

Ocena porównawcza wartości własnego, skondycjonowanego osocza bogatoczynnikowego (ACP)

Comparison Analysis of Autologous Conditioned Plasma (ACP) Manufactured by a Proprietary Method

Radosław Lebiecki^(A,B,C,D,F,G), Andrzej Borowski^(B,D,E,F), Marek Synder^(A,B,D,F,E,G),
Andrzej Grzegorzewski^(A,B,D,F,E,G), Marek Marciniak^(A,B,D,E,F), Marcin Sibiński^(A,B,D,E,F)

Klinika Ortopedii i Ortopedii Dziecięcej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi, Polska
Department of Orthopaedics and Paediatric Orthopaedics, Medical University in Łódź, Poland

STRESZCZENIE

Wstęp. Skondycjonowane osocze bogatoczynnikowe (ACP) ma potencjalnie szerokie zastosowanie we współczesnej ortopedii. Celem pracy była ocena wartości własnego preparatu ACP i porównanie go do preparatu przygotowanego za pomocą komercyjnie dostępnych zestawów.

Materiał i metody. W laboratorium przyszpitalnym zbadano 20 próbek preparatu osocza pobranego od pacjentów, które otrzymano zgodnie z protokołem komercyjnie dostępnego dwustrzykawkowego zestawu do wytwarzania ACP oraz 40 preparatów ACP uzyskanych za pomocą dostępnego w szpitalu jednorazowego sterylnego sprzętu.

Wyniki. W preparacie skondycjonowanego osocza bogatoczynnikowego firmy Arthrex uzyskano średnio 2,02 (zakres od 1,16 do 2,64) razy więcej płytek krwi niż w krwi obwodowej, zaś w preparacie własnym średnio 1,61 (zakres od 0,82 do 2,52) razy więcej. Uwzględniając jednak czas pomiędzy pobraniem krwi i przygotowaniem preparatu stwierdzono, że średnie zagęszczenie płytek krwi w preparacie własnym (n=24), w którym czas ten wynosił 20 minut lub mniej, wynosiło 1,98 (zakres od 1,48 do 2,52) razy więcej płytek niż w krwi obwodowej i 1,41 (zakres od 0,84 do 1,87) razy, gdy czas wynosił więcej niż 20 minut (n=16). Otrzymany metodą dynamiczną „własny” preparat ACP jest więc porównywalny do preparatu komercyjnie dostępnego pod względem zagęszczenia płytek krwi (p>0,05).

Wniosek. Stosując dostępny jednorazowy sprzęt szpitalny, zachowując dynamikę postępowania, możliwe jest uzyskanie we własnych warunkach preparatu o pożądanym zagęszczeniu płytkowym porównywalnym do komercyjnie dostępnych zestawów.

Słowa kluczowe: czynniki wzrostu, płytki krwi, osocze bogatoczynnikowe

SUMMARY

Background. Autologous Conditioned Plasma (ACP) has a wide range of potential uses in modern orthopaedics. The aim of this study was to examine the characteristics of proprietary ACP and compare them with those of ACP produced using a commercially available kit.

Material and methods. In the hospital laboratory, 20 samples of ACP taken from patients and prepared according to the commercially available kit protocol with a double syringe system were compared with 40 ACP preparations made using disposable sterile equipment available in the hospital.

Results. The mean platelet concentration in the ACP samples prepared according to the Arthrex protocol was 2.02 (range 1.16 to 2.64) times greater than in peripheral blood, while the concentration in the proprietary preparation was 1.61 (range 0.82 to 2.52) times higher. However, the mean platelet density in the proprietary preparation (n = 24) was 1.98 (range 1.48 to 2.52) times that of peripheral blood within 20 minutes of collection, and 1.41 (range 0.84 - 1.87) times after 20 minutes (n = 16). Therefore, the proprietary method of producing ACP is comparable to that of the commercial kit with regard to platelet density (p>0.05).

Conclusion. Using disposable hospital equipment and with a relatively short time between ACP preparation and testing, it is possible to obtain a suitable proprietary platelet-rich preparation comparable to one produced using a commercial system.

Key words: growth factors, platelets, Autologous Conditioned Plasma

WSTĘP

W chwili obecnej do najpopularniejszych form preparatów pochodzących z osocza krwi możemy zaliczyć osocze bogatopłytkowe (platelet rich plasma – PRP) oraz skondycjonowane osocze bogatoczynnikowe (autologous conditioned plasma – ACP). Ogólnie, PRP jest to preparat powstały z autologicznej krwi pacjenta, w którym zawarta jest ponadnormatywna liczba płytek krwi. Natomiast ACP to powstałe w wyniku wirowania oddzielone osocze, w którym znajdują się, wydzielone podczas mechanicznej obróbki z płytek krwi, czynniki wzrostu wraz z mniejszą niż w PRP liczbą płytek krwi.

PRP ma potencjalnie szerokie zastosowanie we współczesnej ortopedii. Wykazano jego aktywność antybakteryjną, poprawia gojenie kości [1-4] czy stymuluje gojenie tkanek, np. zwiększa szanse na wygojenie niezakażonej rany cukrzycowej [5,6]. Podobne, coraz szersze zastosowanie ma obecnie preparat ACP [7,8]. W naszym ośrodku najczęściej preparaty te stosowane są w leczeniu tendino- i entezopatii takich jak: „łokieć tenisisty”, „łokieć golfisty”, tendinopatia ścięgna Achillesa, entezopatia rozciągnięta podszwawego czy tendinopatia więzadła rzepki. Zestawy służące do ich przygotowania dostępne są komercyjnie, jednak ich cena jest relatywnie wysoka. Dlatego też podjęliśmy próbę wytworzenia własnego, tańszego w przygotowaniu preparatu ACP i postanowiliśmy zbadać, czy jego skład pod względem liczby płytek krwi jest zbliżony do tego wytworzonego z zestawu firmy Arthrex.

Celem pracy była ocena wartości własnego preparatu ACP i porównanie go do preparatu przygotowanego za pomocą komercyjnie dostępnych zestawów.

MATERIAŁ I METODY

W laboratorium przyszpitalnym zbadano 20 próbek preparatu osocza pobranego od pacjentów, które otrzymano zgodnie z protokołem firmy Arthrex otrzymywania ACP za pomocą systemu dwustrzykawkowego [9]. Po odwirowaniu, z każdej próbki przekazano laboratorium około 0,5-1 ml osocza. Każda próbka została przebadana dwukrotnie. Oceniano liczbę płytek krwi w mililitrze preparatu, a wyniki zostały porównane z liczbą płytek krwi w rutynowym badaniu morfologii krwi.

Drugą grupę próbek stanowiły te uzyskane metodą własną. Uzyskano ACP za pomocą dostępnego w szpitalu jednorazowego sterylne go sprzętu. U 40 pacjentów przed zabiegiem operacyjnym w naszym ośrodku pobrano dodatkową próbkę 9 ml krwi obwodowej podczas rutynowego pobierania krwi, celem wykonania badań laboratoryjnych. Krew tę pobrano

BACKGROUND

Currently, two of the most popular products produced from blood plasma are platelet rich plasma (PRP) and autologous conditioned plasma (ACP). Generally speaking, PRP is a preparation derived from the autologous blood of the patient and it contains an elevated amount of blood platelets. In contrast, ACP is formed by centrifugation of the separated plasma and contains a lower number of blood platelets than would be obtained from PRP, as well as growth factors released during the mechanical treatment of the platelets.

PRP has a wide range of potential uses in modern orthopaedics. It has been shown to have antibacterial properties, to aid the healing of bones and stimulate the healing of tissue, for example in non-infected diabetic wounds [1-6]. ACP currently has similar, increasingly wider uses [7,8]. In our centre, these preparations are most commonly used in the treatment of tendinopathies and enthesopathies such as tennis elbow, golfer's elbow, tendinopathy of the Achilles tendon, enthesopathy of the plantar fascia ligament, or tendinopathy of the patella tendon. Although commercial kits are available to prepare ACP, their cost is relatively high. Therefore, we have tried to produce our own, less expensive ACP preparation and examine whether its composition, in terms of platelet count, is similar to that produced using an Arthrex kit.

The aim of this study was to evaluate the characteristics of ACP produced “in the house” and compare it with ACP produced using a commercially-available kit.

MATERIAL AND METHODS

Ten ACP preparations from the blood of 20 patients prepared according to an Arthrex protocol using a double syringe system were examined [9]. After centrifugation of each sample, approximately 0.5-1 ml of plasma was taken to the laboratory for testing. Each sample was tested twice. The platelet count per millilitre of preparation was determined, and the results were compared with the platelet count found by routine blood count testing.

A second group consisted of 40 samples produced using a proprietary method. ACP was obtained using disposable sterile equipment available in the hospital. An extra 9 ml of peripheral blood was sampled from each of 40 patients during a routine blood draw before surgery and submitted for laboratory examination. The blood was drawn into a 10 ml sterile disposable syringe which contained 1 ml of sodium citrate. The syringe

do 10 ml sterylnej strzykawki jednorazowej, w której uprzednio umieszczono 1 ml cytrynianu sodu. Strzykawkę zabezpieczono sterylnym korkiem, a następnie odwirowano w wirówce (1500 obrotów/minutę, czas 5 minut). Czas wirowania i liczba obrotów była identyczna jak w przypadku preparatu komercyjnie dostępnego. Następnie po odwirowaniu zdejmowano korek, a przez wąską część strzykawki wprowadzano igłę jednorazową 1,2 mm i pobierano odwirowaną frakcję osocza. Pobrany w ten sposób preparat przekazywano do przyszpitalnego laboratorium w celu oceny liczby płytek krwi, a otrzymany wynik porównano z wynikami uzyskanymi w podstawowej morfologii.

WYNIKI

Ocena preparatu firmy Artrex. W laboratorium przyszpitalnym zbadano 10 próbek pobranego od pacjentów osocza, które otrzymano zgodnie z protokołem firmy Arthrex otrzymywania ACP za pomocą systemu dwustrzykawkowego. W otrzymanych wynikach uzyskano w preparacie ACP liczbę płytek od 357 tys do 737 tys w jednym mililitrze preparatu (średnio 567 tys). W preparacie krwi obwodowej znajdowało się od 240 tys do 306 tys płytek, średnio 283 tys. Stwierdzono więc, że w ACP wytworzony z komercyjnie przygotowanego zestawu otrzymano od 1,16 do 2,64 (średnio 2,02) razy więcej płytek krwi niż w krwi obwodowej.

Ocena własnego preparatu. Po wykonaniu 20 preparatów własnego ACP otrzymano następujące wyniki. Liczba płytek w preparacie wynosiła od 206 tys do 566 tys w jednym mililitrze preparatu, średnio 342 tys. W preparacie krwi obwodowej znajdowało się od 152 tys do 281 tys płytek, średnio 212 tys. Porównując liczbę płytek krwi stwierdzono, że jest go 0,82 do 2,52 (średnio 1,61) razy więcej w ACP niż krwi obwodowej. Zastanawiającym była duża różnica w zagęszczeniu płytek w porównaniu do preparatu Artrex. Przypuszczalnie rozbieżność pomiędzy preparatami wynikała z faktu, że część próbek w grupie drugiej wirowana i badana była po kilku godzinach od pobrania. Preparat ACP firmy Arthrex badany był zaraz po pobraniu i odwirowaniu. Dlatego też przeprowadzono bardziej szczegółową analizę w zależności pomiędzy czasem wykonania preparatu a jego badaniem. Grupę próbek wytworzonych metodą własną podzielono na te, w których analiza wykonana została w czasie 20 minut lub krótszym od wytworzenia i te analizowane po 20 minutach.

W 16 preparatach, w których badanie wykonane było po 20 minutach, liczba płytek wynosiła od 206

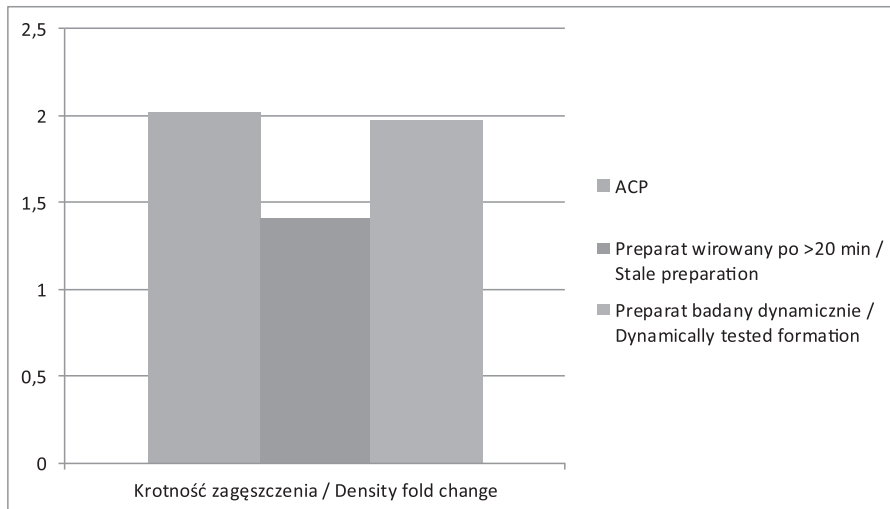
was closed with a sterile cork, and then centrifuged at 1500 rpm for 5 minutes. The centrifugation time and speed were identical to that used for the commercial preparation. After centrifugation, the cork was removed, a disposable 1.2 mm needle was passed through the thin part of the syringe, and the centrifuged fraction of the plasma was taken for analysis. The sample was transferred to the hospital laboratory where a platelet concentration assay was performed, and the result was compared with that obtained by routine peripheral blood count testing.

Statistica for Windows 10 Pl was used for statistical analysis. Levene's test was used to test normality of distribution. Student's T-test was used to compare the two groups. P values less than 0.05 were considered statistically significant.

RESULTS

Evaluation of the Artrex preparation. Twenty samples of ACP taken from patient plasma which had been prepared according to the Arthrex protocol using a double syringe system were tested in the hospital laboratory. These ACP samples were found to contain 357,000 to 737,000 platelets per ml preparation (mean 567,000). The respective peripheral blood samples were found to contain 240,000 to 306,000 platelets per ml (mean 283,000). Therefore, ACP prepared according to the commercial procedure contained between 1.16 and 2.64 (mean 2.02) times the number of platelets per ml of blood than peripheral blood.

Evaluation of the proprietary preparation. The following results were obtained from 40 samples of proprietary ACP. They were found to contain 206,000 to 566,000 platelets per ml of preparation (mean 342,000). The respective peripheral blood samples were found to contain 152,000 to 281,000 platelets per ml (mean 212,000). Based on these measurements, it can be seen that ACP contains 0.82 to 2.52 (mean 1.61) times as many platelets than peripheral blood. Surprisingly, a large difference was observed in platelet density between this proprietary preparation and the Artrex preparation ($p < 0.05$). One possible explanation for this observed difference could be that some of the samples in the second group were spun and tested a few hours after collection. The Arthrex ACP preparations, by contrast, were tested immediately after collection and centrifugation. Therefore, further tests were carried out to allow a deeper analysis of the influence of the length of time between collection and testing where the samples produced by the proprietary method were divided into those which were analysed within 20 minutes of collection ("dynamic testing") and those analysed later than 20 minutes after collection.



Ryc. 1. Krotność zagęszczenia płytek krwi w poszczególnych preparatach

Fig. 1. Fold change of platelet density compared to peripheral blood in the various preparations

tys do 419 tys w jednym mililitrze preparatu, średnio 318 tys. W preparacie krwi obwodowej znajdowało się od 157 tys do 281 tys płytek, średnio 224 tys. Obliczając krotność zagęszczenia otrzymano odpowiednio od 0,84 do 1,87 razy (średnio 1,41) więcej płytek niż w krwi obwodowej. W kolejnych 24 przypadkach zmieniono zasady przygotowania preparatu, czyli stosowano taki sam odstęp czasowy od pobrania do podania preparatu jak w grupie ACP (20 minut lub mniej). Liczba płytek wynosiła od 225 tys do 566 tys w jednym mililitrze preparatu, średnio 388 tys. W preparacie krwi obwodowej znajdowało się od 152 tys do 276 tys płytek, średnio 195 tys. Obliczając krotność zagęszczenia otrzymano odpowiednio od 1,48 do 2,52, średnio 1,98 razy więcej płytek krwi w porównaniu do krwi obwodowej. Otrzymany „własny” preparat ACP jest więc porównywalny do preparatu komercyjnie dostępnego pod względem zagęszczenia płytek krwi ($p > 0,05$) (Ryc. 1).

DYSKUSJA

W przeprowadzonych w klinice badaniach firmowego preparatu ACP pobranych od 20 losowo wybranych pacjentów uzyskano określone wartości koncentracji, a ACP własnej produkcji, pod warunkiem zachowania dynamicznego postępowania z preparatem, uzyskano zagęszczenia na poziomie średnim 1,98 razy, co odpowiada pożądanym wartościom koncentracji płytek. Yamaguchi i wsp. spróbowali określić optymalne wartości koncentracji płytek krwi w preparacie osocza bogatopłytkowego do leczenia ran w eksperymentalnym badaniu na szczurach [10]. Wyniki badania wykazały, że koncentracja na poziomie 2-4

In the 16 samples which were prepared later than 20 minutes from collection, the number of platelets ranged from 206,000 to 419,000 per ml, with a mean value of 318,000. The corresponding peripheral blood samples were found to contain 157,000 to 281,000 platelets per ml (mean 224,000). Hence, it can be seen that the ACP preparation contained 0.84 to 1.87 times (mean 1.41) more platelets than the peripheral blood. The remaining 24 samples were tested within the same interval after collection as the ACP group (20 minutes or less). In this group, the number of platelets ranged from 225,000 to 566,000 per ml of preparation (mean 388,000), while the corresponding peripheral blood contained 152,000 to 276,000 platelets (mean 195,000); thus, the fold change in platelet concentration ranged from 1.48 to 2.52 (mean 1.98) times more platelets in ACP compared to peripheral blood. Hence, our proprietary ACP is comparable to the commercial preparation with regard to blood platelet density ($p > 0.05$) (Figure 1).

DISCUSSION

In comparison with ACP prepared at our centre from the blood of 20 randomly-chosen patients using a commercial kit, proprietary ACP tested in a dynamic procedure was found to have 1.98 times greater mean platelet density than that of peripheral blood, which was in the desired concentration range. Yamaguchi et al. attempted to determine optimal platelet concentration in platelet rich plasma for healing wounds in experimental studies on rats [10]. The results indicated that concentrations around 2-4 times greater than blood counts were optimal for healing soft tissue, while concentrations 10 to 20 times

razy jest optymalna do gojenia tkanek miękkich, podczas gdy koncentracja od 10 do 20 razy to gojenie upośledza. Natomiast nie wykazano takiego działania dla osocza ubogopłytkowego. W pracy opracowanej przez Arthrex Research and Development porównano wpływ stężenia płytek krwi na proliferację tenocytów [11]. Zastosowano pięć grup badanych: 2% krowie osocze, 10% krowie osocze, skondycjonowane osocze bogatoczynnikowe, osocze bogatopłytkowe firmy Biomet GPS III oraz MTF Cascade system. Ludzkie tenocyty hodowane na specjalnym podłożu zostały poddane działaniu wszystkich tych preparatów, a po pięciu dniach oceniano ich proliferację. Wyniki zdecydowanie przemawiają na korzyść CRP i ACP, lecz nie ma pomiędzy nimi statystycznie istotnych różnic. Wynik ten może sugerować, że 2-krotne stężenie płytek krwi obecne w ACP działa równie dobrze na proliferację tenocytów jak siedmiokrotne stężenie płytek krwi w PRP, co sugeruje, że osiągnięte dwukrotne zagęszczenie wystarcza do skutecznego działania stymulującego. Należy zwrócić jednak uwagę na istotne dwie różnice – po pierwsze w obydwu preparatach istnieje różnica zagęszczeń dla poszczególnych frakcji czynników wzrostu. Po drugie – w preparacie ACP, pomimo większego stosunku koncentracji trombocytów do białych krwinek, to tych drugich jest zdecydowanie mniej niż w PRP. W ACP liczba białych krwinek to średnio 620/ml, w porównaniu do średnio 5560/ml w krwi obwodowej i 20560/ml w preparacie ACP (Arthrex Research and Development) [9]. Podwyższona liczba białych krwinek w osoczu bogatopłytkowym może odpowiadać za zahamowanie proliferacji osteoblastów i miocytów. McCarrel i wsp. w swoim eksperymentalnym badaniu na koniach określili, że istnieje pewna, niepotwierdzona przesłanka ku temu, że zwiększone stężenia białych krwinek w preparacie prowadzi do zwiększonych stężeń cytokin prozapalnych takich jak IL-1 i TNF alfa. To powoduje przedłużanie się aktywnego procesu zapalnego prowadząc do powstania słabej jakości blizny [12]. Sugeruje, że pomimo faktu, iż nie udało się jednoznacznie określić pożądanego poziomu białych krwinek w preparacie, ich mniejsze stężenia ograniczające odpowiedź zapalną mogą prowadzić do lepszej odpowiedzi naprawczej i tym samym do powstania lepszej jakości blizny, co potwierdzają prace opracowane przez laboratoria firmy Arthrex. Graziani i wsp. opublikowali eksperymentalną pracę, gdzie udało się określić pożądane poziomy koncentracji płytek krwi [13]. Poddali oni ludzkie fibroblasty i osteoblasty działaniu osocza bogatopłytkowego o różnym stężeniu płytek krwi, oceniając aktywność proliferacyjną w 24 i 72 godzinie. Uzyskali dane stwierdzające, że największa aktywność komór-

higher impaired healing. However, no such action has been demonstrated for platelet-poor plasma.

A study by Arthrex Research and Development compared the influence of platelet concentrations in blood on the proliferation of tenocytes. Five study groups were formed, receiving 2% bovine serum, 10% bovine serum, ACP, PRP by Biomet GPS III and the MTF Cascade system. Human tenocytes cultured on a special surface were exposed to all these preparations and their proliferation was measured after five days. The results clearly demonstrated the superiority of PRP and ACP; however, no significant differences were found between them [11]. These results may suggest that the concentration of platelets present in ACP, which is twice that found in blood, has an equally beneficial influence on tenocyte proliferation to that of the sevenfold greater platelet count in PRP, and that the double platelet density obtained is sufficient for effective stimulation.

At the same time, two important differences need to be noted. Firstly, in both samples, there were significant differences in density between individual growth factor fractions. Secondly, despite the greater number of platelets compared to WBC in the ACP preparation, the WBC count was still lower than that seen in PRP. In ACP, the mean WBC count was 620 per ml, compared to 5560 per ml in peripheral blood and 20560 per ml in ACP [9]. This elevated WBC count in PRP may be responsible for inhibiting the proliferation of osteoblasts and myocytes. In an experimental study of horses, McCarrel et al. indicated that, due to some unknown mechanism, a greater concentration of WBC in samples is related to an increased concentration of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 and TNF alpha. This causes prolongation of active inflammation, leading to the development of poor quality scars. They suggest that, despite the level of white blood cells present in the preparation not being clearly defined, their lower concentration restricts the inflammatory response, which may lead to a better repair response and the formation of better quality scars [12]. Graziani et al. attempted to determine the desired platelet count in PRP. They subjected human fibroblasts and osteoblasts to the action of PRP containing various platelet concentrations and determined the proliferation activity after 24 and 72 hours. The results indicated that the greatest cellular activity was found at 72 hours after addition, and the optimal concentration of platelets in blood was 2.5 times that of peripheral blood [13]. Greater concentrations may lead to lower proliferative activity by cells, particularly regarding osteoblasts; however, the reduction in activity should not be construed as inhibition.

kowa jest w 72 godzinie od ich poddania, a optymalne stężenie płytek krwi wynosi 2,5x. Większe stężenia mogą prowadzić do zmniejszenia aktywności proliferacyjnych komórek w szczególności dotyczy to osteoblastów przy czym przez zmniejszenia aktywności nie należy rozumieć jej zahamowania.

Brak dostatecznej liczby prac na ten temat pozwala tylko przypuszczać, że dwukrotna koncentracja płytek krwi, zwiększone stężenie czynników wzrostu wraz z mniejszymi liczbami białych krwinek odpowiadają za zwiększoną proliferację tenocytów, a tym samym za wynik kliniczny leczenia tendinopatii w tym tendinopatii nadkłykcia bocznego kości ramiennej.

WNIOSEK

Stosując dostępny jednorazowy sprzęt szpitalny, zachowując dynamikę postępowania, możliwe jest uzyskanie we własnych warunkach preparatu o pożądanym zagęszczeniu płytkowym porównywalnym do komercyjnie dostępnych zestawów.

With the paucity of available articles on this subject, it can only be assumed that the twofold higher concentration of platelets, increased concentration of growth factors and reduced WBC count in the blood preparation are responsible for the increased proliferation of tenocytes and the clinical outcomes of treating tendinopathies such as that involving the lateral humeral epicondyle.

CONCLUSION

Using disposable hospital equipment and with a relatively short time between ACP preparation and testing, it is possible to obtain a suitable proprietary platelet-rich preparation comparable to one produced using a commercial system.

PIŚMIENNICTWO / REFERENCES

1. Bielecki T, Gaździk TSz, Cieślak-Bielecka A, Cieślak T. Zastosowanie żelu bogatopłytkowego jako biomateriału stymulującego procesy regeneracji i reparacji tkanek. *Inż Biomat* 2004; 34: 22-6.
2. Schilephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 5: 469-84.
3. Bielecki T, Gaździk TS, Szczepanski T. Benefit of percutaneous injection of autologous platelet-leukocyte-rich gel in patients with delayed union and nonunion. *Eur Surg Res* 2008; 3: 289-96.
4. Lowery GL, Kulkarni S, Pennisi AE. Use of autologous growth factors in lumbar spinal fusion. *Bone* 1999; 25: 47-50.
5. Tiaka EK, Papanas N, Manolakis AC, Georgiadis GS. Epidermal growth factor in the treatment of diabetic foot ulcers: an update. *Perspect Vasc Surg Endovasc Ther* 2012; 24: 37-44.
6. Driver VR, Hanft J, Fylling CP, Beriou JM. Autogel Diabetic Foot Ulcer Study Group. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy Wound Manage* 2006; 52: 68-70.
7. Smith PA. Intra-articular Autologous Conditioned Plasma Injections Provide Safe and Efficacious Treatment for Knee Osteoarthritis: An FDA-Sanctioned, Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Clinical Trial. *Am J Sports Med* 2016; 44: 884-91.
8. Montalvan B, Le Goux P, Klouche S, Borgel D, Hardy P, Breban M. Inefficacy of ultrasound-guided local injections of autologous conditioned plasma for recent epicondylitis: results of a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial with one-year follow-up. *Rheumatology (Oxford)* 2016; 55: 279-85.
9. In Vitro Comparison of Autologous Conditioned Plasma (ACP) to Competitive Platelet-Rich Plasma (PRP) Products Arthrex Research and Development.
10. Yamaguchi R, Terashima H, Yoneyama S, Tadano S, Ohkohchi N. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. *J Surg Res* 2012; 173: 258-66.
11. Autologous Conditioned Plasma Double Syringe System Arthrex Research and Development
12. McCarrel TM, Minas T, Fortier LA. Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy. *J Bone Joint Surg Am* 2012; 94: 143 (1-8).
13. Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res* 2006; 17: 212-9.

Liczba słów/Word count: 3792

Tabele/Tables: 0

Ryciny/Figures: 1

Piśmiennictwo/References: 13

Adres do korespondencji / Address for correspondence

Marcin Sibiński, Centrum Kliniczno-Dydaktyczne, Uniwersytecki Szpital Kliniczny im. WAM
Klinika Ortopedii i Ortopedii Dziecięcej UM w Łodzi, ul. Pomorska 251 Łódź, 92-213
Tel/fax: 42 201 42 50, e-mail: sibinek@poczta.onet.pl

Otrzymano / Received 14.03.2016 r.
Zaakceptowano / Accepted 28.09.2016 r.
