scarsa vascolarizzazione del sito di lesione etc. Sulla base delle evidenze sperimentali esistenti nella letteratura mondiale e delle esperienze personali il gel-piastrinico è stato applicato ad una concentrazione di 750.000-1.000.000 PLT/ $\mu$ l con applicazione settimanale fino alla completa copertura della perdita di sostanza. La somministrazione è avvenuta per un periodo variabile da 1 a 10 mesi e grazie ai controlli clinici si è potuto osservare una corretta copertura delle zone di lesione anche in quei pazienti cosiddetti "difficili" in cui le capacità rigenerative tissutali sono ridotte, come da noi testato nei soggetti con microangiopatia diabetica. Possiamo quindi dedurre che tale preparato, grazie al suo effetto sulla rigenerazione tissutale, sia utile nel trattamento delle ferite con perdita di sostanza dando adito a un eventuale studio che lo confronti con gli attuali standard rappresentati dagli innesti e dai lembi che se pur caratterizzati da un'alta percentuale di riuscita sono gravati dalla morbidità del sito donatore.

**Keywords:** gel piastrinico, perdite di sostanza, rigenerazione tissutale, traumi mano, fratture tibiali, ulcere

### Address of the authors:

<sup>1</sup> AORN San Sebastiano e Sant'Anna, Caserta, Italy

<sup>2</sup> Seconda Università degli Studi di Napoli, Italy

### Send correspondence:

Dr. Armando Del Prete  
Email: a.delprete2@tin.it

**Received:** February 12th, 2010

**Revised:** March 9th, 2010

**Accepted:** March 14th, 2010

**Language of the Article:** Italian.

*No conflicts of interest were declared.*

© CAPSULA EBURNEA, 2010  
ISSN: 1970-5492

DOI: 10.3269/1970-5492.2010.5.18

### Introduzione

Il trattamento delle perdite di sostanza tissutali è un problema quanto mai attuale dato il moltiplicarsi degli incidenti sul lavoro, stradali e non solo. Il trattamento di tali lesioni prevede l'utilizzo di plastiche cutanee che si avvalgono di lembi o innesti cutanei gravati dal grande impegno tecnico (lembi microchirurgici) e dalla morbidità del sito donatore. Oggi un'alternativa a queste metodiche è rappresentata dal gel piastrinico (gel-PLT). Il razionale d'uso di tale preparato risiede nella proprietà delle piastrine di liberare numerosi fattori di crescita che esercitano un'azione stimolante la rigenerazione tissutale, dove per rigenerazione si intende il ripristino della forma e della funzione del tessuto danneggiato (1). La storia del gel piastrinico inizia con la proposta di Withaman e coll. di integrare piastrine concentrate con la colla di fibrina. Nel 1998 viene pubblicato il lavoro di Marx e coll. sull'utilizzo del gel piastrinico (PG) come induttore della rigenerazione ossea in campo odontostomatologico (2).

### Materiali e metodi

#### *Preparazione del gel*

Le fasi per la preparazione del gel sono: raccolta, arricchimento cellulare, attivazione, controlli di qualità e sterilità, registrazioni. La raccolta in tal caso è avvenuta mediante il prelievo in provetta del sangue del paziente. La fase successiva, chiamata



Fig. 1: A: stato della lesione prima del trattamento. B: controllo effettuato a 30 gg dal trauma.

arricchimento cellulare, ha come obiettivo l'ottenimento di un gel che abbia massa omogenea, adeguato volume e una certa maneggevolezza. Sulla base della nostra esperienza tali proprietà si ottengono con una concentrazione pari a 750.000-1.000.000 PLT/ $\mu$ l e in tal caso la formazione del gel si ottiene in 5-7 minuti. Operativamente, dopo la raccolta del plasma ricco di piastrine (PRP) si esegue un esame emocromocitometrico e, sulla base della conta piastrinica, sempre in ambiente sterile, si procede alla diluizione o alla concentrazione dello stesso PRP.

L'attivazione avviene mediante l'aggiunta di trombina autologa al PRP. Essa viene ricavata dalla centrifugazione di un ulteriore campione di sangue. Per ottenere la formazione del gel, si pone il concentrato piastrinico in una piastra sterile e si aggiungono gli attivatori, ovvero, per ogni 10 mL di PRP, 1 mL di trombina autologa e 1 mL di calcio gluconato. A questo punto, si lascia incubare a temperatura ambiente. Se il processo di coagulazione si protrae oltre il tempo previsto, è possibile incubare il preparato per circa 5 minuti a 37°C per agevolare il processo (3).

I controlli di qualità e sterilità si rifanno ai principi del "Good Manufacturing Practices" (4) ovvero il preparato è sottoposto ai test di qualità che includono: determinazione del volume, conta delle piastrine, conta dei leucociti contaminanti, livelli di fibrinogeno. Infine sul prodotto viene posta un'etichetta che indica: cognome e nome del paziente, data di nascita, tipo di prodotto e data della preparazione.

#### Casi clinici

La casistica in oggetto comprende un totale di 20 casi di cui 18 lesioni della mano con perdita di sostanza e 2 pazienti diabetici che presentavano ulcere su fratture malleolari. Purtroppo le lesioni erano di gravità variabile e quindi non paragonabili

l'una con l'altra, ma comunque utili a dimostrare l'effetto di stimolazione del gel sulla rigenerazione tissutale. Sono stati esclusi i soggetti in gravidanza, con scompenso emodinamico o malattie piastriniche che rappresentano le controindicazioni all'applicazione del gel. L'età dei pazienti variava da un minimo di 25 ad un massimo di 60 anni. Il gel è stato applicato con cadenza settimanale ed il trattamento è iniziato non oltre 48 ore dal trauma. Le lesioni della mano erano in prevalenza apicali (83%), dovute nella maggior parte dei casi a traumi da schiacciamento o da apparecchi motorizzati e caratterizzate da perdita di tessuti molli e cute. Il gel che è stato sfruttato sia per l'azione meccanica di supporto che per quella biochimica di stimolazione tissutale, è stato applicato previa detersione e ove necessario couretage del sito di applicazione in ambulatorio e successivamente ricoperto con connettivina e garze con cadenza settimanale.

È stata effettuata inoltre, quotidianamente, medicazione mediante soluzione fisiologica, connettivina e garze facendo attenzione a non rimuovere il coagulo di gel; in tal caso si preferisce l'uso della fisiologica per la detersione in quanto molto meno aggressiva dei normali disinfettanti e quindi meno dannosa per lo strato di gel (5,6). Lo stesso protocollo di applicazione è stato seguito anche per le ulcere malleolari. Riportiamo nel dettaglio alcuni casi clinici.

Caso 1: Uomo 25 anni, idraulico, infortunio sul lavoro con amputazione parziale della falange distale del I dito della mano destra. Il paziente viene trattato mediante applicazione settimanale di gel-PLT previo couretage del sito di applicazione. Il trattamento viene ripetuto con cadenza settimanale per un totale di 3 applicazioni. La lesione è stata completamente ripristinata nell'arco di 25 giorni come evidenza il controllo eseguito a 4 settimane dal trauma (fig. 1)

Caso 2: Uomo 38 anni, infortunio acciden-

tale, trauma da schiacciamento con amputazione parziale della falange distale del I dito della mano sinistra. La ferita viene trattata mediante applicazione settimanale di gel-PLT per un totale di 5 applicazioni. La ferita è guarita completamente dopo circa 35 giorni, come evidenziato dal controllo effettuato a 5 settimane dal trauma (fig. 2)

Caso 3: Uomo 45 anni, ulcera su frattura del malleolo peroniero della gamba sinistra dovuto a trauma accidentale. Il paziente è diabetico. La perdita di sostanza cutanea viene trattata mediante applicazioni settimanali di gel-PLT previa disinfezione e curettage del sito per un totale di 9 applicazioni. La ferita è guarita in circa 40 giorni. Il controllo effettuato a 10 settimane dal trauma conferma il completo ripristino della perdita di sostanza (fig. 3).

### Risultati

Nelle lesioni della mano il tempo medio di guarigione è stato di trenta giorni, richiedendo quindi 4 applicazioni di gel e ga-

rantendo la ripresa lavorativa entro 30 gg dal trauma.

Non è stata necessaria la rieducazione motoria in quanto, trattandosi di lesioni cutanee, mobilità e motilità sono sempre state consentite, mentre la rieducazione sensitiva è iniziata al completamento della copertura cutanea invitando il paziente a riconoscere i diversi tipi di stimoli (tattile, vibratorio, ecc.) prima con e poi senza l'ausilio della vista. Si è registrato un graduale recupero della sensibilità epicritica che, in media dopo sei mesi, è risultata paragonabile a quella controlaterale. La sensibilità è stata valutata mediante test dei due punti. All'esame clinico la cute si presentava soffice, non dolente e di spessore normale già al termine del trattamento.

Per quanto riguarda le lesioni malleolari il tempo medio di guarigione è stato di 80 giorni. I pazienti sottoposti a trattamento hanno manifestato un ottimo grado di soddisfazione e hanno tutti ripreso le attività, sia lavorative che extra-lavorative,



Fig.2: A: stato della lesione prima del trattamento; B: controllo effettuato a 42 gg dal trauma.



Fig.3: A stato della lesione prima del trattamento; B: controllo effettuato a 70 gg dal trauma

svolte precedentemente al trauma e ciò anche se legato alla guarigione in se è probabilmente anche dovuto alla rigenerazione del tessuto perso evitando l'iperproliferazione di tessuto fibroso che può causare problemi sia da un punto di vista estetico che funzionale (diminuzione della sensibilità).

### Discussione

Le metodiche utilizzate per il trattamento delle perdite di sostanza tessutale in traumatologia possono essere varie, tra esse ricordiamo i trapianti ossei autologhi, il sistema di fissazione esterna di Ilizarov, i trapianti ossei omologhi, le sostanze ad effetto osteoconduttivo o osteoinduttivo o l'applicazione di innesti o lembi cutanei.

La scoperta dei fattori di crescita piastrinici ha aperto una nuova frontiera per il trattamento delle perdite di sostanza tessutale sia a livello osseo che cutaneo in modo conservativo. I primi studi sui fattori di crescita sono stati pubblicati verso la fine degli anni 70, quando le piastrine ed i macrofagi sono stati riconosciuti capaci di svolgere un ruolo principale nell'attivare tale processo riparativo (7). All'interno delle piastrine sono presenti circa 30 fattori di crescita tra i quali i più importanti risultano essere PDGF (Platelet Derived Growth Factor), TGF-1 (Transforming Growth Factor Beta 1), EGF (Epidermal Growth Factor), IGF-1 e .2 (Insulin-Like Growth Factor) (8).

Il PDGF, si deposita in situ e favorisce la chemiotassi dei monociti, dei neutrofili e dei fibroblasti, che a loro volta attivati portano alla formazione di tessuto connettivo, la rigenerazione epiteliale, la formazione dei capillari e lo sviluppo della cicatrice (9).

Il TGF-1 A differenza della maggior parte degli altri polipeptidi con funzioni di controllo della crescita, può agire sia come fattore di inibizione (bloccando la chemiotassi a guarigione avvenuta) che come un fattore di stimolazione. Il TGF- $\beta$ 1, ad alte concentrazioni, riesce altresì ad inibire la crescita cellulare diminuendo l'espressione dei recettori per il PDGF e ad inibire la degradazione del collagene mediante la diminuzione delle attività proteasiche e la stimolazione degli inibitori delle proteasi (diminuendo il rischio di formazione di cicatrici ipertrofiche e cheloidi)(10-12).

L'EGF agisce in modo paracrino e mitogeni-

co sui cheratinociti. Studi in vivo hanno confermato che la produzione di EGF è aumentata significativamente dopo lesioni acute, accelerando così la riepitelizzazione e aumentando la forza elastica (9).

L'FGF è importante nella riparazione delle ferite: in particolare studi condotti su una delle sue isoforme chiamato FGF-2 o basico, hanno dimostrato che regola la sintesi e la deposizione di vari componenti della ECM, aumenta la mobilità dei cheratinociti durante la riepitelizzazione e agisce sui fibroblasti promuovendone la migrazione e stimolandoli a produrre collagenasi (13).

Per quanto riguarda l'IGF è stato dimostrato che specialmente se associato al PDGF favorisce la guarigione delle ferite (14).

Questa breve digressione sui fattori di crescita ci aiuta a capire lo scopo del nostro lavoro, ovvero quello di testare la reale efficacia del preparato nella stimolazione della rigenerazione tessutale, potendo potenzialmente diventare utile nelle piccole perdite di sostanza. Infatti il vantaggio di tale trattamento è quello di essere conservativo ed economico.

In tale lavoro manca una popolazione di controllo rappresentata dai pazienti in cui la perdita di sostanza veniva lasciata guarire per seconda intenzione, ovvero senza alcun trattamento, e da quelli in cui veniva effettuata la regolarizzazione dei monconi. In realtà tale casistica è presente nei lavori di altri autori e altresì possiamo affermare anche per esperienza personale, che le perdite di sostanza, in particolare quelle apicali della mano che interessano cute e tessuti molli, molte volte esitano in cicatrici caratterizzate da iperproliferazione di connettivo disorganizzato. Tutto ciò oltre a risultare antiestetico perché inficia la corretta crescita dell'unghia, porta la cute ad essere meno soffice e meno sensibile agli stimoli termico tattili.

Il limite reale, che ci auspichiamo venga risolto in futuro, è rappresentato da una mancata comparazione con gli innesti e i lembi cutanei, che attualmente rappresentano gli standard di trattamento. Possiamo però affermare che, se pur con ottimi risultati, essi sono gravati dalla morbidità del sito donatore e dal costo maggiore rispetto al gel-PLT. Infatti il costo di ogni singola preparazione ed applicazione di gel è di 15€ contro le spese sicuramente maggiori, sostenute dal sistema sanitario nazionale, in caso di lembi o di innesti che necessita-

no di un intervento chirurgico. L'intervento in se rappresenta inoltre un ulteriore rischio per il paziente che giustifica, insieme ai precedenti svantaggi, l'esecuzione di ulteriori studi atti a valutare una pari o maggiore efficacia del gel nei confronti delle plastiche cutanee.

Sulla base dei dati ottenuti si evidenzia che il gel-PLT permette il trattamento delle perdite di sostanza di cute e tessuti molli ed inoltre, ha effetto anche in tutte quelle situazioni di capacità rigenerative ridotte come da noi testato nei pazienti con microangiopatia diabetica, in cui risulta difficile o addirittura impossibile una guarigione spontanea di tali lesioni. I pazienti hanno manifestato gradimento per tale tipo di trattamento che è risultato meno invasivo e traumatizzante anche se testato solamente nelle piccole perdite di sostanza e ciò rappresenta ancora un limite al suo impiego. I risultati ottenuti dimostrano che tale preparato merita ulteriori approfondimenti sperando che in futuro possa rappresentare un punto cardine per la cura delle perdite di sostanza in quanto potenzialmente potrebbe garantire meno stress per il paziente e spesa minore per il SSN.

#### Bibliografia

1. Quirinia A, Viidick A: The effects of recombinant fibroblastic growth factor (B-F.G.F.) in fibrin adhesive vehicle on the healing of ischemic and normal incisional skin wounds. *Scand J Plast Reconstr Hand Surg* 1998; 32:9-18.
2. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR: Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998; 85:638-646.
3. Henderson JL, Cupp CL, Ross EV, Shick PC, Keefe MA, Wester DC, Hannon T, McConnell D: The effects of autologous platelet gel on wound healing. *Ear Nose Throat J.* 2003; 82:598-602.
4. Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council on the Community code relating to medicinal products for human use, 6 November 2001.
5. Angrisani C, Del Prete S: Il Gel Piastrinico nella mano traumatica. Abstract 87<sup>o</sup> SIOT, Napoli, 24-28 ottobre, 2004; 1:289-296.
6. D'Onofrio D, Angrisani C, Del Prete S: Platelet gel in treating trauma in the hand. *J. Bone Joint Surg.* 2005; 87:172-181.
7. Ferguson MWJ, Leigh IM: Wound Healing. From :Champion RH, Burton JL, Burns AD, et al: *Textbook of Dermatology.* 6 th ed. Oxford: Blackwell; 1998, 4:335-356.
8. Sanchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI: Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofacial Implants.* 2003; 18:93-103.
9. Gope ML, Gope R. Tyrosine phosphorylation of EGF-R and PDGF-R proteins during acute cutaneous wound healing process in mice. *Wound Rep Reg* 2009; 17:71-79.
10. Tyrone JW, Marcus JR, Bonomo SR, Mogford JE, Xia Y, Mustoe TA: Transforming growth factor beta3 promotes fascial wound healings in a new animal model. *Arch Surg* 2000; 135:1154-1159.
11. Schmid P, Cox D, Bilbe G, Mc Master G, Morrison C, Stahelin H, Luscher N, Seiler W: Tgf beta type II receptor in human epidermis: differential expression in acute and chronic skin wounds. *J Pathol.* 1993; 171:191-197.
12. Colwell AS, Phan TT, Kong W, Longaker MT, Lorenz PH: Hypertrophic scar fibroblast have increased connective tissue growth factor expression after transforming growth factor beta stimulation. *Plast reconstr Surg* 2005; 116:1387-1460.
13. Sogabe Y, Abe M, Yokoyama Y, Ishikawa O: Basic fibroblast growth factor stimulates human keratinocyte motility by Rac activation. *Wound Repair Regen* 2006; 14:457-462.
14. Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M: Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16:585-601.

---

**THE USE OF PLATELET GEL FOR TISSUE REGENERATION IN ORTHOPEDICS AND TRAUMATOLOGY**

Gel-PLT was experimented to verify his effect on tissue regeneration, the function and shape reconstitution of damaged tissue. The medium has been used in so-called "difficult patients", in which this process is slower due to some factors that contrast with its activity, such chronic diseases as diabetic neuropathy and/or microangiopathy, advanced age, scarce vascularisation of injury site, etc. According to experimental evidence existing in international literature and the personal ones, weekly application of gel-PLT with a concentration of 750.000-100.000.000 PLT/ $\mu$ l have been done until the complete coverage of the injury. The administration last for a variable period from 1 to 10 months and thanks to clinical controls we could observe correct coverage of the injury site otherwise difficult to resolve as we tested in patients with diabetic microangiopathy. We can affirm that this preparation , with its effects on tissue regeneration is able to stimulate tissue regeneration and we hope in future studies to compare this method to the actual standard represented by skin-plastic, burdened by donor site's morbidity even if with good results.

**Keywords:** platelet gel, wound healing, cutaneous regeneration, hand injuries, tibial fractures, ulcer.

CAPSULA EBURNEA, 5(18):105-110, 2010

---