

PLASMA RICO EM PLAQUETAS NO REJUVENESCIMENTO CUTÂNEO FACIAL: UMA REVISÃO DE LITERATURA

PLATELET-RICH PLASMA IN FACIAL REJUVENATION SKIN: A LITERATURE REVIEW

ANDRESSA APARECIDA PAVANI¹, TALMA REIS LEAL FERNANDES^{2*}

1. Aluna do curso de Farmácia da UNICESUMAR; 2. Professora Doutora do Curso de Farmácia da UNICESUMAR.

* Curso de Farmácia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Centro Universitário de Maringá – Unicesumar - Av. Guedner, 1610, Jardim Aclimação, Maringá, Paraná. Brasil. CEP: 87050-390. Talma.fernandes@unicesumar.edu.br

Recebido em 05/10/2016. Aceito para publicação em 16/12/2016

RESUMO

Plasma rico em plaquetas (PRP) é um hemoderivado autólogo caracterizado por elevadas concentrações de plaquetas, seus fatores de crescimento (FC) e proteínas em um pequeno volume de plasma. Estimulam processos celulares como quimiotaxia, mitogênese, diferenciação celular e angiogênese. Devido essas comprovadas ações, o PRP tem atraído a atenção para a área de estética, uma vez que tem sido demonstrado que pode induzir a síntese de colágeno e outros componentes da matriz extracelular através da ativação de fibroblastos, assim levando ao rejuvenescimento cutâneo. A presente revisão foi realizada com o objetivo de identificar a técnica de obtenção e as bases biológicas que regem a atuação e aplicação clínica do Plasma Rico em Plaquetas no rejuvenescimento da pele. Vários estudos demonstraram resultados promissores na área estética; entretanto algumas questões necessitam de mais esclarecimentos para que o PRP possa ser adotado definitivamente, na prática clínica, como estimulador dérmico. Deve-se desenvolver pesquisas clínicas quanto à eficácia e segurança do processo a longo prazo. Há necessidade de se padronizar os protocolos de obtenção e definir a concentração ideal de plaquetas, avaliando sua viabilidade e investigar e padronizar o plano ideal de aplicação do PRP, referente ao volume, camada da pele, número e intervalo das aplicações.

PALAVRAS-CHAVE: Dermatologia, envelhecimento da pele, plasma rico em plaquetas.

ABSTRACT

Platelet-rich plasma (PRP) is an autologous blood product characterized by high concentrations of platelets, their growth factors (GF) and proteins in a small volume of plasma. They stimulate cellular processes such as chemotaxis, mitogenesis, cell differentiation and angiogenesis. Due to these actions, PRP has attracted attention for the cosmetic area, since it has been shown that it can induce the synthesis of collagen and other extracellular matrix components through the activation of fibroblasts,

thus leading to skin rejuvenation. This review was conducted in order to identify technical sourcing and biological bases reacting to the performance and clinical application of platelet-rich plasma in skin rejuvenation. Several studies have shown promising results in the aesthetic area; however, some issues require further clarification so that the PRP can be adopted definitively, in clinical practice, such as dermal stimulator. Clinical research regarding the efficacy and safety of long-term process should be developed. It is highly necessary to standardize source protocols and define the optimal concentration of platelets by evaluating their viability, investigating, as well as, standardizing the ideal plan of the PRP application, referring to volume, layer of the skin, number and range of applications.

KEYWORDS: Dermatology, skin aging, platelet-rich plasma.

1. INTRODUÇÃO

O plasma rico em plaquetas (PRP) é um produto derivado de sangue total obtido por processo laboratorial simples e de baixo custo, caracterizado por elevadas concentrações de plaquetas, seus fatores de crescimento (FC) e proteínas em um pequeno volume de plasma. Tem a vantagem de ser um produto autólogo sendo então orgânico, atóxico e não imunorreativo¹⁻⁴.

Os fatores de crescimento derivados de plaquetas atuam como agentes reguladores e estimuladores dos processos celulares de mitogênese, quimiotaxia, diferenciação e metabolismo. As proteínas plaquetárias apresentam efeitos sobre vários tipos de células induzindo processos de migração, multiplicação, diferenciação, sobrevivência e produção de material extracelular³⁻⁶.

Essas propriedades das plaquetas conferem ao PRP uma potencialidade em melhorar a integração de enxertos cutâneos, ósseos, cartilagosos ou de gordura, pro-

porcionam uma proteção natural contra processos infecciosos e/ou alérgicos, estimulam neovascularização e cicatrização, diminuindo complicações e danos resultantes de cirurgias. Assim o PRP tem proporcionado benefícios há uma gama de procedimentos cirúrgicos, clínicos e tratamentos^{1,2,7,8}.

Devido essas comprovadas ações, a maioria das publicações sobre PRP estão relacionadas as áreas de Ortopedia, Medicina Esportiva e Odontologia. Na área de estética poucos trabalhos são produzidos e estão mais envolvidos em utilizar o PRP com o intuito de promover a aceleração de cicatrização de feridas, como tratamento coadjuvante de rejuvenescimento, alopecias e mesmo após sessões de laser para redução de seus efeitos negativos⁹.

Mas a temática do envelhecimento, com conseqüente preocupação com a aparência, vem ganhando destaque devido ao aumento da expectativa de vida da população e pela busca incansável por procedimentos que resultem em rejuvenescimento facial que sejam seguros, toleráveis e pouco invasivos. Nesses quesitos o PRP autólogo é uma nova abordagem mais natural na redução do processo de envelhecimento da pele, podendo induzir a síntese de colágeno e outros componentes da matriz extracelular (MEC) através da ativação de fibroblastos com conseqüente melhora na sua aparência clínica^{3,4,10,11,12}.

A maioria dos estudos sobre o uso de PRP no rejuvenescimento facial envolvem métodos de avaliação com imagens fotográficas e impressões subjetivas dos pesquisadores e pacientes, não há conclusões definitivas sobre sua eficácia e estímulo à formação tecidual no tratamento de rugas e sulcos faciais. As evidências identificadas na literatura mostram que o mecanismo de ação, as interações com os componentes da pele, eficácia e segurança a longo prazo, a técnica de obtenção e formas de tratamento com PRP em relação ao rejuvenescimento cutâneo não estão totalmente esclarecidos^{4,9,13}.

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho é desenvolver uma revisão que identifique na literatura científica a técnica de obtenção e as bases biológicas que regem a atuação e aplicação clínica do Plasma Rico em Plaquetas no rejuvenescimento da pele; fornecendo subsídios para o desenvolvimento de novos estudos de alta qualidade metodológica necessários para validar seu uso como prática clínica nesta área.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram pesquisados artigos científicos e livros relacionados ao assunto utilizando-se as bases de dados on-line, nacionais e internacionais como Medline (Medical Literature Analysis and Retrieval System Online) da National Library of Medicine (EUA), a LILACS (Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde) e SCIELO (Scientific Eletronic Library Online),

Google Acadêmicos e Portal Periódicos CAPES. A pesquisa foi limitada aos artigos publicados em língua portuguesa, espanhola e inglesa, compreendendo um intervalo de publicação entre os anos de 2005 a 2015.

3. DESENVOLVIMENTO

O aumento da expectativa de vida e a redução da taxa de natalidade estão levando o mundo contemporâneo a “era do envelhecimento”. No Brasil este fato não é diferente, prevendo-se que em 2020, 34 milhões de brasileiros estarão acima de 60 anos. Como o envelhecimento se contrapõe ao padrão estético imposto, constata-se também um intenso movimento no sentido de adiar ou tentar evitar esse processo por meio de iniciativas que objetivem a manutenção de uma aparência jovial. A estética passa a tramitar no âmbito científico, tendo na biotecnologia um campo crescente e uma ferramenta para adiar o processo do envelhecimento e conseqüentemente os sinais dos tempos. Para eficiência desse processo tem-se estimulado o estudo dos mecanismos bioquímicos, moleculares e celulares do envelhecimento cutâneo¹⁴⁻¹⁶.

A pele Jovem

A pele é o revestimento externo do corpo humano, sendo seu maior órgão, cuja principal função é a interface dinâmica para manutenção da homeostasia, funcionando como barreira física entre o ambiente e o meio interno. Impede a perda de fluidos corpóreos essenciais, prevenindo desequilíbrios hidroeletrólíticos, protegendo contra a desidratação e atuando na regulação do calor. Reduz a penetração de micro-organismos patogênicos, produtos químicos e quantidades excessivas de radiação ultravioleta, protegendo contracorrentes elétricas e forças mecânicas. Além disso, tem também funções nervosas que detectam estímulos táteis, vibratórios, pressóricos, térmicos, dolorosos e pruriginosos^{13,15,17}.

As funções descritas da pele são mediadas principalmente pela estrutura das camadas da epiderme e da derme. A epiderme normal é altamente celular e avascular, caracterizada por um epitélio estratificado escamoso em constante renovação formado em sua maior parte por queratinócitos e, em menor proporção, por outros tipos celulares, como melanócitos, células de Langerhans e células de Merkel. As camadas que compõem a epiderme são: basal, espinhosa, granulosa e córnea. Zonas sujeitas a maior atrito como palmas das mãos e pés apresentam uma camada adicional denominada lúcida, entre as camadas córnea e granulosa, constituída por uma fina camada de células achatadas parcialmente preenchidas por queratina e sobre elas existe uma cobertura glicolípídica, ambas conferindo impermeabilidade a membrana plasmática^{13,18,19}.

A camada basal é a mais profunda da epiderme estando em contato com a derme. É constituída por uma

única camada de células cuboides pouco diferenciadas que se dividem continuamente, dando origem a todas as outras camadas. Algumas destas células diferenciam-se e passam para as camadas mais superficiais, enquanto outras permanecem na camada basal e continuam a se dividir. Os melanócitos estão distribuídos nesta camada, sendo células formadoras de pigmentos. As células de Merkel são terminações nervosas modificadas, também podem ser encontradas na camada basal, sendo consideradas importantes células mecanorreceptoras. Sobre essa camada encontra-se a espinhosa, composta por várias camadas de células poligonais que produzem queratina e se unem por ligações intercelulares (desmossomos) entre os queratinócitos adjacentes. As células de Langerhans aí presentes são especializadas de vigilância do sistema imunológico e apresentadoras de antígenos. Acima desta tem-se a camada granulosa, composta por duas a quatro camadas de células achatadas com grânulos de queratina no citoplasma, produzem também grânulos de substância fosfolipídica associada à glicosaminoglicanos que são expulsos das células formando uma barreira proteica que confere grande resistência às células. A camada córnea, a mais externa da pele, é formada por queratinócitos que perderam suas organelas e núcleo, apresentam forma achatada e destacam-se da pele no processo de renovação celular (descamação). As células que a compõem são constituídas predominantemente por queratina, uma proteína que confere elasticidade e resistência^{13,17,18,19}.

A derme é o tecido conjuntivo onde está apoiada a epiderme. Em contraste a esta, a derme é vascularizada, responsável pela nutrição da pele e pela termorregulação, composta por duas regiões distintas, porções papilares e reticulares. A derme papilar é justaposta à epiderme sobrejacente e é composta por feixes frouxamente organizados de colágeno, fibras elásticas, fibrócitos, capilares e terminações nervosas. A derme reticular contém fibras de colágeno compacto, fibras elásticas grossas, parte profunda de anexos epidérmicos e, redes vasculares e nervosas. O colágeno é o principal constituinte da derme e é sintetizado pelos fibroblastos. Mais de 90% de fibras dérmicas são feitas de colágeno intersticial, principalmente dos tipos I e III, proporcionando resistência à tração mecânica. As fibras elásticas são responsáveis pela elasticidade da pele e se estendem da lâmina densa da junção dermo-epidérmica à derme reticular. As fibrilas especiais de colágeno inserem-se na membrana basal de um lado a outro e penetram profundamente na derme, ajudando na sua fixação à epiderme, além de facilitar a nutrição das células da epiderme devido sua vascularização. Na derme encontra-se a MEC, a qual é basicamente constituída por uma rede complexa de fibras proteicas, sintetizadas pelos fibroblastos e fibras elásticas submersas em outro tipo de proteína, os glicosaminoglicanos^{13,18,19,20}.

Envelhecimento Cutâneo

O envelhecimento cutâneo é um processo biológico de degradação, complexo e progressivo, caracterizado por modificações nas células epiteliais no aspecto morfológico, funcional e bioquímico, decorrentes de uma coleção de eventos universais e dinâmicos mediados por fatores endógenos (envelhecimento intrínseco) e, por fatores ambientais (envelhecimento extrínseco), que atuam de forma independente, distinta e simultânea, afetando a estrutura e aparência da pele^{17,18,20,21,22,23,24}.

Embora não haja consenso em relação a uma única teoria que possa explicar completamente o envelhecimento biológico ou intrínseco da pele, sabe-se que é inevitável e ocorre naturalmente com o avanço da idade, podendo ser disparado ou agravado por alterações bioquímicas delineadas pelo próprio genoma, fatores hormonais e devido a diminuição progressiva da capacidade de homeostase tecidual, levando a senescência e morte celular. Pequenas alterações genéticas (mutações) de forma cumulativa podem desencadear múltiplos processos e serem responsáveis pelo aparecimento fenotípico de marcas da idade. Clinicamente pode-se observar afinamento, xerose, flacidez, rugas e atrofia da pele, o que resulta na proeminência dos vasos sanguíneos e perda da elasticidade. Alterações nos músculos, perda da gordura subcutânea e perda de substância dos ossos faciais e cartilagens também contribuem para agravar o processo^{15,17,20,22,25,26}.

Três eventos bioquímicos são considerados característicos do processo de envelhecimento intrínseco da pele: diminuição da capacidade de divisão celular; redução da síntese da matriz dérmica e aumento do número de enzimas capazes de destruir a matriz de colágeno. O encurtamento dos telômeros, que são as porções terminais dos cromossomos, conduzem a diminuição da capacidade de divisão celular. Os telômeros têm a função de proteger os cromossomos e a replicação do DNA, mantendo íntegra as atividades de reparação e funcionalidade das células, mas ao longo do tempo, com as sucessivas divisões mitóticas e inativação das enzimas telomerasas, essa extremidade cromossomal é corroída, encurtando-se, perdendo assim informações genéticas, gerando instabilidades genômicas e perda de capacidade de regeneração tecidual que está associada diretamente a senescência celular^{15,17,21,26,27,28,29}.

A redução da síntese da matriz dérmica está relacionada a diminuição do número de fibroblastos, bem como de colágeno e elastina; perda da microvasculatura dérmica; perda de glândulas sebáceas e alterações das fibras elásticas. Alterações epidérmicas também são encontradas, como diminuição progressiva da renovação das células epidérmicas, achatamento da inserção da epiderme com a derme (junção dermoepidérmica), redução no número de melanócitos e atipia de queratinócitos. O aumento da produção de metaloproteínas de matriz

(MMPs) contribuem para o processo de envelhecimento devido a degradação de colágeno e de outras proteínas da matriz extracelular^{4,25}.

O declínio hormonal que ocorre com o avanço da idade também contribui para o envelhecimento cutâneo, observa-se a diminuição dos níveis de produção de estrogênios, testosterona, dehidroepiandrosterona (DHEA), cortisol, melatonina, tiroxina, hormônio do crescimento e insulina, que justificam alterações ao nível celular e estrutural da pele. O sistema tegumentar possui em cada uma das suas camadas (derme, epiderme e anexos cutâneos) receptores hormonais estrogênicos e androgênicos, principalmente no estrato granuloso, para estimulação de síntese de fibras de colágeno e de mucopolissacarídeos como o ácido hialurônico, que promove maior hidratação cutânea e controle da secreção sebácea. Estudos comprovam que após a menopausa há um decréscimo de cerca de 2% ao ano do conteúdo em colágeno, devido a interrupção quase total de produção de estrógenos, levando a perda de elasticidade e firmeza, ocorrendo surgimento de rugas, flacidez e escurecimento dos lábios^{17,26,28,29}.

Outro evento que pode estar envolvido no envelhecimento da pele é o estresse oxidativo, o qual ocorre quando a homeostase intracelular redox é alterada. Há desequilíbrio entre a produção e neutralização de Radicais Livres (RLs), os quais incluem espécies reativas de oxigênio (EROs) e espécies reativas de nitrogênio (ERNs). Embora a formação de RLs possa ocorrer no citoplasma, nas mitocôndrias e na membrana celular e em diferentes situações metabólicas; acredita-se que sua principal fonte endógena seja a respiração celular mitocondrial. As espécies oxidativas formadas nesse processo irão reagir com componentes nucleares e citoplasmáticos das células (principalmente DNA e RNA), com proteínas, lipídios, enzimas, colágenos e hormônios, induzindo modificações orgânicas dos tecidos e do código genético, e por consequência ocasionando as deficiências fisiológicas características do avanço da idade^{17,26,27,29}.

O envelhecimento extrínseco é dependente de fatores externos ao organismo, cuja exposição diária a estes, aumenta a produção de radicais livres, danificando lipídios, proteínas e DNA, resultando na incapacidade das células em manter sua integridade e função. Entre os principais fatores temos: radiações solares (fotoenvelhecimento), poluição ambiental, exposição as substâncias químicas e estilo de vida (sedentarismo, alimentação, estresse, consumo de álcool e tabagismo)^{15,17,18,25,26}.

A exposição ao sol é responsável por 80 a 90% do envelhecimento da pele. Os raios ultravioleta – UVA e UVB, sob ações direta e indireta, provocam mutações danificando o DNA mitocondrial de fibroblastos, levando à diminuição de colágeno e elastina, ativa a proteína 1 (AP-1) e o fator de transcrição nuclear (NF-kB) ex-

acerbando a degradação da matriz extracelular pelas MMPs, também reduzem a síntese do colágeno por induzir a transcrição do fator AP-1 e a redução dos receptores do fator de crescimento β (TGF-β) tipo II diminuindo a expressão do gene dos protocólágenos tipo I e III, que levam a formação diminuída e/ou alterada de colágeno I. O colágeno alterado tem pouca adesão aos fibroblastos, reduzindo mais uma vez a neocolagênese, bem como alterando a organização das fibrilas de colágeno, levando ao fotoenvelhecimento^{17,20,23,26,28}.

A nicotina é a segunda causa mais frequente de envelhecimento cutâneo. Esta diminui o fluxo sanguíneo, devido a uma vasoconstrição importante, que leva à falta de nutrientes e oxigênio, dificultando a síntese de fibras elásticas e favorecendo a formação de radicais livres. Além disso, o tabaco estimula a síntese de RNA mensageiro que codifica para a colagenase (MMP-1), aumentando a atividade das MMPs que promovem a destruição de colágeno^{17,28}.

O quadro 1 apresenta os principais fatores relacionados ao envelhecimento cutâneo, tanto intrínseco como extrínseco^{4,17,18,21,23,24,25,26,27,28,29}.

Quadro 1. Fatores relacionados ao envelhecimento cutâneo

<p>ORIGEM</p>	<p><u>Envelhecimento Intrínseco:</u> Processo associado ao avanço da idade, progressivo e irreversível.</p> <p>– <u>Envelhecimento Extrínseco:</u> Processo associado a fatores externos, principalmente radiação solar e tabagismo.</p>
<p>FATORES BIOLÓGICOS</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Alterações bioquímicas programadas pelo próprio genoma. – Alterações genéticas (mutações). – Modificação da expressão genética através de agentes ambientais. – Encurtamento dos telômeros. – Estresse oxidativo. – Alterações hormonais. – Expressão desregulada das metaloproteinases de matriz.
<p>CARACTERÍSTICAS HISTOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS</p>	<ul style="list-style-type: none"> – Diminuição da capacidade de renovação celular. – Menos células de Langerhans (menos defesa). – Redução do número de melanócitos. – Diminuição da espessura e da vascularização da derme. – Achatamento da junção dermo-epidérmica. – Menor capacidade mitótica da camada

	<ul style="list-style-type: none"> basal. - Diminuição da síntese da matriz dérmica. - Perda de glândulas sebáceas. - Atipia de queratinócitos. - Redução do número e da capacidade de biossíntese de fibroblastos, com diminuição de fibras de colágeno e elastina. - Alteração na organização de colágeno fibrilar e elastina. - Hiperplasia do tecido elástico. - Diminuição da espessura da epiderme. - Perda progressiva dos lipídios que constituem o estrato córneo.
<p style="text-align: center;">MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Espessamento cutâneo, com menor permeabilidade. - Cicatrização tecidual deficiente. - Xerose, flacidez, rugas e atrofia. - Alteração na pigmentação. - Proeminência de vasos sanguíneos. - Perda da elasticidade; elastose solar. - Alteração da cor e textura da pele; maior rugosidade. - Queratose; Telangiectasia; Púrpuras. - Aumento da suscetibilidade a traumas e infecções.

O sinergismo entre os eventos biológicos do envelhecimento intrínseco e extrínseco, principalmente sob efeito do fotoenvelhecimento, resulta nas seguintes características histológicas: adelgaçamento da camada espinhosa e achatamento da junção dermo-epidérmica (aspecto de excesso de pele), que pode levar ao aparecimento de atrofia, acúmulo de degradação de fibrina elastina amorfa sob a junção dermoepidérmica, hiperplasia do tecido elástico que apresenta aumento do número de fibras elásticas grossas, curvas e emaranhadas, presença de fibras colágenas reduzidas, delgadas, achatadas e desorganizadas. Há uma redução dos precursores de colágeno tipos I e III, redução de fibroblastos e um aumento de depósito dos glicosaminoglicanos no tecido elastótico e não nas fibras de colágeno e elastina, onde é responsável pela rigidez^{17,20,24,25,26,30,31,32}.

Os queratinócitos envelhecidos tornam-se resistentes a apoptose ficando susceptíveis ao desenvolvimento de carcinogênese. Alterações dos melanócitos, com surgimento de manchas senis. As células de Langerhans também diminuem com avanço da idade, perdendo capaci-

dade antigênica. Ocorre comprometimento de fibroblastos e conseqüentemente da síntese de elastina, colágeno e proteoglicanas, responsáveis respectivamente pela elasticidade, resistência e hidratação da pele^{17,20,24,25,26,30,31,32}.

Clinicamente é observado o aparecimento de rugas, flacidez, manchas, diminuição da capacidade de regeneração dos tecidos, perda do tônus, perda do brilho, aumento da fragilidade capilar, aspereza e espessamento actínico (devido redução de descamação)²⁰.

Plasma Rico em Plaquetas e Fatores de Crescimento

Em 1975 foi publicado um artigo que relatava o uso de uma mistura de plaquetas-fibrinogênio-trombina como um adesivo córneo, iniciando o conceito de “gel de plaquetas”. Em 1979 relatava-se o uso de espuma de gel em anastomose nervosa sem sutura. Nos anos seguintes foram realizadas pesquisas em modelos animais demonstrando que plaquetas e fibrina auxiliavam na cicatrização de lesões. Mas foi em meados da década de 1980, após a publicação de Kingthon *et al.*, em 1986, que iniciou-se a aplicação de plaquetas no tratamento de feridas. Um marco importante no final dos anos 1990 foram publicações sobre a utilização de gel de plaquetas na regeneração óssea em cirurgias maxilo-faciais, surgindo o termo plasma rico em plaquetas. A partir deste período o PRP vem sendo amplamente utilizado em diferentes áreas da medicina devido a sua capacidade de auxiliar na regeneração tecidual⁴.

O PRP também é conhecido como plasma enriquecido de plaquetas (PeRP), concentrado rico em plaquetas (PRC) ou gel de plaquetas autólogas. Pode ser definido como um hemoderivado autólogo contendo concentrações de plaquetas superiores aos níveis basais em pequena quantidade de plasma, sendo fonte de variados fatores de crescimento e proteínas. Além de plasma e plaquetas, leucócitos também compõem o PRP lhe conferindo resistência natural^{3,4,8,9,12,13,33,35,36,37}.

As plaquetas são pequenos fragmentos discoides anucleados de megacariócitos fisiologicamente fundamentais para manutenção da hemostasia e para formação do coágulo de fibrina, sendo os primeiros componentes a aderirem ao local da lesão do vaso, agregando-se entre si, promovendo a restauração do dano através de sua ativação e degranulação, com liberação de FC, citocinas, moléculas de adesão, integrinas e proteínas da coagulação. Estes componentes estimulam, através de uma rede de vias inter e intracelular de sinalização, a quimiotaxia e angiogênese, promovendo crescimento vascular e proliferação de fibroblastos que atuam nos processos celulares essenciais para reparo e cicatrização de feridas e re-epitelização, aumentando a síntese de colágeno^{2,4,5,6,9,13,38}.

Dois tipos de grânulos estão presentes nas plaquetas,

os densos e alfa (α). Os primeiros secretam adenosina difosfato (ADP), adenosina trifosfato (ATP), serotonina, cálcio, pirofosfato, P-selectina, fator de transformação do crescimento β, catecolaminas e guanosina di e tri fosfato. Já os grânulos alfa secretam FC que constituem um grupo de polipeptídeos com ação importante em diversas etapas do reparo tecidual, que incluem uma série de proteínas denominadas genericamente de fatores de crescimento derivados de plaquetas^{4,5,6,13,35,38,39,40,41}.

Entre os fatores de crescimento presentes nos grânulos α, destacam-se: três isômeros do fator de crescimento derivado de plaquetas (*Platelet Derived Growth Factors* - PDGF) – PDGFaa, PDGFbb e PDGFab; fatores de crescimento transformadores α e β (*Transforming Growth Factors*); fator de crescimento epitelial (*Epithelial Growth Factor* - EGF); dois isômeros do fator de crescimento semelhante a insulina (*Insulin-like Growth Factor* - IGF-1 e IGF-2); fator de crescimento endotelial vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor* - VEGF); fator de angiogênese derivado da plaqueta (*Platelet-derived Angiogenesis Factor* – PDAF) e fator plaquetário 4 (*Platelet factor 4* - PF-4)^{4,5,6,13,35,38,39,40,41}.

Adicionalmente as propriedades dos fatores de crescimento estão os efeitos das demais proteínas contidas nos grânulos alfa. São cerca de 800 proteínas plaquetárias que apresentam efeitos sobre vários tipos de células como os osteoblastos, condrócitos, fibroblastos, células endoteliais, células-tronco mesenquimais de diferentes origens, miócitos e células de tendão^{3,4,6}.

In vivo os fatores plaquetários são armazenados nos grânulos na sua forma incompleta o que proporciona que as plaquetas no estado de repouso normalmente não estejam ativadas. Alguns mecanismos podem levar a ativação das plaquetas, por exemplo a exposição de moléculas de adesão no endotélio lesado, tais como Fator de Von Willebrant, colágeno, fibronectina e laminina ou pela ação de agonistas fisiológicos como a trombina, ADP, colágeno, tromboxano A₂ e epinefrina que interagem com receptores específicos da membrana celular e outros mecanismos induzem a sinalização celular. Uma vez ocorrendo a ativação plaquetária, os fatores são transformados em seu estado bioativo e são ativamente secretados, captados por outras células aumentando a mitose celular e produção de colágeno, recrutando células para o local da injúria e induzindo a diferenciação celular^{13,33}.

As atividades biológicas dos principais fatores de crescimento plaquetários são descritas no Quadro 2^{4,5,6,13,35,38,39,40,41}.

Quadro 2. Atividades biológicas dos principais Fatores de Crescimento Plaquetários

Fator de Crescimento	Funções Biológicas
PDGF (<i>Platelet Derived Growth Factors</i>)	Na fase inicial do processo de cicatrização, atraem neutrófilos e monócitos, promovendo a síntese de colágeno e proteoglicanos, induzindo a

	proliferação de fibroblastos e estimulando estas células a sintetizarem nova matriz extracelular e aumentarem a secreção de collagenase. São potentes mitógenos para fibroblastos, células do músculo liso arterial, condrócitos, células epiteliais e endoteliais. Atuam ainda estimulando a angiogênese e ação de outros fatores de crescimento.
TGF-α (<i>Transforming Growth Factor α</i>)	Apresenta semelhança ao EGF, ligando-se ao mesmo receptor; entretanto estimulando a proliferação de células endoteliais de forma mais potente que este.
TGF-β (<i>Transforming Growth Factor β</i>)	Apresentam três isômeros, TGFβ-1, TGFβ-2 e TGFβ-3. Estimulam os fibroblastos a produzirem colágeno, favorecendo a cicatrização de feridas e reparo de tecido conjuntivo. Também favorece a regeneração de tecido ósseo, uma vez que melhoram a osteogênese.
EGF (<i>Epidermal Growth Factor</i>)	Peptídeo que induz a regeneração de células da epiderme, desempenhando importante papel no processo de cicatrização cutânea através da estimulação de proliferação de células epidérmicas epiteliais e fibroblastos, estimulando e acelerando diretamente a reepitelização. Juntamente com os demais fatores de crescimento plaquetários, realiza quimiotaxia de células mesenquimais e epiteliais, atraindo-as para o local lesionado e induzindo-as a mitogênese, estimula a síntese de matriz extracelular e colágeno, dessa forma beneficiando a cicatrização de tecido epitelial.
IGF (<i>Insulin-like Growth Factors</i>)	São peptídeos que se assemelham estruturalmente a pró-insulina, promovem a síntese de collagenase e prostaglandina E ₂ em fibroblastos, sendo também responsáveis pela mitose destas células.
VEGF (<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>)	Potente indutor de neovascularização, quimiotaxia e proliferação de células endoteliais. Aumenta a permeabilidade vascular.
PDAF (<i>Platelet-derived Angiogenesis Factor</i>)	Estimula angiogênese.
PF-4 (<i>Platelet Factor 4</i>)	Ação quimiotática sobre leucócitos polimorfonucleares e monócitos.

Clinicamente a reprodução deste processo pode ocorrer utilizando-se um ativador para o PRP, como a trombina ou CaCl₂, resultando na formação do gel de plaquetas. Uma vez que as plaquetas são ativadas, dentro de 10 minutos inicia-se a secreção de seus grânulos e 95% dos fatores de crescimento são secretados dentro de uma hora. Esses FC se unem a receptores da superfície celular e servem como mensageiros químicos, mediando vias de sinalização inter e intracelulares que controlam o crescimento celular, proliferação e diferenciação. Sendo importante ressaltar que a eficiência do processo se deve as interações entre proteínas da matriz extracelular e os fatores de crescimento e não apenas pela ação isolada

desses fatores^{13,33,34,38}.

Embora os métodos de aplicação do PRP em relação ao rejuvenescimento cutâneo ainda estejam sob investigação, se tópico ou injeção, normalmente é realizada na face e pescoço. Para o método injetável, a aplicação depende do efeito desejado. Para a estimulação superficial, a injeção deve ser feita na derme superficial, caso se deseje atingir a camada profunda da pele como material de preenchimento, deve-se aplicá-lo na derme profunda ou tecidos subcutâneos⁴.

Ao ser injetado no tecido alvo, o PRP ativado promove aumento da capacidade de regeneração tecidual ao secretar o conteúdo dos grânulos plaquetários, estimulando a migração, proliferação e diferenciação de células endoteliais, epiteliais e mesenquimais, quimiotaxia de neutrófilos e monócitos. Os FC ainda aumentam a permeabilidade vascular e ativam a angiogênese, melhorando a vascularização do tecido, que é reduzida com o avanço da idade e, induzem a síntese de colágeno através da estimulação dos fibroblastos^{3,11,42}.

Conde Montero, Fernández Santos, Suárez Fernández (2015)⁴² descreveram que o PRP também estimula aumento de inibidores de MMPs, diminuindo a atividade dessas proteínas, estabilizando a matriz extracelular. Contrariamente outros estudos relataram que aplicação do PRP ativado pode aumentar a expressão de alguns tipos de MMPs, alguns trabalhos afirmam o aumento da expressão de MMP-1 e MMP-3, enquanto outros, das MMP-1 e MMP-2. Essas proteínas embora estejam envolvidas no processo de envelhecimento devido a degradação de colágeno e de outras proteínas da MEC, poderiam utilizar essa característica para beneficiar o rejuvenescimento. Isto se daria pela remodelação da matriz extracelular através da estimulação de remoção de componentes danificados dessa matriz e indução de síntese de novo colágeno pelos fibroblastos⁴.

Outro mecanismo antienvelhecimento do PRP, seria através da aceleração da produção de ácido hialurônico. Este componente absorve a água, sua matriz incha e preenche os espaços entre as células, aumentando o volume da MEC, dando firmeza, turgor e hidratação à pele. Além disso, contribui para o ajustamento do diâmetro das fibras de colágeno^{4,42}.

Ensaio clínico com uso de PRP na área da estética

Vários artigos científicos, em diversas partes do mundo, têm demonstrado os benefícios do PRP autólogo para o rejuvenescimento cutâneo. Na Itália, a fim de demonstrar seu efeito clínico na revitalização da face e pescoço, realizou-se um estudo em 23 pacientes que foram tratados com uma injeção mensal de PRP ativado com cloreto de cálcio por 3 meses consecutivos. Os resultados foram avaliados um mês após a última sessão através da comparação de fotografias digitais e por der-

matoscopia, pré e pós-tratamento. Os pacientes experimentaram uma significativa melhora da micropigmentação, na textura e homogeneidade da pele, com redução nas pequenas rugas. Nas imagens com dermatoscópio observou-se uma boa melhoria da textura e elasticidade da pele. Um aumento de volume no local da injeção das pregas nasolabiais foi detectada em 65% dos pacientes. A técnica foi bem tolerada sem efeitos colaterais graves e persistentes e a satisfação dos pacientes foi muito elevada⁷.

Dae *et al.* (2011)¹⁰ na Coreia desenvolveram um estudo com PRP com o objetivo de avaliar seus efeitos *in vitro* sobre fibroblastos e remodelação dos componentes da matriz extracelular com consequente contribuição para o rejuvenescimento da pele. Esses autores observaram um aumento da expressão de colágeno tipo I, de MMP-1 e de RNAm em fibroblastos humanos, concluindo que o PRP pode promover a remodelação da EMC na pele envelhecida. Esses autores também concluíram que o PRP pode ser utilizado como adjuvante no tratamento a laser para rejuvenescimento da pele.

Ainda na Coreia, Na *et al.* (2011)⁴³ desenvolveram análise histológica da pele com cicatrizes após tratamento com associação de PRP ativado e laser de CO₂ fracionado. Os resultados foram a recuperação significativamente mais rápida das lesões, feixes de colágeno mais espessos, menor eritema e índice de melanina em relação ao controle (associação de salina com laser de CO₂ fracionado). Estudo semelhante foi realizado na China demonstrando que o PRP combinado com a terapia a laser fracionado é uma abordagem eficaz e segura para o tratamento de cicatrizes de acne, com efeitos colaterais mínimos, reforçando a recuperação dos efeitos negativos do laser³⁴.

No Peru, fora feita uma descrição do procedimento de microlipoenxerto facial com a utilização de PRP. A técnica consiste em injetar micro alíquotas de gordura autóloga dentro dos músculos faciais em vários pontos, para se obter o rejuvenescimento através do aumento de volume, porém essa gordura foi combinada com um preparado de PRP. Os pacientes expressaram satisfação com os resultados e com a vantagem de não ser um procedimento invasivo⁴⁴.

Monteiro (2013)⁹ realizou uma revisão envolvendo o Plasma Rico em Plaquetas para fins de rejuvenescimento. Nesse estudo obteve dados de que o PRP quando introduzido ao meio de cultura de fibroblastos dérmicos humanos levou a maior proliferação dessas células, bem como aumentou sua produção de colágeno em comparação às culturas-controle. Da mesma forma, a adição de PRP em cultura de células-tronco derivadas de tecido adiposo proporcionou aumento da proliferação dessas células. Esse achado reforça a possibilidade do PRP interferir na biologia das células-tronco presentes na pele.

No Egito foi desenvolvido um estudo em 20 pacientes do sexo feminino, com idade entre 30 e 55 anos, as quais foram tratadas com sessões de injeção de PRP autólogo ativado com cloreto de cálcio, aplicado na pele do rosto e pescoço. As pacientes foram acompanhadas por 6 meses. As avaliações médicas e das fotografias digitais pré e pós-procedimento, revelou uma percentagem média de melhora de 58,3%, com boa satisfação na auto avaliação das pacientes¹².

Também na Coreia, Oh, Kim, Kim (2014)⁴⁵ avaliaram os efeitos adicionais do PRP à Fototerapia de LED em 830 nm para a redução de cicatrizes faciais. O tratamento causou uma substancial melhora da lesão e sintomas, com bons resultados cosméticos e com resolução rápida de efeitos pós-laser.

Obtenção do Plasma rico em plaquetas

O PRP é obtido através de um processo de centrifugação de gradiente de densidade do sangue total do paciente, onde há concentração de plaquetas. O processo de obtenção é relativamente fácil e de baixo custo, minimamente invasivo, porém deve ser de forma estéril e de precisão. Deve-se observar não apenas o aspecto quantitativo (concentração de plaquetas), mas também aspectos qualitativos, crucial manter a integridade das plaquetas, para não perder as funções dos fatores de crescimento^{35,46}.

A concentração ideal de plaquetas não é definida, os métodos atuais pelos quais o PRP é preparado relatam um enriquecimento de 300 a 700%, atingindo concentrações superiores a um milhão de plaquetas por μL , podendo chegar de 5 a 10 vezes a concentração normal das plaquetas no sangue. Entretanto, ainda permanece obscura a relação entre o benefício clínico e a concentração de plaquetas, devido a variabilidade interindividual e a influência de fatores próprios de cada caso^{10,38,39}.

Há vários protocolos de centrifugação que concentram e capturam as plaquetas, visando a obtenção do PRP, estes diferem em número, tempo e velocidades de centrifugação a que o sangue total é submetido, volume da amostra inicial de sangue e os tipos de tubos coletores e anticoagulantes utilizados^{4,9,39}.

Em geral a técnica consiste em submeter o sangue coletado com anticoagulante (EDTA ou Citrato de Sódio) a uma centrifugação que separa e concentra os eritrócitos, obtendo-se três camadas distintas de acordo com a densidade (1º Estágio). A camada inferior (densidade 1,09) é composta por células vermelhas; a camada média (densidade 1,06) é composta por glóbulos brancos e plaquetas e, a camada superior (densidade 1,03) composta por plasma pobre em plaquetas (PPP). Algumas técnicas simplesmente separam a camada superior das demais obtendo um plasma rico em plaquetas; enquanto em outros métodos, retira-se a camada superior, e a retorna a outro tubo para centrifugação para a separação precisa

do PRP dos eritrócitos restantes, cuidando para evitar a fragmentação das plaquetas durante o processo, o que poderia causar sua ativação precoce (2º Estágio). Em seguida, a fração sobrenadante que é rica em plaquetas é coletada e transferida para outro tubo, onde na maioria dos métodos é realizada a ativação plaquetária com cloreto ou gluconato de cálcio a 10%. Algumas vezes acrescenta-se trombina^{12,38,39}.

O Quadro 3 apresenta alguns métodos de obtenção de PRP, quanto ao volume de sangue, número e tempo de centrifugações e componente ativador de plaquetas. Em todos os casos exibidos, o anticoagulante de escolha para a coleta de sangue foi o citrato de sódio.

Quadro 3. Protocolos de obtenção do PRP segundo diferentes autores

Volume de sangue	Centrifugação	Ativação das Plaquetas	Referência
Volume de sangue não citado.	1º Estágio: 7 min a 3.000 rpm 2º Estágio 5 min a 4.000 rpm	Mistura de Cloreto de Cálcio e Trombina	Dae et al. ¹⁰
10 mL de sangue	1º Estágio: 10 min a 160 g 2º Estágio: 10 min a 400 g	Cloreto de Cálcio	Na et al. ⁴³
40 mL de sangue	1º Estágio: 10 min a 1.500 rpm 2º. estágio: 20 min a 3.000 rpm	Gluconato de Cálcio	Zhu et al. ³⁴
30-60 mL de sangue	1º Estágio: 3.200 rpm por 15 minutos	Dado não citado	Jimenez-Canizales; Montoya-Canón; Sepúlveda-Arias ⁴⁷
10 mL de sangue	1º Estágio: 6 min a 1.100 rpm 2º Estágio 10 min a 3.000 rpm	Cloreto de Cálcio	Mikhael; El-Esawy. ¹²
20 mL de sangue	1º Estágio: 10 min a 1.200 rpm 2º Estágio: 5 min a 1.200 rpm.	Dado não citado	Guerreiro et al. ³⁷

5. CONCLUSÃO

O envelhecimento é uma fase de declínio funcional de qualquer organismo, ocorrendo alterações moleculares que desencadeiam mudanças orgânicas. A pele também é afetada pelo envelhecimento e suas alterações envolvem o processo intrínseco ou biológico, geneticamente pre-determinado e progressivo com a idade, o qual pode ser acelerado por fatores ambientais ou extrínsecos, principalmente radiação solar e consumo de tabaco.

Com a compreensão melhor desses mecanismos houve um significativo progresso nas técnicas que buscam prevenir e reverter os sinais visíveis do envelhecimento cutâneo. A biotecnologia tornou o corpo cada vez mais manipulável e os fatores de crescimento vem-se mostrando substâncias importantes nas estratégias de rejuvenescimento. Nesse sentido, vários estudos demonstraram resultados promissores na área estética, com aplicação do Plasma Rico em Plaquetas na face e pes-

coço, havendo melhora do aspecto e textura da pele, minimizando rugas e flacidez.

Entretanto algumas questões necessitam de mais esclarecimentos para que o PRP possa ser adotado definitivamente, na prática clínica, como estimulador dérmico. Deve-se desenvolver pesquisas clínicas quanto à eficácia e segurança do processo a longo prazo. Há necessidade de se padronizar os protocolos de obtenção e definir a concentração ideal de plaquetas, avaliando sua viabilidade; pois, como são produtos sintetizados biologicamente existe variação em sua composição e qualidade. Outro critério importante que deve ser investigado e padronizado é o plano ideal de aplicação do PRP, referente ao volume, camada da pele, número e intervalo das aplicações.

REFERÊNCIAS

- [01] Garcia RLL, Costa JRS, Pinheiro SS, Torriani, MA. Plasma rico em plaquetas: uma revisão de literatura. *Rev Bras Implantodont Prótese Implant.* 2005;12(47/48):216-9.
- [02] 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.
- [03] Ganceviciene R, Liakou AI, Theodoridis A, Makrantonaki E, Zouboulis CC. Skin anti-aging strategies. *Dermato-endocrinology.* 2012;4(3):308-19.
- [04] Banihashemi M, Nakhaeizadeh S. An introduction to application of platelet rich plasma (PRP) in skin rejuvenation. *Rev Clin Med.* 2014;1(2):38-43.
- [05] Dusse LMS, Macedo AP, Batschauer AP, Carvalho MG. Plasma Rico em Plaquetas (PRP) e sua aplicação em Odontologia. *RBAC.* 2008;40(3):193-7.
- [06] Zenker S. Platelet rich plasma (PRP) for facial rejuvenation. *J. Méd. Esth. et Chir. Derm.* 2010;XXXVII(148):179-83.
- [07] Redaelli A, Romano D, Marciánó A. Face and neck revitalization with platelet rich plasma (PRP): clinical outcome in a series of 23 consecutively treated patients. *J Drugs Dermatol.* 2010;9(5):466-72.
- [08] Taylor DW, Petrera M, Hendry M, Theodoropoulos JS. A Systematic review of the use of platelet-rich plasma in sports medicine as a new treatment for tendon and ligament Injuries. *Clin J Sport Med.* 2011;21:344-52.
- [09] Monteiro MR. Platelet-rich plasma in dermatology. *Surg Cosmet Dermatol* 2013;5(2):1559.
- [10] Dae HK, Young JJ, Chang DK, Young HL, Young JS, Jeung HL *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.
- [11] El-Domyati M, Medhat W. Minimally invasive facial rejuvenation: current concepts and future expectations. *Expert Rev Dermatol.* 2013;8(5):565-580.
- [12] Mikhael NW, El-Esawy FM. Skin rejuvenation with autologous concentrated platelet-rich plasma. *Egyptian Journal of Dermatology and Venereology.* 2014; 34:5-9
- [13] Donadussi M. Revisão Sistemática da Literatura sobre a Efetividade Clínica do Plasma Rico em Plaquetas para o Tratamento Dermatológico Estético [tese]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2012. 99 p.
- [14] Moreira V, Nogueira FNN. Do indesejável ao inevitável: a experiência vivida do estigma de envelhecer na contemporaneidade. *Psicol. USP.* 2008;19(1):59-79.
- [15] Dieamant G, Costa A, Bechelli L, Checon JT, Pereira C. Avaliação *in vitro* do perfil de segurança de cosmecêuticos contendo fatores de crescimento e seus análogos. *Surg Cosmet Dermatol.* 2012;4(3):229-36.
- [16] Santos LA, Zoboli F, Correia ES. Estética/beleza e anti-envelhecimento Feminino: Biotecnologia e potencialização do corpo. *Praxia.* 2013;1(4):48-61.
- [17] Ruivo AP. Envelhecimento Cutâneo: fatores influentes, ingredientes ativos e estratégias de veiculação [tese]. Porto (PT): Universidade Fernando Pessoa; 2014. 112 p.
- [18] Naylor EC, Watson REB, Sherratt MJ. Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas.* 2011;69:249-56.
- [19] Anderson BE. Sistema tegumentar. 2ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2014.
- [20] Vieira ACQM, Medeiros LA, Palácio SB, Lyra MAM, Alves LDS, Rolim LA *et al.* Fatores de crescimento: uma nova abordagem cosmecêutica para o cuidado anti-envelhecimento. *Rev. Bras. Farm.* 2011;92(3):80-9.
- [21] Silva WJM, Ferrari CKB. Metabolismo Mitocondrial, Radicais Livres e Envelhecimento. *Rev. Bras. Geriatr. Gerontol.* 2011;14(3):441-51.
- [22] Silva VN. Tratamento das rugas periorbitulares em idosos através da laser terapia 650 nm [trabalho de conclusão de curso]. Campina Grande (PB): Universidade Estadual da Paraíba; 2013. 19 p.
- [23] Parrinha ARG. Novas Tendências em Cosmética Anti-envelhecimento [tese]. Lisboa (PT): Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias / Escola de Ciências e Tecnologia da Saúde; 2014. 53 p.
- [24] Charles-de-Sá L, Gontijo-de-Amorim NF, Takiya CM, Borojevic R, Benati D, Bernardi P *et al.* Antiaging treatment of the facial skin by fat graft and adipose-derived stem cells. *Plastic and Reconstructive Surgery.* 2015;135(4):999-1009.
- [25] Santos JLM. Novas abordagens terapêuticas no combate ao envelhecimento cutâneo [tese]. Porto (PT): Universidade Fernando Pessoa; 2011. 71 p.
- [26] Alves R, Castro Esteves T, Trelles MA. Factores intrínsecos y extrínsecos implicados em el envejecimiento cutáneo. *Cir. plást. Iberolatinoam.* 2013;39(1):89-102.
- [27] Teixeira INDO, Guariento ME. Biología do envelhecimento: teorias, mecanismos e perspectivas. *Ciência & Saúde Coletiva.* 2010;15(6):2845-57.
- [28] Lozada SM, Rueda R. Envejecimiento cutáneo. *Rev Asoc Colomb Dermatol.* 2010;18:10-7.
- [29] Fries AT, Pereira DC. Teorias do envelhecimento humano. *Revista Contexto & Saúde.* 2011;10(20):507-14.
- [30] Ferolla AC, Tamura BM, Cucé LC. Rejuvenescimento com terapia fotodinâmica: melhora clínica e análise do colágeno e das fibras elásticas. *Surg Cosmet Dermatol.* 2010;2(2):87-92.
- [31] Mukherjee PK, Maity N, Nema NK, Sarkar BK. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine.* 2011;19:64-73.

- [32] Sparavigna A, Tenconi B, De Ponti I. Antiaging, photo-protective, and brightening activity in biorevitalization: a new solution for aging skin. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2015;8:57-65.
- [33] Sommeling CE, Heyneman A, Hoeksema J, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*. 2013;66(3):301-12.
- [34] Zhu JT, Xuan M, Zhang YN, Liu HW, Cai JH, Wu YH *et al*. The efficacy of autologous platelet-rich plasma combined with erbium fractional laser therapy for facial acne scars or acne. *Molecular Medicine Reports*. 2013;8:233-7.
- [35] Spezzia S. O Uso do plasma rico em plaquetas para regeneração óssea na osteoporose. *Revista Saúde e Pesquisa*. 2014;7(1):163-8.
- [36] Souza MV, Pinto JO, Costa MBM, Alves MS, Silva MO, Martinho KO *et al*. Expressão gênica do colágeno em ferida cutânea de equinos tratada com plasma rico em plaquetas. *Pesq Vet Bras*. 2014;34(3):233-40.
- [37] Guerreiro JPF, Danieli MV, Queiroz AO, Deffune E, Ferreira RR. Plasma rico em plaquetas (PRP) aplicado na artroplastia total do joelho. *Rev Bras Ortop*. 2015;50(2):186-94.
- [38] Fabi S, Sundaram H. The Potential of topical and injectable growth factors and cytokines for skin rejuvenation. *Facial Plastic Surgery*. 2014;30(2):157-71.
- [39] Flores JR, Gallego MAP, García-Denche JT. Plasma rico en plaquetas: fundamentos biológicos y aplicaciones en cirugía maxilofacial y estética facial. *Rev Esp de Cir Oral y Maxilofacial*. 2012;34(1):8-17.
- [40] Travi-Carneiro MC, Carneiro-Travi MI, Bock PM. Fatores de crescimento na cicatrização de úlceras diabéticas. *RBCS*. 2013;11(38):64-73.
- [41] Camargo FF. Efeito do plasma rico em plaquetas e da fibrina rica em plaquetas na cicatrização de feridas cutâneas em ratos [tese]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2013. 184 p.
- [42] Conde Montero E, Fernández Santos ME, Suárez Fernández R. Platelet-rich plasma: applications in dermatology. *Actas Dermosifiliogr*. 2015;106(2):104-11.
- [43] Na JI, Choi JW, Choi HR, Jeong JB, Park KC, Youn SW *et al*. Rapid healing and reduced erythema after ablative fractional carbon dioxide laser resurfacing combined with the application of autologous platelet-rich plasma. *Dermatol Surg*. 2011;37(4):463-8.
- [44] Montalván-Bustamante LE. Microlipoinjerto autólogo facial intramuscular: descripción de la técnica. *Dermatol Peru*. 2012;22(1):21-8.
- [45] Oh IY, Kim BJ, Kim MN. Depressed facial scars successfully treated with autologous platelet-rich plasma and light-emitting diode phototherapy at 830 nm. *Annals of Dermatology*. 2014;26(3):417-418
- [46] Carvalho PK. Análise bioquímica por espectroscopia Raman e histomorfométrica do tendão calcâneo de ratos submetidos à laserterapia e PRP [tese]. São José dos Campos (SP): Universidade Camilo Castelo Branco; 2014. 57 p.
- [47] Jiménez-Canizales CE, Montoya-Cañon M, Sepúlveda-Arias JC. Uso de plasma rico en plaquetas em la práctica clínica. *Rev. Méd. Risaralda*. 2014;20(2):138.