

**Raport Științific la
Contractul de cercetare, nr 3685/15.10.2013, obținut prin competiție,**

“Terapia leziunilor miofibrilare acute cu plasma autologa îmbogățită cu trombocite (PRP) la sportivii de performanță” - WIRATLMAP
PROIECT DE CERCETARE ȘTIINȚIFICĂ

1. DATE GENERALE

- a) Denumirea proiectului: “Terapia leziunilor miofibrilare acute cu plasma autologa îmbogățită cu trombocite (PRP) la sportivii de performanță” - (WIRATLMAP)
- b) Elaborator/Director de proiect : **Wira Grup SA/Asist. Univ. Dr. Ion-Bogdan Codorean**
- c) Beneficiar : **Alfa Brio Medical**
- d) Finantare : Din fonduri proprii
- e) Mod de acordare a contractului : Prin **competiție**
- f) Amplasamentul : România, București
- g) Tema, cu fundamentarea necesității și oportunității investiției:

Scopul proiectului de cercetare (a investiției) : “Terapia leziunilor miofibrilare acute cu plasma autologa îmbogățită cu trombocite (PRP) la sportivii de performanță”(WIRATLMAP)

Obiectivul principal al proiectului de cercetare medicala, consta **in evidențierea/ identificarea soluției optime** pentru realizarea investiției pe baza unor analize complexe **tehnico-științifice si economico-financiare** care pot evalua necesitatea, oportunitatea, competitivitatea in cercetare, durabilitatea si fezabilitatea economico-financiara a investiției .

Situația pe plan național si internațional

Programul de guvernare prevede ca obiective strategice in domeniul - cercetare științifica si dezvoltare tehnologica:

- ❖ creșterea rolului cercetării in dezvoltarea si transferul in economie al tehnologiilor avansate pentru a asigura rolul competitiv al unor sectoare pe plan internațional
- ❖ corelarea mai strânsa a activităților de cercetare-dezvoltare si inovare cu politica industrială a României si întărirea pe termen lung a legăturii între sectorul de cercetare-dezvoltare si mediul economic prin:
 - dezvoltarea mecanismelor care asigura transferul tehnologic in economie
 - încurajarea participării sectorului privat in activități de cercetare-dezvoltare si inovare

- majorarea cheltuielilor totale destinate sectorului de cercetare-dezvoltare din fonduri bugetare la 1% PIB pana in 2010

La nivelul Uniunii Europene, pe baza Strategiei Lisabona revizuita, știința și tehnologia sunt considerate adevăratele instrumente cheie pentru viitorul european, fapt stipulat în comunicatele Comisiei Europene referitoare la:

- linii directive privind politicile specifice de promovare a cercetării Comunicat CE EC COM 853-2004 Science and technology the key to Europe`s future – Guidelines for future European Union policy to suport research
- direcțiile privind rolul cercetării și inovării în stabilirea noilor linii directoare integrate pentru creșterea economica și crearea de noi locuri de munca pe perioada 2005 – 2008. Comunicatul CE - EC COM 488 final/ 2005 – More Research and Innovation-Investing for Growth and Emplyment A Common Approach
- obiectivele Programului Cadru de Cercetare al UE – PC7 Comunicatul CE COM 119 – final (2005)

Constrângerile la nivel local, regional, național sunt determinate de:

- lipsa unei strategii (la orice nivel) privind elaborarea, realizarea și implementarea unor tehnologii medicale avansate în domeniul respectiv;
- lipsa fondurilor alocate realizării unei infrastructuri, dotata și amenajata corespunzător pentru a genera prin cercetare metode și proceduri clinice menite să conducă la creșterea competitivității economiei naționale;
- caracterul de noutate al noilor tehnologii medicale apărute în ultimii ani, a făcut ca acestea să nu se prolifereze, acestea sunt mai scumpe, cer mai multa pregătire de specialitate.

Necesitatea și oportunitatea proiectului de cercetare – a investiției.

În prezent, în România, în cadrul a catorva spitale clinice exista doar cateva unități independente pentru efectuarea unor asemenea interventii medicale. Acestea nu pot să satisfacă decât o cazuistica limitată, de regula locală.

Decalajul care se manifesta în organizare, colaborare și dotare, fata de unități similare din UE fac ca o serie importanta de cazuri clinice să nu poată fi realizate în România.

Prezentul proiect își propune înființarea unui Centru de cercetare în terapia leziunilor miofibrilare acute care va concentra și valorifica în mod optim potențialul științific și tehnic din România.

Realizarea obiectivelor proiectului conduc la atingerea următoarelor direcții:

Dezvoltarea activității de C-D în domeniul terapiei leziunilor miofibrilare acute de țesuturi, prin:

- dezvoltarea unei infrastructuri de cercetare în domeniul științelor medicale, la un nivel calitativ recunoscut pe plan național, european și internațional;
- dezvoltarea cercetărilor în trei direcții prioritare, în care România are șanse reale de a deveni partener sau furnizor de proceduri clinice și tehnologii medicale avansate:
 - optimizarea procedurilor privind terapia leziunilor miofibrilare acute;
 - dezvoltarea software de monitorizare complexă a condițiilor din mediul leziunilor miofibrilare acute;
 - dezvoltarea procedurilor clinice de obținere a structurilor biocompozite, ca suport pentru tratarea leziunilor miofibrilare acute.

Implicarea mai mare a cercetătorilor români la programele europene de c-d.

- prin crearea unui centru de diagnosticare și terapia leziunilor miofibrilare acute se asigură baza materială necesară cercetătorilor din România ;

Creșterea calității și diversificarea actului educațional

După crearea centrului, studenții Facultăților de Medicină pot beneficia de baza materială necesară cercetărilor în domeniul terapiei leziunilor miofibrilare acute.

h) Descrierea proiectului investiției (descriere generală, stare actuală, preconizări)

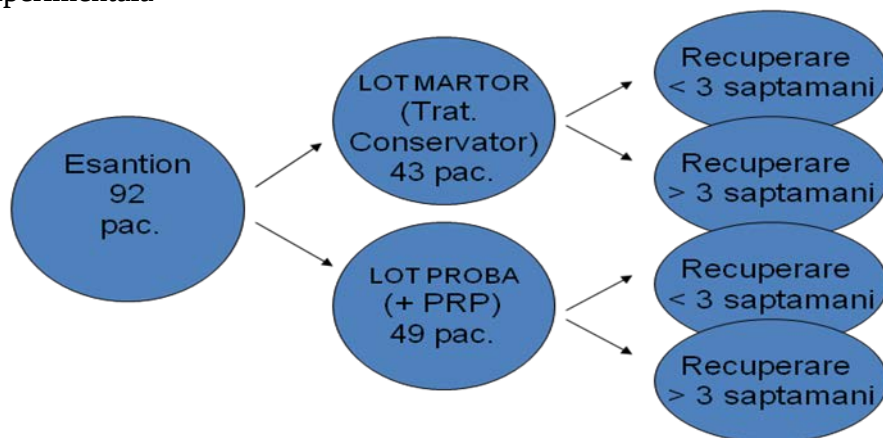
Terapia leziunilor miofibrilare acute cu plasma autologa îmbogățită cu trombocite (PRP) la sportivi de performanță

❖ Introducere

Leziuni musculare sunt cele mai frecvente cauze de incapacitate fizică în practica sportivă cu sistarea activității fizice pe perioade de timp mai lungi sau mai scurte în raport cu gradul leziunii. Incidenta acestor leziuni este estimată la peste 50% din toate leziunile traumatiche legate de sport (1). Deși rezultatele tratamentului convențional, nechirurgical au un bun prognostic pentru majoritatea sportivilor cu leziuni musculare, eșecul tratamentului poate fi dramatic, cu amânarea revenirii la activitatea fizică pentru săptămâni sau chiar luni (2). Pentru evitarea recidivelor lezionale și accelerarea revenirii la activitatea sportivă în ultimii ani mai mulți cercetători recomandă utilizarea preparatului autolog obținut prin centrifugarea sângelui recoltat de la sportiv, centrifugarea acestuia și obținerea unui preparat îmbogățit în trombocite cunoscut sub numele original de Platelet-Rich Plasma (PRP).

❖ Tipul studiului

Ancheta experimentală



❖ Ipoteza

Terapia cu PRP grăbește vindecarea și implicit recuperarea

❖ Scopul studiului

Compararea tratamentului conservator cu tratamentul conservator + PRP la sportivi de performanță

❖ Obiectivul studiului

Stabilirea timpului mediu de reluare a antrenamentelor specifice în regim normal

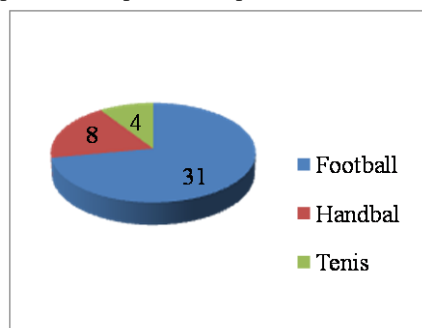
❖ Fundamentarea științifică a terapiei cu PRP

Fundamentarea științifică a utilizării PRP în tratamentul leziunilor musculare se bazează pe aportul factorilor de creștere identificați la nivelul trombocitelor (6,7). PRP are peste 400 de componente de factor de creștere și citokine cu responsabilități diferite; cumulativ, ei contribuie în diferitele etape a procesului de vindecare la accelerarea regenerării și restructurării mușchiului lezat (8,9).

❖ Materiale și metode

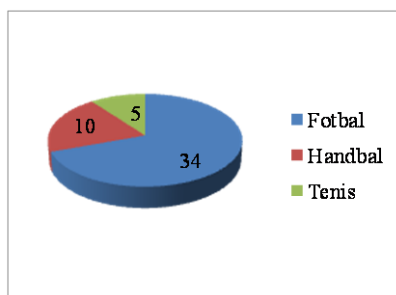
Lucrarea reprezintă o ancheta experimentală efectuată în perioada iulie 2009 – iunie 2013 și se referă la un lot de 92 pacienți sportivi de performanță cu leziuni traumatice acute ale membrului inferior. Sportivii au aparținut următoarelor discipline sportive: fotbal 65 (71%), Handbal 18 (19%), Tenis 9 (10%).

Fig. 1 Repartiția pe ramuri sportive a sportivilor cu tratament conservator



Structura pe sex și vârstă, a fost următoarea: bărbați 72 (78%) și femei 20 (22%) cu limite de vârstă cuprinse între 18 și 35 de ani. Leziunile au fost localizate la nivelul mușchilor ischiogambieri 62 (67%), și respectiv gastrocnemieni 30 (33%). S-au constituit două loturi, unul cuprinzând 43 de sportivi care au beneficiat de tratament conservator instituit din RICE și un lot de studiu experimental cuprinzând 49 de sportivi cu tratament conservator și administrarea de PRP.

Fig. 2 Repartiția pe ramuri sportive a sportivilor cu tratament conservator și administrare de PRP



- Evaluare clinică - diagnostic
- Examen RMN – diagnostic + cuantificare

- Evaluarea terapiei – reluarea antrenamentului normal
- Protocol tratament conservator

Kitul pentru producerea PRP

Tratament conservator a constat în :

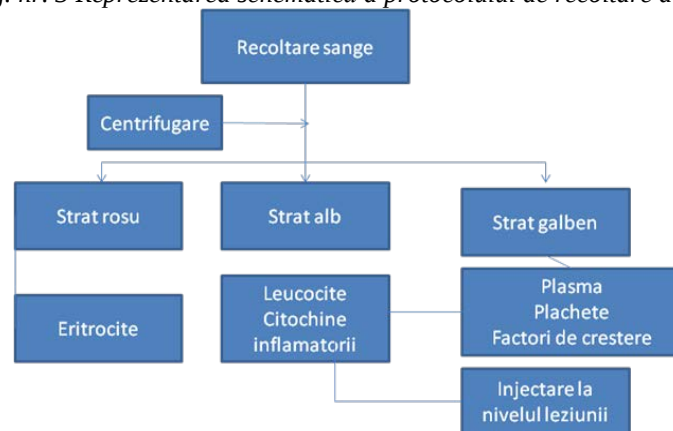
- PRICE- Protection, Rest, Ice, Compresion, Elevation
- Alergari ușoare, mișcări active împotriva rezistenței, stretching, piscină
- Exerciții concentrice urmate de exerciții eccentric
- Revenirea la antrenamentul specific

Examenul clinic a cuprins: anamneza amanunțită pentru identificarea mecanismului de producere a leziunii musculare, inspecția, palparea și evaluarea gradului de mobilitate, cu încadrarea clinică. Toți pacienții cuprinși în lotul de studiu au beneficiat de examinarea prin IRM care a confirmat prezența leziuni, extinderea acestora, prezența sau absența produșilor de degradare a hemoglobinei.

❖ **Protocolul de preparare a PRP a cuprins urmatoarele etape:**

- Recoltare sange propriu
- Centrifugare
- Izolare si recoltare PRP
- Identificare sub control ecografic a leziunii
- Evacuare hematoma sub control ecografic
- Injectare PRP sub control ecografic

Fig. nr. 3 Reprezentarea schematică a protocolului de recoltare a PRP



❖ **Criteriile de includere in lotul de studiu**

1. Sportivi de performanta-profesionisti
2. Pacienti 18 – 35 ani
3. Dgn + Leziune fibrilara (Examen clinic si RMN)
4. Leziune < 2 cm la RMN

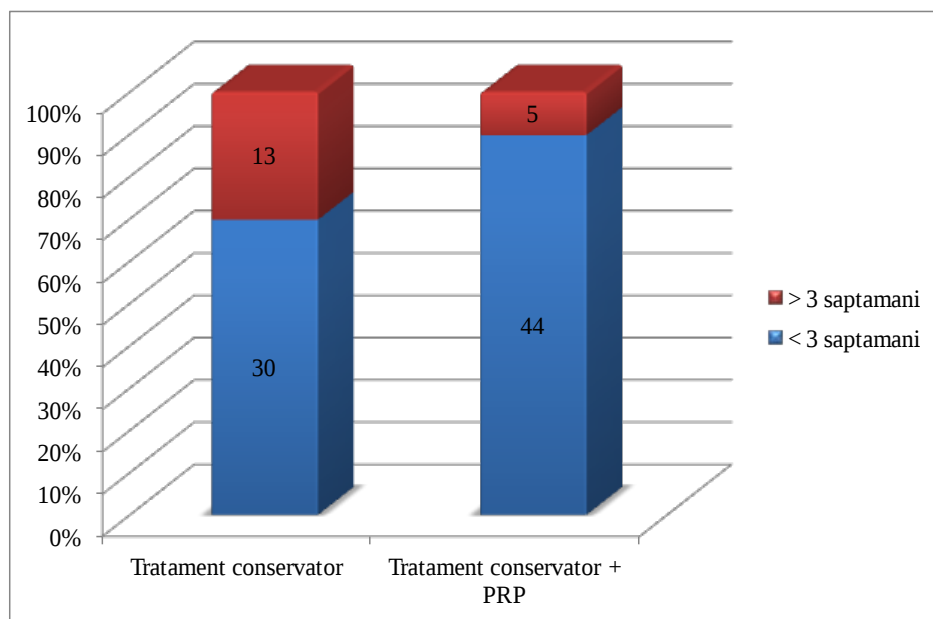
❖ **Criteriile de excludere**

1. Afectiuni de alta natura la nivelul leziunii = variabile de confuzie
2. Recidiva
3. Leziune > 2 cm la RMN

❖ Rezultate

1. Timp mediu de recuperare
26,7 zile - lot martor
20,1 zile – lot proba
2. Timpul minim de recuperare :
10 zile ptr PRP
18 zile ptr tratamentul conservator

Fig .nr 4. Reprezentarea grafica a rezultatelor celor doua loturi



❖ Discuții

Procesul de vindecare consecutiv leziunii musculare este un proces complex, dinamic controlat de mecanisme moleculare care implică un mecanism intrinsec care declanșează o cascadă de evenimente care restabilesc aparatul contractil lezat. În timpul dezvoltării embrionare, un fond de rezervă de celule nediferențiate denumite celule stem este stocat sub lamina bazală a fiecărui myofibril. Ca răspuns la o leziune musculară, aceste celule nediferențiate, se înmulțesc prin stimularea miogenezei, apoi se diferențiază în miofibrile și în cele din urmă se grupează pentru a forma miotubulii multinucleați (6).

Trombocitele sunt fragmente citoplasmatiche ale megacariocitelor care se formează în măduva osoasă. Acestea sunt cele mai mici componente sanguine, cu o formă neregulată și un diametru de 2-3 μm . Nu prezintă nucleu celular, dar conțin organite și structuri subcelulare precum sunt mitocondriile, microtubuli și trei forme de granule. Există aproximativ 80 de granule plachetare care conțin mai mult de 30 de factori de creștere, proteine bioactive, care au un rol dovedit în hemostază și în procesul de activare a regenerării țesuturilor lezate, potențialul funcțional complet a acestor proteine rămâne a fi elucidat de cercetările viitoare (12). Este larg acceptat că factorii de creștere joacă un rol central în biomodularea procesele de vindecare, duplicarea, activarea și diferențierea diferitelor tipuri de celule. Această observație este baza științifică a utilizării PRP. Există o vastă documentație a studiilor *in vitro* și *in vivo* care demonstrează siguranța și eficacitatea factorilor de creștere în procesul de vindecare a leziunilor musculare în sine.

Premisa de bază a utilizării PRP în practica clinică se bazează pe conținutul bogat al trombocitelor în factori de creștere, proteine bioactive, care au capacitatea de a dezvolta în țesutul în care sunt aplicate o rețea de fibrină care acționează ca o matrice pentru regenerarea țesuturilor lezate prin accelerarea diferențierii și creșterii celulelor specifice țesutului implicat traumatic (13).

Prin injectarea a 5 ml de PRP Wright-Carpenter și colab.(14) au comparat reluarea activității sportive a 18 sportivi profesioniști cu leziuni musculare tratate cu PRP cu 11 atleți tratați cu Traumeel și Actovegin. Autorii cercetării au raportat o reducere semnificativă a revenirii la joc pentru grupul tratat cu PRP (16 vs 22 zile). Există, de asemenea, două prezentări de caz, utilizând PRP pentru tratarea leziunilor musculare.(17) Una a descris rezultatul favorabil prin utilizarea de preparate injectabile PRP la un sportiv în vârstă de 35 de ani, cu o ecografie ce a confirmat o ruptură musculară la nivelul mușchiului adductor. În a doua prezentare de caz, o singură doză de injectat PRP a dus la soluționarea rapidă, atât clinic cât și la RMN, a unei leziuni musculare de gradul II la nivelul mușchiului semimembranos(18).

Studiul lui David C. Karli (19) a demonstrat că leziunile musculare atunci când tratamentul tradițional conservator esuează, pot fi tratate cu foarte bune rezultate printr-o injecție intramusculară a unei doze de PRP. În acest studiu 12 (71 %) din 17 sportivi cu leziuni ale mușchilor hamstring la care tratamentul tradițional conservator a eșuat au fost considerate cazuri refractare. După ce a primit PRP ca următoarea opțiune de tratament, acești pacienți au fost capabili să producă scoruri SVA și NPVA posttratament superioare celor din grupul cu tratament conservator. Rezultatele din grupul PRP și procentul mic (29 %) din pacienții care au răspuns bine la tratamentul tradițional conservator sugerează că ar putea fi benefică utilizarea PRP ca agent primar împreună cu tratamentul tradițional conservator pentru tratamentul inițial al leziunilor hamstring proximale. Acest tratament poate fi benefic mai ales la sportivi de performanță și la pacienții care doresc să evite injectarea de corticosteroizi sau intervenția chirurgicală.

- Concentrația PRP depinde de :
 - numărul de trombocite
 - volumul de sânge recoltat
- Este nevoie de continuarea cercetărilor pentru a putea cuantifica precis cantitatea de PRP necesară pentru tratarea diferitelor leziuni și modul de a obține exact cantitatea necesară
- Rezultatele nu pot fi încă precis predictibile în timp
- Numărul crescut de trombocite poate să fie un factor predictibil pentru o recuperare mai rapidă
- *Transplant* de PRP

❖ Concluzii

- Administrarea de plasmă îmbogățită în trombocite la nivelul leziunii musculare permite scurtarea timpului de recuperare post-traumatică cu interval cuprins între 8 și 10 zile comparativ cu lotul de sportivi care au efectuat tratamentul standard .Diferența în timpul de recuperare a sportivilor se datorează stimulării miogenezei de către factorii de creștere din conținutul trombocitelor .Terapia cu PRP oferă o soluție promițătoare pentru a accelera vindecarea leziunilor musculare fără supunerea pacientului la un risc semnificativ. Cum factorii de creștere sunt produse ale propriului corp, nu există riscul de transmitere a bolii, nici reacții alergice.
- Semnificație statistică ($p = 0.03133$)

❖ Bibliografie

- (1) Kujala UM. Benefits of exercise therapy for chronic diseases. *Br J Sports Med* 2006;40:3–4;
- (2) Tiago Lazzaretti Fernandes, André Pedrinelli, Arnaldo José Hernandez. *Rev Bras Ortop.* 2011;46(3):247-55;
- (3) Pedrinelli A, Fernandes TL, Thiele E, Teixeira WJ. Muscle Injury – Physiopathology, diagnosis, treatment and clinical presentation;
- (4) Paolo Plasma in Muscle Healing -*American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*;
- (5) Jarvinen TA, Jarvinen TL, Kaariainen M, Kalimo H, Jarvinen M. Muscle injuries: biology and treatment. *Am J Sports Med* 2005;33:745–64;
- (6) Frechette JP, Martineau I, Gagnon G: Platelet-rich plasmas: Growth factor content and roles in wound healing. *J Dent Res* 2005;84:434 –9;
- (7) Huard J, Li Y, Fu FH: Muscle injuries and repair. Current trends in research. *J Bone Joint Surg Am* 2002;84:822–32;
- (8) Li Y, Foster W, Deasy BM, et al: Transforming growth factor beta-1 induces the differentiation of myogenic cells into fibrotic cells in injured skeletal muscle: Key event in muscle fibrogenesis. *Am J Path* 2004;164:1007–19;
- (9) Scata KA, Bernard DW, Fox J, et al: FGF receptor availability regulates skeletal myogenesis. *Exp Cell Res* 1999;250:10 –21;
- (10) Jason W. Hammond, , JRichard Y. Hinton, Leigh Ann Curl, Joaquin M. Muriel Jason W. Hammond, Use of Autologous Platelet-rich Plasma to Treat Muscle Strain Injuries *Am J Sports Med* June 2009 vol. 37 no. 6 1135-1142;
- (11) Gian Nicola Bisciotti and Cristiano Eirale, Etiology, *Biology and Treatment of Muscular Lesions* 2013 <http://dx.doi.org/10.5772/56602>;
- (12) Anitua E, Andia I, Ardanza B, et al. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004;91:4-15;
- (13) Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001;10:225-8;
- (14) Wright-Carpenter T, Klein P, Schäferhoff P, et al. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum: a pilot study on sportsmen with muscle strains. *Int J Sports Med* 2004;25:588-93;
- (15) Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, et al. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med* 2009;37:2259-72;
- (16) Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, et al. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. *Am J Sports Med* 2009;37:1135-42;
- (17) Loo WL, Lee DY, Soon MY. Plasma rich in growth factors to treat adductor longus tear. *Ann Acad Med Singap* 2009;38:733-4;
- (18) Hamilton B, Knez W, Eirale C, et al. Platelet enriched plasma for acute muscle injury. *Acta Orthop Belg* 2010;76:443-8;
- (19) David Karli Platelet Rich Plasma Practical Pain management June 2010;

15 aprilie 2014

Asist. Univ. Dr. Ion-Bogdan Codorean