

### **Introduzione e campi di applicazioni**

Il plasma ricco di piastrine (PRP) è alla base di metodiche per incrementare la concentrazione dei fattori di crescita contenuti all'interno delle piastrine nelle sedi chirurgiche dove occorre accelerare i meccanismi di rigenerazione tissutale [1]. Nel corso del processo di formazione del coagulo, le piastrine rilasciano numerosi fattori di crescita capaci di stimolare la replicazione di fibroblasti, osteoblasti, e cellule endoteliali rendendosi efficaci come adiuvanti/potenzianti dei naturali processi adesivi e riparativi, favorendo ed accelerando la riparazione tissutale sia cutanea sia ossea.

Le piastrine (PLTs) sono presenti nel sangue circolante alla concentrazione di  $150-400 \times 10^3/\mu\text{l}$  ed hanno una vita media di 7 giorni. Normalmente le piastrine circolano nel sangue in forma non attivata. Appena un tessuto viene danneggiato, con il sangue arrivano le piastrine che entro pochi minuti cambiano forma. Esse sviluppano pseudopodi per favorire l'aggregazione e rilasciano il contenuto dei granuli attraverso un sistema di canalicoli.

Il fattore tissutale sintetizzato dall'endotelio ed i fattori secreti dalle piastrine innescano la cascata della coagulazione intrinseca, che culmina nell'attivazione della trombina. La trombina converte il fibrinogeno solubile in fibrina insolubile che con gli aggregati piastrinici concorrono alla formazione del tappo emostatico che riduce l'emorragia. Il ruolo principale delle piastrine continua nel processo di rigenerazione tissutale. Il PDGF (Platelet Derived Growth Factor) rilasciato nella sede della ferita stimola la sintesi di un nuovo tessuto connettivo e la rivascolarizzazione coordinando in contemporanea l'attività di altri fattori di crescita che permettono di stabilizzare i tessuti danneggiati nelle fasi iniziali della

riparazione tissutale fino alla riparazione del tessuto danneggiato [2].

L'utilizzo clinico di PRP è molto vario e nuove applicazioni sono costantemente segnalate.

Il PRP risulta essere particolarmente utile in campo ortopedico, in particolare nella riparazione di tendini e legamenti aumentando sensibilmente la proliferazione delle cellule tendinee e stimolando fattori angiogenici, negli interventi di osteosintesi o nel trattamento delle fratture con grosse perdite di sostanza.

Si sostiene che il PRP autologo migliori anche la formazione di tessuto di granulazione in ulcere di varia patogenesi che non guariscono con medicazioni avanzate di ultima generazione.

La chirurgia parodontale e l'odontoiatria sono i campi in cui probabilmente è stata condotta la maggior parte della ricerca e da cui sono stati ottenuti i risultati più positivi legati al PRP. Il PRP autologo si è dimostrato utile nella ricostruzione dei difetti della mandibola e nella terapia semplice e sicura in chirurgia orale e maxillo-facciale.

Il PRP, che solo recentemente è stato introdotto nella chirurgia oculistica, è stato segnalato in alcuni studi per l'aumento della proliferazione cellulare nelle ferite alla retina.

Vi sono numerose evidenze scientifiche sul ruolo positivo del PRP nella rigenerazione dei tessuti e nella guarigione delle ferite; inoltre un vantaggio importante del PRP autologo in ambito clinico è che non ha effetti negativi.

### **Modalità di produzione**

La procedura per la preparazione di PRP ad uso terapeutico prevede l'impiego di un volume di sangue intero di partenza pari a 150-100 ml in base alle esigenze richieste.

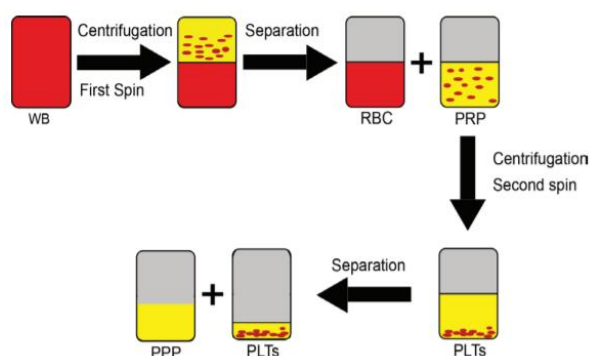
La metodica di produzione del PRP si basa su due tipi di centrifugazione in sequenza: a bassi giri e ad

alti giri. La prima centrifugazione a bassi giri dell'unità di sangue intero permette la separazione dalle emazie del plasma ricco di piastrine il quale, dopo una separazione con uno specifico estrattore di emocomponenti, si sottopone ad una seconda centrifugazione ad alti giri, ottenendo concentrato piastrinico.

Il sistema di sacche triple in PVC prevede di semplificare ed automatizzare notevolmente la procedura di produzione di PRP impiegando un circuito chiuso, sterile, di tre sacche in modo da produrre emocomponenti clinicamente sicuri e con caratteristiche di alta resa e scarsa contaminazione.

Le sacche triple, costituite da una sacca madre e da due sacche satelliti, prevedono un volume massimo ciascuno di 200 ml di sangue in un volume di CPDA-1 pari a 28ml ed hanno integrato un sistema di campionamento per il prelievo di sangue dal paziente.

L'estrattore di emocomponenti Bag Press Plus Bio45 prevede, in due semplici step, di ottenere il volume di concentrato piastrinico desiderato.



**Figura 1: Processamento sangue intero per ottenere un volume desiderato di PRP [3].**

### Materiali e metodi

Le sacche impiegate sono un sistema di sacche triple, costituite da una sacche madre e da due sacche satelliti, in PVC Cod. TL200SD.

Una volta aperto il kit e verificatane l'integrità, si procede al prelievo del volume di sangue desiderato ( $V_{max}=200ml$ ,  $V_{min}=100ml$ ) nella sacca madre, che risulta essere facilmente riconoscibile in quanto connessa con il sistema di campionamento del sangue.

Le unità di sangue intero vengono centrifugate entro quattro ore dal prelievo.

I parametri di centrifugazione dipendono dal modello di centrifuga in dotazione.

I parametri di separazione sono impostati direttamente sul separatore di emocomponenti e dipendono dal volume finale di concentrato piastrinico desiderato.

Al termine della prima centrifugazione a bassi giri, si dispone la sacca primaria, dove è contenuto il volume di partenza del sangue intero, sul supporto sacca di estrazione del separatore automatico Bag Press Plus Bio45 in dotazione.

Dalla schermata MENU PRINCIPALE, con le frecce selezionare AVVIO e premere il tasto ENTER.

Con le frecce selezionare la procedura N° 6 e confermare con il tasto ENTER.

Una volta terminata la procedura, la macchina dispone di un saldatore a radiofrequenza per dividere la sacca primaria dalle due sacche satelliti. La sacca satellite è sottoposta alla seconda centrifugazione ad alti giri.

A questo punto la sacca centrifugata viene disposta sul supporto sacca di estrazione della macchina Bag Press Plus Bio45.

Dalla schermata MENU PRINCIPALE, con le frecce selezionare AVVIO e premere il tasto ENTER.

Con le frecce selezionare la procedura N° 4 e confermare con il tasto ENTER.

DETTAGLI PROCEDURA NUMERO 6 (la prima procedura da effettuare)

1) Posizionare la sacca primaria sul supporto sacca (se possibile, l'etichetta che riporta i dati della sacca deve essere rivolta verso la contropiastra)

2) Aprire il coperchio del sensore RBC ed inserire nell'area di lettura il tubo N°1 del sistema di sacche triple. Richiudere il coperchio.

3) Inserire il tubo N° 1 nella valvola top e chiudere l'altro tubo con la clamp per impedire al flusso di andare nell'altra sacca satellite.

4) Posizionare la sacca dove sarà raccolto plasma ricco di piastrine sul piattello.

Il display visualizza il numero di fase operativa in cui si trova. Quando la procedura è completata, il display della macchina ne indica il completamento.

5) Rimuovere i tubi ed usare il saldatore a radiofrequenza per separare le due sacche satelliti dalla sacca primaria (prima della Y) e premere ESCAPE.

DETTAGLI PROCEDURA NUMERO 4 (la seconda procedura da effettuare)

Questa procedura è indicata per ottenere la quantità desiderata di PRP.

1) Posizionare la sacca primaria al supporto piastra (l'etichetta che riporta i dati della sacca deve essere rivolta verso la contropiastra).

2) Inserire fermamente il tubo N°1 nella valvola top.

3) Posizionare la sacca plasma sul piattello.

Il display visualizza il numero di fase operativa in cui si trova la macchina. Quando la procedura è completata, il display della macchina ne indica il completamento

5) Rimuovere i tubi ed usare il saldatore a radiofrequenza per separare le due sacche satelliti e premere ESCAPE. La sacca che era stata precedentemente disposta sul piattello della macchina contiene PPP (Plasma Povero di Piastrine), mentre la sacca che era stata posizionata sul supporto sacca di estrazione contiene il volume desiderato di PRP (Plasma Ricco di Piastrine)

#### **Bibliografia**

[1]Everts PMA, Knape JT, Weibrich G et al. A.

“Platelet- rich plasma and platelet gel: a review” J Extra Corpor Technol 2006, 38:174

[2] Werner S, Grose R. “Regulation of wound healing by growth factors and cytokines” Physiol Rev 2003,83:835

[3]Romana Hinz, Thermo Fisher Scientific, Osteode am Harz, Germany “Blood Banking Applications”