

Szymon Skwarcz, Ireneusz Bryzek

Klinika Ortopedii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Lublinie

Zastosowanie preparatów płytkowo pochodnych (PRP) w gojeniu deficytów tkanki kostnej w przebiegu urazów i chorób cywilizacyjnych w ortopedii, traumatologii i weterynarii

Streszczenie

Leczenie ubytków kostnych powstałych w wyniku urazów lub w przebiegu chorób cywilizacyjnych stanowi ciągle wyzwanie dla współczesnej medycyny i weterynarii. W ostatnich latach chęć biologicznego leczenia deficytów tkanki kostnej kieruje uwagę lekarzy na poszukiwanie nowych metod terapeutycznych opartych na regulacji komórkowych procesów naprawy tkanek. Celem niniejszej pracy jest przegląd aktualnego piśmiennictwa dotyczącego zastosowania preparatów płytkowopochodnych (PRP) w zakresie analizy sposobu prowadzenia badań i wachlarzu wskazań oraz próba oceny przyczyn rozbieżności w otrzymywanych wynikach badań. W badaniach doświadczalnych oraz w praktyce klinicznej szeroko stosowane są preparaty osocza bogatopłytkowego (PRP - Platelet-Rich Plasma) zawierające skoncentrowane płytki krwi, otrzymywane w wyniku wirowania i odpowiedniej separacji, które stanowią źródło cytokin wpływających korzystnie na kościotworzenie, m.in.: płytkowopochodnego czynnika wzrostu (PDGF), transformującego czynnika wzrostu (TGF- β) oraz czynnika wzrostu śródbłonna (VEGF). Pomimo szerokiego stosowania preparatów PRP w ortopedii, traumatologii i medycynie weterynaryjnej, zarówno w patologii tkanek miękkich (ścięgien, więzadeł, mięśni) jak i w patologii chrząstki i tkanki kostnej, zastosowanie wspomnianych preparatów wśród badaczy i klinicystów budzi kontrowersje ze względu na rozbieżne wyniki badań. W dostępnym piśmiennictwie, zarówno w badaniach doświadczalnych prowadzonych na zwierzętach jak i w badaniach klinicznych, istnieje duża rozbieżność w otrzymanych wynikach. W celu obiektywnej oceny otrzymywanych wyników niezbędne jest określenie standardowego modelu badawczego co pozwoli m.in. na określenie optymalnego protokołu badawczego dla danego osobnika w danej sytuacji klinicznej.

Słowa kluczowe: PRP, ubytki kostne, otrzymywanie PRP

Wstęp

W ostatnich latach biologiczne podejście do leczenia schorzeń z zakresu układu ruchu kieruje uwagę lekarzy na metody z zakresu medycyny regeneracyjnej oparte na wpływaniu na naprawę i regenerację tkanek już na poziomie komórkowym. Te miejscowo stosowane w medycynie i weterynarii metody, do których zaliczamy m.in. szeroko stosowane w weterynarii i ortopedii i traumatologii preparaty płytkowopochodne (PRP

- Platelet-Rich Plasma), oparte są na teoretycznych przesłankach wyjaśniających ich lokalne mechanizmy wpływania na uszkodzone tkanki. Zastosowanie preparatów osocza bogatopłytkowego (PRP) jako stosunkowo nowej, biologicznej metody leczenia stało się powszechnie stosowaną procedurą w bardzo szerokim wachlarzu wskazań. Celem autorów niniejszej pracy jest analiza aktualnego piśmiennictwa i wyników badań dotyczących zastosowania preparatów PRP w ortopedii i traumatologii w leczeniu patologii tkanki kostnej, oraz analiza stosowanej metodyki pozyskiwania preparatów PRP.

Płytki krwi – wpływ na tkankę kostną

Płytki krwi zawarte w preparatach PRP w przebiegu gojenia i regeneracji tkanki kostnej stanowią jeden z kluczowych czynników wpływających na ostateczną naprawę tkanki. Czynniki wzrostowe zawarte w ich ziarnistościach α regulują te procesy już w fazie krwiaka pourazowego, stanowiącego wstępną fazę gojenia. Ich uwalnianie z trombocytów zawartych w preparatach płytkowopochodnych może zachodzić w sposób spontaniczny lub w procesie aktywacji PRP i może zostać indukowane przez dodanie aktywatorów, najczęściej chlorku wapnia (CaCl_2) i/lub auto- lub allogenicznej trombiny. W procesie aktywacji płytki uwalniają szereg cytokin, wśród których, z punktu widzenia omawianego tematu, najważniejszymi są m.in.: płytkowopochodny czynnik wzrostu (PDGF), transformujący czynnik wzrostu ($\text{TGF-}\beta$) oraz czynnik wzrostu śródbłonna (VEGF), które to substancje wspomagają kościotworzenie.

Otrzymywanie preparatów płytkowopochodnych

Otrzymywanie PRP jest stosunkowo prostą i tanią metodą laboratoryjną polegającą na odwirowaniu krwi pełnej pobranej od pacjenta (preparaty autologiczne) albo od dawcy lub dawców (preparaty allogeniczne). W procesie wirowania dochodzi do rozdzielania krwi na frakcje. W zależności od stosowanego protokołu oddzielenie frakcji płytek krwi zachodzi po jednokrotnym lub dwukrotnym wirowaniu krwi pełnej. W wyniku tego procesu, w zależności od zastosowanego protokołu, otrzymuje się auto- lub allogeniczne osocze bogatopłytkowe o różnym stopniu zagęszczenia płytek krwi w stosunku do wartości trombocytów oznaczonej w pobranej krwi obwodowej. Skład takiego preparatu mogą stanowić wyłącznie płytki krwi (PRP) lub może on zawierać pewną ilość innych składników morfotycznych krwi np. leukocytów (L-PRP). Następnie, w zależności od metodyki i preferencji badacza, tak otrzymany preparat może zostać podany w docelową strefę w celu spontanicznej aktywacji lub poprzez dodanie endo – lub egzogennych aktywatorów (np. chlorku wapnia i/lub auto- lub allogenicznej trombiny, tromboplastyny) preparat ulega wymuszonej aktywacji i w przeciągu ok 5 min. dochodzi do nagłego wyrzutu cytokin z ziarnistości. Na rynku dostępnych jest wiele komercyjnych zestawów do otrzymywania preparatów PRP różniących się protokołem otrzymywania w zakresie ilości krwi pełnej pobieranej od dawcy, a tym samym oczekiwanej ilości ostatecznego preparatu PRP, sposobu, czasu i ilości wirowań czy sposobu aktywacji. Stosunkowo prosta metodyka otrzymywania wspomnianych preparatów daje możliwość względnie

taniej ich separacji przy zastosowaniu prostych metod laboratoryjnych bez stosowania komercyjnych zestawów, których koszt jest duży.

Preparaty płytkowkopochodne w gojeniu i regeneracji tkanki kostnej

Przegląd aktualnego piśmiennictwa dotyczącego wpływu preparatów PRP na gojenie i regenerację tkanki kostnej to przede wszystkim badania doświadczalne prowadzone na modelach zwierzęcych: szczurach (Penteado i in. 2013), królikach (Lim i in. 2013), kozach (van Bergen i in. 2013), psach (Souza i in. 2012), świnkach morskich (Jungbluth i in. 2010) oraz stosunkowo niewiele prac dotyczących wpływu PRP na tkankę kostną u ludzi (Peerbooms i in. 2012; Qiu i in. 2009). Prace dotyczące wpływu osocza bogatopłytkowego na tkankę kostną u zwierząt to głównie publikacje badające jego wpływ na stosowane w ubytkach kostnych auto- i allo przeszczepy (Portela i in. 2014, Nather i in. 2012) oraz na preparaty kościozastępcze takie jak m.in.: bioaktywne szkło (Penteado i in. 2013), demineralizowana macierz kostna (Leventis i in. 2012), preparaty hydroksyapatytu wapnia (Plachokova i in. 2007) czy naturalnego koralowca (Parizi i in. 2012). Prace prowadzone na modelu ludzkim to przede wszystkim publikacje z zakresu peridontologii badające wpływ samego PRP jak i PRP stosowanego z autologicznymi przeszczepami (Stenport i in. 2011) i substytutami kości (Bielecki i in. 2012), ale także publikacje z zakresu ortopedii odnoszące się głównie do wpływu PRP na stymulację gojenia tkanki kostnej w zaburzeniach zrostu (Memeo i in. 2014), w tym w stawach rzezkomych, złamaniach (Qiu i in. 2009), w leczeniu torbieli kości (Nagaveni i in. 2010) i we wspomaganiu osteogenezy dystrakcyjnej u dzieci (Latałski i in. 2011).

Podstawową wadą badań prowadzonych na zwierzętach utrudniającą obiektywną ocenę skuteczności preparatów płytkowkopochodnych jest brak jednolitego modelu badawczego. Analiza piśmiennictwa wskazuje, iż samo nazewnictwo preparatów jest wysoce nieprecyzyjne i na co wskazuje część autorów, często brak jest standardowego protokołu otrzymywania PRP (Malhotra i in. 2013) oraz podstawowych danych o szeregu zmiennych mogących mieć wpływ na ostateczne wyniki leczenia (Mazzocca i in. 2012). Bardzo różny jest także protokół przygotowania PRP zarówno w zakresie metod otrzymywania PRP, gdzie w zdecydowanej większości stosowane są preparaty autologiczne, a w nielicznych pracach, ze względu na trudności w otrzymaniu odpowiedniej ilości preparatu autologicznego, allogeniczne (Kamoda i in. 2012), sposobu aktywacji, do której stosuje się przede wszystkim auto- lub allogeniczną trombinę i chlorek wapnia, stopnia zagęszczenia płytek w preparacie PRP w stosunku do wartości wyjściowej we krwi obwodowej, który w analizowanym piśmiennictwie wahał się od ok. 3 do 12 w stosunku do wartości wyjściowej oznaczonej we krwi obwodowej dawców, dokładnego składu komórkowego PRP, gdzie stosowane są preparaty ubogo- i bogatoleukocytarne (Portela i in. 2014). Często różny jest także sposób podania; preparaty PRP są aktywowane *in vitro* i podawane w badane miejsce lub aktywowane *in situ*. Różne są także schematy podawania samego PRP, który w zdecydowanej większości podawany jest jednokrotnie, a tylko w nielicznych pracach w 2 lub większej ilości podań (Özdemir i in. 2012). W pracach prowadzonych na zwierzętach w aspekcie wpływu PRP na tkankę kostną

brak jest również jednolitego, powtarzalnego modelu doświadczalnego w zakresie miejsca i rozległości uszkodzenia tkanki kostnej na co wskazuje wielu autorów (Iqbal i in. 2011, Zhao, Zhai 2010). Analizowane prace prowadzone są przede wszystkim w oparciu o eksperymentalne ubytki kości czaszki o różnej wielkości w zakresie średnicy od 5 do 8 mm. gdzie np. dla szczurów prowadzone są badania zarówno na ubytkach kości pokrywy czaszki o średnicy 8 mm spełniających kryteria ubytków o krytycznej wielkości (CSD – *critical size defect*) (Denicolo 2013), które nie zostaną wygojone przez naturalne siły naprawcze danego organizmu, oraz na ubytkach o średnicy poniżej 5 mm, które ulegają spontanicznemu wygojeniu (nie-CSD). Co więcej wyznaczenie kryteriów CSD dla danego ubytku musi uwzględniać badany gatunek zwierzęcia i jego lokalizację i dla wielu stosowanych modeli nie są określone. Badania na zwierzętach prowadzone są m.in.: na szczurach – w ubytkach kości czaszki (Kim i in. 2010), w osteotomiach i złamaniach kości udowej (Chen i in. 2013) i zaburzeniach zrostu kości długich (Rai i in. 2007), na królikach – w ubytkach kości czaszki (Betoni i in. 2013), żuchwie (Kazakos i in. 2011), piszczeli (Nather 2012), kości promieniowej (Parizi 2012), trzonach kręgow (fuzja międzytrzonowa) (Kamoda i in. 2012), na psach – w osteotomiach kości promieniowej (Souza i in. 2012), łokciowej (Rabillard i in. 2009) i ubytkach kości żuchwy (Suba i in. 2004), na świnkach morskich – w ubytkach piszczeli (Jungbluth i in. 2010), na kozach – w ubytkach kości czaszki (Mooren i in. 2007) i kości skokowej (van Bergen i in. 2013). Z kolei badania na ludziach to głównie prace z zakresu chirurgii szczękowo-twarzowej – leczenie ubytków kości szczęki i żuchwy jako metoda wyłączna lub łącznie z preparatami kośćcozastępczymi i przeszczepami (Bielecki i in. 2012; Özdemir, Okte 2012), jak wspomniano wyżej, w zaburzeniach zrostu kości długich, w torbielach kości, w leczeniu złamań. Ta różnorodność w lokalizacji i wielkości ubytków utrudnia porównanie wyników badań. Podobnie w zakresie stopnia zagęszczenia płytek krwi w preparacie PRP w stosunku do krwi obwodowej nie istnieją ściśle określone wartości dla danego wskazania, ale większość autorów i wyniki części badań wskazują na fakt, iż skuteczność PRP nie jest liniowo wprost proporcjonalna do jego zagęszczenia. Zdaniem części autorów wysokie wartości zagęszczeń płytek mogą mieć niekorzystny wpływ na gojenie tkanki kostnej (Malhotra i in. 2013).

W analizowanym piśmiennictwie do powszechnie stosowanych metod oceny skuteczności leczenia preparatami PRP autorzy posługują się głównie badaniami histopatologicznymi, klasyczną radiologią, badaniami mikro-CT, badaniami biomechanicznymi i densytometrią oceniając wyniki leczenia zazwyczaj dwoma lub trzema z wymienionych metod. W analizowanych pracach, często w bardzo podobnych lub identycznych modelach, różna była także długość badań, co także utrudnia porównanie otrzymanych wyników.

W analizie 82 prac z ostatniego dziesięciolecia, w których autorzy badali wpływ PRP na regenerację tkanki kostnej w 60% prac wykazano jego korzystny wpływ, w 30% nie wykazano korzystnego wpływu na gojenie kości a w 10% wykazano negatywny wpływ na regenerację tkanki kostnej.

Wnioski

Z założenia preparaty płytkowopochodne stanowią stosunkowo tanią metodę wspomaganą uszkodzeń tkanek miękkich i kości (Jungbluth i in. 2010). Jako w większości preparaty autologiczne są bezpieczną metodą leczenia pozbawioną możliwości przeniesienia czynników infekcyjnych (Jungbluth i in. 2010). Podstawową wadą metody jest brak jednolitego modelu badawczego zarówno w zakresie protokołu przygotowania PRP jak i sposobu i miejsca podania. W badaniach doświadczalnych w celu obiektywnej oceny otrzymywanych wyników niezbędne jest określenie standardowego modelu badawczego dla danego zwierzęcia co pozwoli m.in. na określenie optymalnego stopnia zagęszczenia płytek dla danego osobnika w danej sytuacji klinicznej. W zakresie ustalenia optymalnego sposobu przygotowania preparatu PRP istnieje potrzeba ilościowej oceny stężenia czynników wzrostowych uwolnionych z preparatu w zależności od stosowanej metody otrzymywania, zagęszczenia i aktywacji. Wypełniając kryteria tzw. triady Lyncha wydaje się, iż do wykorzystania potencjału leżącego u podstawy omawianej metody w przypadku patologii tkanki kostnej konieczne jest stosowanie jej łącznie z materiałami osteokonduktywnymi (z przeszczepami kostnymi, substytutami kostnymi), a metoda podawania ich powinna uwzględniać konieczność utrzymania podawanego preparatu w oczekiwanym miejscu do czasu pełnego uwolnienia czynników wzrostowych. PRP w połączeniu z klasycznymi metodami leczenia może stanowić cenną terapię adiuwantową w chorobach układu ruchu.

Piśmiennictwo

1. Betoni W. Dechichi P. Esteves JC. Zanetta-Barbosa D. Magalhaes AE. (2013) Evaluation of the bone healing process utilizing platelet-rich plasma activated by thrombin and calcium chloride: a histologic study in rabbit calvaria. *J Oral Implantol.*, Feb;39(1), s. 14-21.
2. Bielecki T. Cieslik-Bielecka A. Zelawski M. Mikusek W. (2012) A side-effect induced by the combination of a demineralized freeze-dried bone allograft and leucocyte and platelet-rich plasma during treatment for large bone cysts: a 4-year follow-up clinical study. *Transfus Apher Sci.*, Oct;47(2), s. 133-8.
3. Chen L. Yang X. Huang G. Song D. Ye XS. Xu H. Li W. (2013) Platelet-rich plasma promotes healing of osteoporotic fractures. *Orthopedics.*, Jun;36(6), s. 687-94.
4. Denicolo PJ. Guyton MK. Cuenin M. Hokett S. Sharawy M. Borke JL. McPherson JC. (2013) Histologic Evaluation of Osseous Regeneration Following Combination Therapy with Platelet-Rich Plasma and BioOss in a Calvarial Critical Size Defect Model. *J Oral Implantol.*, Sep 4, s. 212-216.
5. Iqbal J. Pepkowitz SH. Klapper E. (2011) Platelet-rich plasma for the replenishment of bone. *Curr Osteoporos Rep.*, Dec;9(4) s. 258-63.
6. Jungbluth P. Wild M. Grassmann JP. Ar E. Sager M. Herten M. Jäger M. Becker J. Windolf J. Hakimi M. (2010) Platelet-rich plasma on calcium phosphate granules promotes metaphyseal bone healing in mini-pigs. *J Orthop Res.*, Nov;28(11) s. 1448-55.
7. Kamoda H. Yamashita M. Ishikawa T. Miyagi M. Arai G. Suzuki M. Eguchi Y. Orita S. Sakuma Y. Oikawa Y. Inoue G. Ozawa T. Toyone T. Wada Y. Takahashi K. Ohtori S. (2012) Platelet-rich plasma combined with hydroxyapatite for lumbar interbody fusion promoted bone formation and decreased an inflammatory pain neuropeptide in rats. *Spine (Phila Pa 1976)*, Sep 15;37(20) s. 1727-33.

8. Kazakos K. Lyras DN. Thomaidis V. Agrogiannis G. Botaitis S. Drosos G. Kokka A. Verettas D. (2011) Application of PRP gel alone or in combination with guided bone regeneration does not enhance bone healing process: An experimental study in rabbits. *J Craniomaxillofac Surg.*, Jan;39(1) s. 49-53.
9. Kim ES. Kim JJ. Park EJ. (2010) Angiogenic factor-enriched platelet-rich plasma enhances in vivo bone formation around alloplastic graft material. *J Adv Prosthodont.*, Mar;2(1) s. 7-13.
10. Latalski M. Elbatrawy YA. Thabet AM. Gregosiewicz A. Raganowicz T. Fatyga M. (2011) Enhancing bone healing during distraction osteogenesis with platelet-rich plasma. *Injury.*, Vols. Aug;42(8) s. 821-4.
11. Leventis MD. Eleftheriadis E. Oikonomopoulou P. Vavouraki H. Khaldi L. Tosios KI. Vardas E. Valavanis KD. Dontas I. (2012) Experimental study of the effect of autologous platelet-rich plasma on the early phases of osteoinduction by allogenic demineralized bone matrix. *Implant Dent.*, Oct;21(5) s. 399-405.
12. Lim HP. Mercado-Pagan AE. Yun KD. Kang SS. Choi TH. Bishop J. Koh JT. Maloney W. Lee KM. Yang YP. Park SW. (2013) The effect of rhBMP-2 and PRP delivery by biodegradable β -tricalcium phosphate scaffolds on new bone formation in a non-through rabbit cranial defect model. *J Mater Sci Mater Med.*, Aug;24(8) s. 1895-903.
13. Malhotra A. Pelletier MH. Yu Y. Walsh WR. (2013) Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. *Arch Orthop Trauma Surg.*, Feb;133(2) s. 153-65.
14. Mazzocca AD. McCarthy MB. Chowaniec DM. Dugdale EM. Hansen D. Cote MP. Bradley JP. Romeo AA. Arciero RA. Beitzel K. (2012) The positive effects of different platelet-rich plasma methods on human muscle, bone, and tendon cells. *J Sports Med.*, Aug;40(8) s. 1742-9.
15. Memeo A. Verdoni F. De Bartolomeo O. Albisetti W. Pedretti L. (2014) A new way to treat forearm post-traumatic non-union in young patients with intramedullary nailing and platelet-rich plasma. *Injury.*, Feb;45(2) s. 418-23.
16. Mooren RE. Merckx MA. Bronkhorst EM. Jansen JA. Stoelinga PJ. (2007) The effect of platelet-rich plasma on early and late bone healing: an experimental study in goats. *Int J Oral Maxillofac Surg.*, Jul;36(7) s. 626-31.
17. Nagaveni NB. Praveen RB. Umashankar KV. Pranav B. Sreedevi R. Radhika NB. (2010) Efficacy of platelet-rich-plasma (PRP) in bone regeneration after cyst enucleation in pediatric patients--a clinical study. *J Clin Pediatr Dent.*, 35(1) s. 81-7.
18. Nather A. Wong KL. David V. Pereira BP. (2012) Allografts with autogenous platelet-rich plasma for tibial defect reconstruction: a rabbit study. *J Orthop Surg (Hong Kong).*, Dec;20(3) s. 375-80.
19. Özdemir B. Kurtiş B. Tüter G. Sengüven B. Tokman B. Pinar-Özdemir S. Demirel I. Özcan G. (2012) Double-application of platelet-rich plasma on bone healing in rabbits. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.*, Jan 1;17(1) s. 171-7.
20. Özdemir B. Okte E. (2012) Treatment of intrabony defects with beta-tricalciumphosphate alone and in combination with platelet-rich plasma. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater.*, May;100(4) s. 976-83.
21. Parizi AM. Oryan A. Shafiei-Sarvestani Z. Bigham AS. (2012) Human platelet rich plasma plus Persian Gulf coral effects on experimental bone healing in rabbit model: radiological, histological, macroscopical and biomechanical evaluation. *J Mater Sci Mater Med.*, Feb;23(2) s. 473-83.
22. Peerbooms JC. Colaris JW. Hakkert AA. Van Appeldorn M. Bruijn DJ. Den Oudsten BL. Gosens T. (2012) No positive bone healing after using platelet rich plasma in a skeletal defect. An observational prospective cohort study. *Int Orthop.*, Oct;36(10) s. 2113-9.

23. Penteado LA. Colombo CE. Penteado RA. Assis AO. Gurgel BC. (2013) Evaluation of bio-active glass and platelet-rich plasma for bone healing in rabbit calvarial defects. *J Oral Sci., Sep*;55(3) s. 225-32.
24. Plachokova AS. van den Dolder J. Stoelinga PJ. Jansen JA. (2007) Early effect of platelet-rich plasma on bone healing in combination with an osteoconductive material in rat cranial defects. *Clin Oral Implants Res., Apr*;18(2) s. 244-51.
25. Portela GS. Cerci DX. Pedrotti G. Araujo MR. Deliberador TM. Zielak JC. Costa-Casagrande TA. Gonzaga CC. Giovanini AF. (2014) L-PRP diminishes bone matrix formation around autogenous bone grafts associated with changes in osteocalcin and PPAR- γ immunexpression. *Int J Oral Maxillofac Surg., Feb*;43(2) s. 261-8.
26. Qiu J. Zhang C. Guo Y. Yuan T. Xie Z. (2009) Clinical study on PRP in improving bone repair. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi., Jul*;23(7) s. 784-7.
27. Rabillard M. Grand JG. Dalibert E. Fellah B. Gauthier O. Niebauer GW. (2009) Effects of autologous platelet rich plasma gel and calcium phosphate biomaterials on bone healing in an ulnar osteotomy model in dogs. *Vet Comp Orthop Traumatol., 22*(6) s. 460-6.
28. Rai B. Oest ME. Dupont KM. Ho KH. Teoh SH. Guldberg RE. (2007) Combination of platelet-rich plasma with polycaprolactone-tricalcium phosphate scaffolds for segmental bone defect repair. *Biomed Mater Res A., Jun 15*;81(4) s. 888-99.
29. Souza TF. Andrade AL. Ferreira GT. Sakamoto SS. Albuquerque VB. Bonfim SR. Luvizotto MC. Louzada MJ. (2012) Healing and expression of growth factors (TGF- β and PDGF) in canine radial osteotomy gap containing platelet-rich plasma. *Vet Comp Orthop Traumatol., Nov 14*;25(6) s. 445-52.
30. Stenport VF. Örtorp A. Thor A. (2011) Onlay and inlay bone grafts with platelet-rich plasma: histologic evaluations from human biopsies. *J Oral Maxillofac Surg., Apr*;69(4) s. 1079-85.
31. Suba Z. Takács D. Gyulai-Gaál S. Kovács K. (2004) Facilitation of beta-tricalcium phosphate-induced alveolar bone regeneration by platelet-rich plasma in beagle dogs: a histologic and histomorphometric study. *Int J Oral Maxillofac Implants., Nov-Dec*; 19(6) s. 832-8.
32. van Bergen CJ. Kerkhoffs GM. Özdemir M. Korstjens CM. Everts V. van Ruijven LJ. van Dijk CN. Blankevoort L. (2013) Demineralized bone matrix and platelet-rich plasma do not improve healing of osteochondral defects of the talus: an experimental goat study. *Osteoarthritis Cartilage., Nov*;21(11) s. 1746-54.
33. Zhao Y. Zhai W. (2010) Research progress of platelet-rich plasma in promoting bone regeneration and repairing. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi., Aug*;24(8) s. 1004-8.

Liczba znaków ze spacjami: 21 845