

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA

MARISA SANTINI DE OLIVEIRA SIMÕES

Efeitos da injeção intra-articular de plasma rico em plaquetas versus ácido hialurônico no processo inflamatório e características histopatológicas da cartilagem e sinóvia em animais com osteoartrite: uma revisão sistemática.

SÃO CARLOS - SP
2023

MARISA SANTINI DE OLIVEIRA SIMÕES

Efeitos da injeção intra-articular de plasma rico em plaquetas versus ácido hialurônico no processo inflamatório e características histopatológicas da cartilagem e sinóvia em animais com osteoartrite: uma revisão sistemática.

Trabalho de Conclusão do Curso
apresentado como requisito para
obtenção de grau de Bacharel em
Biotecnologia pela Universidade
Federal de São Carlos.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Karina
Nogueira Zambone Pinto Rossi

Coorientador: Prof. Dr. Cristiano
Carvalho

SÃO CARLOS - SP
2023

RESUMO

A osteoartrite (OA) é uma doença que se caracteriza pelo desgaste da cartilagem articular e alterações das estruturas ósseas, causando dores e comprometendo a qualidade de vida dos pacientes. Uma das possibilidades de tratamentos são as injeções intra-articulares de plasma rico em plaquetas (RPR) e ácido hialurônico (HA). O objetivo da presente revisão sistemática foi avaliar a eficácia da injeção PRP em comparação com a injeção de HA em modelos animais, focando no processo inflamatório e nas características histopatológicas da cartilagem e sinóvia, para o tratamento da osteoartrite. Uma busca eletrônica foi realizada nas bases de dados Medline/PubMed, Embase e Web of Science. Foram aceitos artigos publicados até janeiro de 2023, e que analisaram os efeitos do tratamento de injeção de PRP em comparação ao HA em modelos animais com OA e avaliaram o processo inflamatório e características histopatológicas da cartilagem e sinóvia. A revisão sistemática foi conduzida seguindo as diretrizes do PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) e recomendações da Colaboração Cochrane. A ferramenta SYSCLEs' RoB foi usada para avaliar o risco de viés. Foram encontrados 737 artigos, porém apenas quatro artigos preenchiam todos os critérios de inclusão. Três estudos não observaram diferença entre o tratamento com PRP em comparação com HA ao analisarem a histologia da cartilagem e da sinóvia, os níveis de interleucina 1, interleucina 6, fator de necrose tumoral alfa e metaloproteinase-1 de matriz, e um estudo verificou que o tratamento com PRP teve resultados superiores quando comparado ao tratamento com HA em relação a histologia da cartilagem e o nível de interleucina 1 β . Mais estudos sobre esse tema são necessários para uma melhor comparação, pois poucos estudos comparando o tratamento de injeções intra-articulares de PRP com injeções intra-articulares HA em modelos animais com OA foram encontrados.

Palavras-chave: Osteoartrite, plasma rico em plaquetas, ácido hialurônico.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma da seleção de artigos, de acordo com as diretrizes do PRISMA.....	14
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Síntese das características descritivas dos estudos incluídos	17
Tabela 2. Resumo do modo de preparo de plasma rico em plaquetas.....	18
Tabela 3. Critérios da Ferramenta SYRCLE para avaliação do risco de viés.	20

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 OBJETIVO.....	10
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	11
3.1 PROTOCOLO E REGISTRO	11
3.2 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	11
3.2.1 Tipos de estudos.....	11
3.2.2 Tipos de participantes.....	11
3.2.3 Tipos de comparadores	11
3.2.4 Tipos de intervenções.....	11
3.2.5 Medidas de desfecho	12
3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO	12
3.4 COLETA E ANÁLISE DE DADOS	12
3.4.1 Bases de dados e estratégias de busca	12
3.4.2 Seleção de estudos.....	12
3.4.3 Extração de dados	13
3.4.4 Avaliação do risco de viés.....	13
4 RESULTADOS	14
4.1 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS.....	14
4.2 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS	19
5 DISCUSSÃO.....	21
6 CONCLUSÃO.....	25
REFERÊNCIAS	26

1 INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA), é uma doença caracterizada pelo desgaste da cartilagem articular que também afeta a sinóvia, os ligamentos articulares e osso subcondral (ABRAMOFF *et al.*, 2020), comprometendo principalmente as articulações das mãos, joelhos, quadris e pés (KATZ *et al.*, 2021). A OA causa dor e restrição de movimento, e conseqüentemente interfere na qualidade de vida, saúde mental, e nas atividades de vida diárias dos pacientes (ABRAMOFF *et al.*, 2020). Estima-se que 250 milhões de pessoas no mundo inteiro tenham OA (CHEN *et al.*, 2021), e sendo uma doença que tem como um dos fatores de risco o envelhecimento (MARTEL-PELLETIER *et al.*, 2016), o aumento da expectativa de vida da população pode elevar a prevalência da OA (SACITHARAN *et al.*, 2019), tornando-se um grande desafio de saúde pública (LATOURTE *et al.*, 2020), além dos gastos já gerados pelo tratamento e a aposentadoria prematura dos pacientes (MATAS *et al.*, 2018).

Atualmente existem três tipos de tratamentos: farmacológico, não farmacológico e cirúrgico (TANG *et al.*, 2020). O tratamento não farmacológico inclui redução da massa corporal através de dieta e exercício físico, e fisioterapia (SACITHARAN *et al.*, 2019), porém a mudança para um estilo de vida mais saudável geralmente tem uma baixa adesão dos pacientes (TANG *et al.*, 2020). O tratamento farmacológico é feito com analgésicos, anti-inflamatórios e injeções intra-articulares (SACITHARAN *et al.*, 2019; ZHAO *et al.*, 2020). Essas duas abordagens tem a finalidade de diminuir a dor e melhorar a função física (ABRAMOFF *et al.*, 2020). Em casos mais graves, quando o paciente não responde às outras duas abordagens, é realizada a cirurgia de substituição da articulação, melhorando a dor e a funcionalidade (ABRAMOFF *et al.*, 2020; SACITHARAN *et al.*, 2019).

As pesquisas sobre as injeções intra-articulares de plasma rico em plaquetas (PRP) e ácido hialurônico (HA) tem, recentemente, ganhado destaque como uma alternativa de tratamento não cirúrgico para a OA (ZHAO *et al.*, 2020; BELK *et al.*, 2020). O PRP é obtido através da centrifugação do sangue total autólogo, que pode ser feito de diferentes formas, e contém uma alta concentração de plaquetas (KENNEDY *et al.*, 2018; EVERTS *et al.*, 2020). Diferentes fatores de crescimento (GF), como fator de crescimento transformador- β (TGF- β) e fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF),

e outras proteínas bioativas estão presentes no PRP, e podem auxiliar na regulação dos processos inflamatórios, cicatrização do tecido e proliferação de condrócitos (LEE *et al.*, 2019; GONG *et al.*, 2021; CHEN *et al.*, 2020).

O ácido hialurônico é um glicosaminoglicano que está presente nas articulações e contribui para que o líquido sinovial tenha propriedades viscoelásticas (RAEISSADAT *et al.*, 2021). O líquido sinovial também é afetado pela OA, sofrendo degradação em decorrência da redução do peso molecular e concentração do HA (ALTMAN *et al.*, 2018). Acredita-se que a injeção intra-articular de HA estimula a produção endógena de HA, auxilia na regulação de processos inflamatórios, tem efeito condroprotetor e ajuda a diminuir a dor (MAHEU *et al.*, 2019; XING *et al.*, 2016).

O tratamento com injeção intra-articular pode apresentar algumas vantagens como maior biodisponibilidade local e redução do efeito colateral, porém a eficácia ainda não é confirmada (IM *et al.*, 2019; JONES *et al.*, 2018), e não há consenso sobre qual tratamento (HA ou PRP) é mais vantajoso (GONG *et al.*, 2021). Ishaq *et al.* (2022) avaliaram alterações histopatológicas em modelos animais com OA comparando o tratamento do grupo controle com o grupo que recebeu injeção intra-articular de HA, e observou que o HA tem melhores efeitos condroprotetores em comparação ao grupo controle. Estudos *in vitro* e em humanos relatam os efeitos anti-inflamatórios do HA no tratamento da OA, com a redução da expressão de citocinas pró inflamatórias como o fator de necrose tumoral (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e interleucina 1 β (IL-1 β) (ALTMAN *et al.*, 2015). Em relação ao uso do PRP no tratamento da OA em animais, um estudo prévio elaborado pelo grupo de pesquisa, mas ainda não publicado, verificou que o grupo tratado com PRP apresentou menos lesões na cartilagem, mostrando que PRP melhora a histologia da cartilagem em comparação ao grupo controle, no que diz respeito a histologia da sinóvia, o grupo tratado com PRP apresentou menor sinovite, indicando que o tratamento foi superior ao grupo controle, e ao analisar o processo inflamatório os níveis de TNF- α e interleucina 1 (IL-1), estavam menores no grupo tratado com PRP em comparação ao grupo controle. Até o momento não existe revisão sistemática comparando os efeitos do tratamento do PRP com HA, e observando que ambos tratamentos apresentam melhora em relação ao controle, se faz necessário um estudo para analisar se há diferença entre os dois tratamentos. Portanto, a

presente revisão sistemática se faz necessário com o intuito de sintetizar a literatura sobre a comparação da eficácia da injeção de plasma rico em plaquetas com a injeção de ácido hialurônico no tratamento da OA, focando no processo inflamatório e nas características histopatológicas da cartilagem e sinóvia.

2 OBJETIVO

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos da injeção de PRP em comparação com a injeção de HA, com foco no processo inflamatório e nas características histopatológicas da cartilagem e sinóvia, para o tratamento da OA em experimentos animais.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PROTOCOLO E REGISTRO

Esta revisão foi conduzida seguindo as diretrizes do PRISMA (*Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses*) (PAGE *et al.*, 2020) e recomendações da Colaboração Cochrane (HIGGINS *et al.*, 2020).

3.2 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

3.2.1 Tipos de estudos

Foram considerados elegíveis os ensaios pré-clínicos que avaliaram o processo inflamatório e as características histopatológicas após injeção intra-articular de PRP e injeção intra-articular de HA em animais com OA. Foram considerados apenas artigos publicados em inglês, português e espanhol, independente do ano de publicação.

3.2.2 Tipos de participantes

Foram considerados elegíveis estudos com qualquer modelo animal que desenvolveu OA fisiológica ou geneticamente, como também por interferência cirúrgica ou farmacológica, independentemente do local de ocorrência.

3.2.3 Tipos de comparadores

Foram considerados elegíveis estudos com grupos de comparação que foram tratados com injeção intra-articular de PRP e injeção intra-articular de HA.

3.2.4 Tipos de intervenções

Foram considerados elegíveis estudos que usaram injeção intra-articular de PRP e injeção intra-articular de HA como intervenção terapêutica. Não houve restrição para dosagem, concentração ou método de produção de PRP e HA.

3.2.5 Medidas de desfecho

Foram incluídos estudos primários relatando resultados relacionados a mudanças (melhora, piora ou nenhuma mudança) no processo inflamatório (marcadores inflamatórios) e/ou na histopatologia (taxa de proliferação de condrócitos e sinoviócitos, síntese de GAG, espessura da cartilagem e/ou da sinóvia).

3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Ensaio clínico e estudos de caso. Animais com múltiplas doenças, experimentos *in vitro* ou *ex-vivo*.

3.4 COLETA E ANÁLISE DE DADOS

3.4.1 Bases de dados e estratégias de busca

Uma busca eletrônica foi realizada nas bases de dados Medline/PubMed, Embase e Web of Science para artigos relevantes publicados até janeiro de 2023. Os termos de busca foram selecionados considerando o vocabulário controlado da base de dados *Medical Subject Headings* (MeSH) e vocabulário não controlado. A estratégia de busca utilizada considerou termos relacionados ao tema de interesse. Deste modo, a seguinte combinação de busca foi empregada ("*Platelet-Rich Plasma*" OR "*Platelet Gel*" OR "*Autologous Platelet Concentrate*" OR "*Autologous Conditioned Plasma*" OR ACP) AND ("*Hyaluronic Acid*") AND (*Osteoarthritis*) AND (*Animals* OR "*Models, Animal*" OR "*Animal Experimentation*") AND (*Inflammation* OR "*Intercellular Signaling Peptides and Proteins*" OR *Cartilage* OR "*Synovial Membrane*"). A literatura cinza não foi considerada (HIGGINS *et al.*, 2020). Uma busca manual foi realizada pela triagem das listas de referência dos estudos primários incluídos para identificar estudos potencialmente relevantes não recuperados durante a busca eletrônica.

3.4.2 Seleção de estudos

Dois revisores independentes (M.S.O.S. e H.G.M.) selecionaram os títulos e resumos das publicações encontradas durante a busca eletrônica com base nos critérios de inclusão. Estudos potencialmente relevantes foram pré-

selecionados para análise de texto completo. Todo o processo de seleção foi conduzido por consenso. Quando um consenso não foi alcançado, um terceiro revisor (C.C.) foi consultado para a decisão final. O *software* de gerenciamento de referência Rayyan (<http://rayyan.qcri.org>) foi utilizado durante a seleção dos estudos (OUZZANI *et al.*, 2016).

3.4.3 Extração de dados

Após o consenso e seleção dos estudos, os revisores trabalharam independentemente. Um formulário padronizado adaptado do modelo proposto pela Colaboração Cochrane foi usado para extrair dados sobre o desenho do estudo, características dos animais, grupos de intervenção e controle e desfechos (HIGGINS *et al.*, 2020).

3.4.4 Avaliação do risco de viés

O risco de viés foi avaliado usando a ferramenta SYSCLEs' RoB para estudos em animais (HOOIJMANS *et al.*, 2014), a fim de analisar o risco de seleção, desempenho, detecção, atrito e outros vieses. A análise dos itens foram respondidos por dois revisores (G.M.C. e H.G.M.) de forma independente e as discordâncias, resolvidas por um terceiro revisor (C.C.).

4 RESULTADOS

A pesquisa nos bancos de dados resultou em 737 artigos. Inicialmente 58 artigos duplicados foram excluídos, e em seguida os títulos dos 679 artigos foram analisados e 627 artigos foram excluídos. Após a leitura dos resumos, seis artigos foram selecionados para a leitura completa e quatro estudos (LIU *et al.*, 2014; HENG-DONGH *et al.*, 2015; CHIOU *et al.*, 2018; DUAN *et al.*, 2017) atenderam todos os critérios de inclusão. Mais detalhes sobre o processo de seleção dos artigos estão na figura 1.

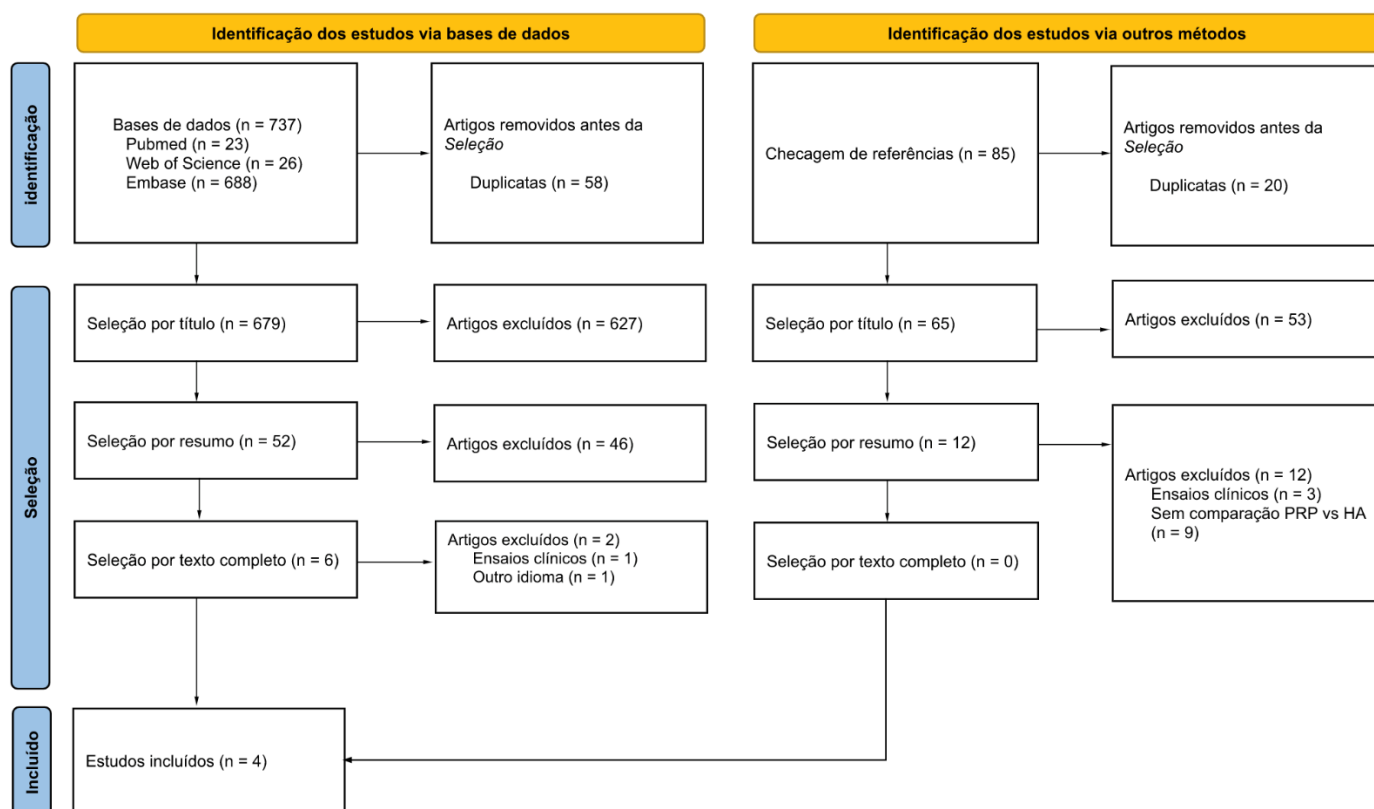


Figura 1 - Fluxograma da seleção de artigos, de acordo com as diretrizes do PRISMA.

4.1 CARACTERÍSTICAS DOS ESTUDOS

Todos os artigos selecionados utilizaram modelos animais, sendo que dois artigos escolheram camundongos (CHIOU *et al.*, 2018; DUAN *et al.*, 2017). Chiou *et al.* (2018) utilizaram 30 camundongos C57BL/6J e Duan *et al.* (2017) usaram 42 camundongos C57BL/6J. Os outros dois artigos escolheram coelhos (LIU *et al.*, 2014; HENG-DONGH *et al.*, 2015). Liu *et al.* (2014) utilizaram 30

coelhos e Heng-dong *et al.* (2015) usaram 40 coelhos da *New Zealand*. A tabela 1 apresenta todas as características dos quatro artigos.

A indução da OA foi feita por transecção do ligamento cruzado anterior (CHIOU *et al.*, 2018), transecção do ligamento cruzado anterior e posterior (HENG-DONGH *et al.*, 2015), incisão cutânea lateral parapatelar (LIU *et al.*, 2014), e carga tibial axial não invasiva (DUAN *et al.*, 2017). Todos usaram a articulação do joelho como modelo de estudo (CHIOU *et al.*, 2018; DUAN *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2014; HENG-DONGH *et al.*, 2015).

O protocolo de tratamento de Liu *et al.* (2014) resultou em três aplicações (uma por semana) de 0.3 ml de PRP e HA. Heng-dong *et al.* (2015) fizeram cinco aplicações, sendo uma por semana, de 0.5 ml de PRP e 0.2 ml de HA de sódio. Duan *et al.* (2017) realizaram três aplicações de 15 μ L de PRP e HYADD-4G. Chiou *et al.* (2018) não descreveram o protocolo de tratamento.

A preparação do plasma rico em plaquetas não possui uma padronização, e as informações referentes ao preparo do PRP podem ser visualizadas na tabela 2. Dois artigos não especificaram o protocolo utilizado (HENG-DONG *et al.*, 2015; CHIOU *et al.*, 2018), um estudo usou o método de dupla centrifugação (DUAN *et al.*, 2017), e o outro estudo utilizou o protocolo de Landesburg (LIU *et al.*, 2014). Duan *et al.* (2017) e Liu *et al.* (2014) realizaram duas centrifugações. A velocidade usada na primeira centrifugação foi 200g nos dois estudos (DUAN *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2014), e o tempo variou de dez minutos (LIU *et al.*, 2014) até 20 minutos (DUAN *et al.*, 2017). Na segunda centrifugação a velocidade variou de 200g (LIU *et al.*, 2014) até 2.000g (DUAN *et al.*, 2017), e o tempo de centrifugação foi de dez minutos (DUAN *et al.*, 2017; LIU *et al.*, 2014). Chiou *et al.* (2018) e Heng-dong *et al.* (2015) descreveram apenas uma centrifugação, com a velocidade de 3.000 rpm (CHIOU *et al.*, 2018) e 2.000 r/min (HENG-DONG *et al.*, 2015) e o tempo variou de seis minutos (CHIOU *et al.*, 2018) até 15 minutos (HENG-DONG *et al.*, 2015). Em relação a suplementação, foram usados como anticoagulantes 1 ml de citrato de sódio (LIU *et al.*, 2014) e heparina (DUAN *et al.*, 2017). Chiou *et al.* (2018) e Heng-dong *et al.* (2015) não descreveram o uso de anticoagulante. O cloreto de cálcio foi utilizado como ativador em dois estudos (LIU *et al.*, 2014; HENG-DONG *et al.*, 2015), sendo que Liu *et al.* (2014) não especificaram a quantidade utilizada e Heng-dong *et al.* (2015) usaram 0.02 ml.

Duan *et al.* (2017) e Chiou *et al.* (2018) não forneceram informações sobre o uso de ativadores. Liu *et al.* (2014) fizeram a contagem de plaquetas, e o número médio de plaquetas no PRP foi de $174,33 \pm 35,89 \times 10^4 / \mu\text{L}$ enquanto no sangue total periférico foi de $25,56 \pm 10,54 \times 10^4 / \mu\text{L}$, ou seja, a concentração de plaquetas no PRP foi 6,8 vezes maior. Os outros artigos (DUAN *et al.*, 2017; HENG-DONG *et al.*, 2015; CHIOU *et al.*, 2018) não deram nenhuma informação sobre contagem de células.

Os desfechos foram divididos em processo inflamatório e análise histopatológica. Dois estudos (LIU *et al.*, 2014; HENG-DONGH *et al.*, 2015) analisaram o processo inflamatório e realizaram o ensaio de imun absorção enzimática (ELISA) para avaliar os níveis de marcadores inflamatórios. Liu *et al.* (2014) observaram que o nível de interleucina 1β no fluido articular foi menor nos modelos animais tratados com PRP em comparação ao HA. Heng-dong *et al.* (2015) observaram que os níveis de interleucina 1, interleucina 6 e fator de necrose tumoral alfa não tiveram diferença significativa entre os tratamentos de PRP e HA. A análise histopatológica foi realizada em três estudos (LIU *et al.*, 2014; DUAN *et al.*, 2017; CHIOU *et al.*, 2018). Liu *et al.* (2014) e Duan *et al.* (2017) analisaram a histologia da cartilagem, enquanto um estudo utilizou a ferramenta *Mankin Score* e encontrou que o grupo tratado com PRP foi superior ao HA (LIU *et al.*, 2014), o outro estudo não encontrou diferença entre os grupos e usou a ferramenta *Osteoarthritis Research Society International* para a avaliação (DUAN *et al.*, 2017). A histologia da sinóvia foi avaliada pelo método *Synovitis Score* e não foi observado diferença entre os tratamentos de PRP e HA (DUAN *et al.*, 2017). Chiou *et al.* (2018) analisaram a metaloproteinase-1 de matriz usando imunocoloração e avaliaram que não houve diferença entre os tratamentos.

Estudo	População		Grupos de comparação	Intervenção			Desfechos (1) processo inflamatório e (2) análise histopatológica			
	Autores (ano)	Modelo Animal (raça, sexo, peso, idade)		Indução OA	(número)	Dose de PRP	Dose de HA	Protocolo de tratamento	Variável	Ferramenta de análise
Liu <i>et al.</i> (2014)	Coelho (não descrito, não descrito, não descrito, 6–8 meses de idade)	Incisão cutânea lateral parapatelar	Grupo Controle (10) Grupo P-PRP (10) Grupo HA (10)	0.3 ml de P-PRP	0.3 ml de HA	3 aplicações 1x/semana	1	Marcador inflamatório (nível de IL-1 β no fluido articular)	ELISA	+
							2	Histologia da cartilagem	Mankin Score	+
Heng-dong <i>et al.</i> (2015)	Coelho (New Zealand, macho e fêmea, 2.25 \pm 0.50 kg, 5–8 meses de idade)	Transecção do ligamento cruzado anterior e posterior	Grupo Modelo (8) Grupo Controle (8) Grupo PRP (8) Grupo HA (8) Grupo HA + PRP (8)	0.5 ml de PRP	0.2 ml de HA de sódio	5 aplicações 1x/semana	1	Marcador inflamatório (nível IL-1) Marcador inflamatório (nível IL-6) Marcador inflamatório (nível TNF- α)	ELISA ELISA ELISA	= = =
Duan <i>et al.</i> (2017)	Camundongo (C57BL/6J, não descrito, não descrito, 10 semanas de idade)	Carga tibial axial não invasiva	Grupo Controle (8) Grupo PRP (8) Grupo HA 8 mg/mL (10) Grupo HA 15 mg/mL (8) Grupo PRP + HA (8)	15 μ L de PRP	15 μ L de HYADD-4G	3 aplicações	2	Histologia da cartilagem Histologia da sinóvia	OARSI Score Synovitis Score	= =
Chiou <i>et al.</i> (2018)	Camundongo (C57BL/6J, fêmea, não descrito, 8 semanas de idade)	Transecção do ligamento cruzado anterior	Grupo Sham (6) Grupo Controle (6) Grupo PRP (6) Grupo HA (6) Grupo HA+PRP (6)	Não descrito	Não descrito	Não descrito	2	Marcador molecular (MMP-1)	Imunocoloração	=

Abreviaturas: (ELISA) Ensaio de Imunoabsorção Enzimática; (HA) Ácido hialurônico; (IL-1) Interleucina 1; (IL-1 β) Interleucina 1 β ; (IL-6) Interleucina 6; (MMP-1) metaloproteinase-1 de matriz; (OA) Osteoartrite; (OARSI) *Osteoarthritis Research Society International*; (PBS) solução salina tamponada com fosfato; (PRP) Plasma rico em plaquetas; (TNF- α) Fator de necrose tumoral alfa.

Tabela 1 - Síntese das características descritivas dos estudos incluídos

Preparação do Plasma rico em plaquetas								
Estudo	Protocolo de preparação	1 st Centrifugação		2 nd Centrifugação		Contagem de células	Suplementação	
Autores		Tempo	Velocidade de centrifugação	Tempo	Velocidade de centrifugação	Plaquetas	Anticoagulante	Ativação
Liu <i>et al.</i>	Protocolo de Landesburg	10 minutos	200 g	10 minutos	200 g	174,33±35,89×10 ⁴ /μL	1 ml de citrato de sódio	Cloreto de cálcio
Heng-dong <i>et al.</i>	Não descrito	15 minutos	2.000 r/min	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	0.02 ml de cloreto de cálcio
Duan <i>et al.</i>	Método de dupla centrifugação	20 minutos	200 g	10 minutos	2.000 g	Não descrito	Heparina	Não descrito
Chiou <i>et al.</i>	Não descrito	6 minutos	3.000 rpm	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito	Não descrito

Tabela 2 - Resumo do modo de preparo de plasma rico em plaquetas

4.2 AVALIAÇÃO DO RISCO DE VIÉS

A avaliação do risco de viés foi feita usando os critérios da ferramenta SYRCLE. Na tabela 3 é possível observar a avaliação de cada estudo.

Os critérios 1, 5 e 6 de avaliação não foram citados em nenhum artigo, sendo assim, a forma de como foi gerada a sequência de alocação dos animais, se os animais foram selecionados aleatoriamente para a avaliação dos resultados, e se os cuidadores não sabiam qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento, apresentam risco de viés incerto. Em relação ao risco de viés baixo, apenas o item 9, referente aos relatórios de estudos estarem livres de relatórios de resultados seletivos, teve todas as respostas sim.

Autor	Ano	Seleção			Desempenho		Detecção		Atrito	Reportagem	Outro	Resultado
		1	2	3	4	5	6	7				
Liu et al.	2014	INCERTO	SIM	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	NÃO	SIM	SIM	5/10
Heng-dong et al.	2015	INCERTO	SIM	SIM	SIM	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	INCERTO	5/10
Duan et al.	2017	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	SIM	SIM	5/10
Chiou et al.	2018	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	INCERTO	SIM	SIM	2/10

Observação: as respostas SIM indicaram baixo risco de viés, NÃO indicaram alto risco de viés e INCERTO indicaram que não era possível atribuir o grau de viés. Critérios usados para análise de risco de viés de publicação: (1) A sequência de alocação foi adequadamente gerada e aplicada? (2) Os grupos eram semelhantes para características basais ou foram ajustados para fatores de confusão na análise? (3) A alocação foi adequadamente ocultada? (4) Os animais foram alojados aleatoriamente durante o experimento? (5) Os cuidadores e/ou investigadores não sabiam qual intervenção cada animal recebeu durante o experimento? (6) Os animais foram selecionados aleatoriamente para avaliação do resultado? (7) O avaliador dos desfechos foi cegado? (8) Os dados de resultados incompletos foram tratados adequadamente? (9) Os relatórios do estudo estão livres de relatórios de resultados seletivos? (10) O estudo estava aparentemente livre de outros problemas que poderiam resultar em alto risco de viés?

Tabela 3 - Critérios da Ferramenta SYRCLE para avaliação do risco de viés.

5 DISCUSSÃO

O presente trabalho de revisão sistemática teve como objetivo investigar o efeito da injeção de plasma rico em plaquetas em comparação ao ácido hialurônico no processo inflamatório e nas características histopatológicas da cartilagem e da sinóvia em modelo animal com OA. Dos quatro estudos incluídos, três (HENG-DONG *et al.*, 2015; DUAN *et al.*, 2017; CHIOU *et al.*, 2018) não encontraram diferenças entre os tratamentos ao analisarem a histologia da cartilagem e da sinóvia, os níveis de interleucina 1, interleucina 6, fator de necrose tumoral alfa e metaloproteinase-1 de matriz, e um estudo (LIU *et al.*, 2014) apresentou que o tratamento com PRP teve resultados superiores quando comparado ao tratamento com HA em relação a histologia da cartilagem e o nível de interleucina 1 β .

Para observar qual tratamento seria mais eficaz em relação ao processo inflamatório, Liu *et al.* (2014) analisaram o nível de interleucina 1 β no fluido articular, enquanto Heng-Dong *et al.* (2015) analisaram os níveis de interleucina 6, interleucina 1 e fator de necrose tumoral alfa. Os dois estudos fizeram a detecção da concentração dos fatores inflamatórios por ELISA. Os resultados encontrados por cada estudo foram divergentes. Liu *et al.* (2014) demonstraram que o grupo que recebeu injeção intra-articular de PRP apresentou uma menor concentração de IL-1 no fluido articular em comparação ao HA, enquanto Heng-Dong *et al.* (2015) não encontraram diferença significativa no nível de concentração dos marcadores inflamatórios entre os dois tratamentos. Ambos estudos utilizaram o mesmo modelo animal, porém Heng-Dong *et al.* (2015) fizeram cinco aplicações, sendo uma por semana, de 0.5 ml de PRP e 0.2 ml de HA de sódio, e Liu *et al.* (2014) usaram a dosagem de 0.3 ml de PRP e HA, aplicando três vezes, sendo uma aplicação por semana.

No que diz respeito ao desfecho histopatológico, três estudos (LIU *et al.*, 2014; DUAN *et al.*, 2017; CHIOU *et al.*, 2018) avaliaram esta variável. A análise da histologia da cartilagem foi realizada em dois estudos (LIU *et al.*, 2014; DUAN *et al.*, 2017), porém o método de intervenção, a ferramenta de análise do desfecho e o resultado foram diferentes. Duan *et al.* (2017) utilizaram camundongo como modelo animal, a indução da OA foi através de carga tibial

axial não invasiva, como protocolo de tratamento fizeram três aplicações com dosagem de 15 μ L de PRP e HA, usaram OARSI Score para avaliar o desfecho, e não encontraram diferença significativa entre os dois grupos (PRP vs HA). Em contrapartida, Liu *et al.* (2014) induziram a OA em coelhos realizando uma incisão cutânea lateral parapatelar, utilizaram uma dosagem de 0,3 ml de PRP e HA e fizeram três aplicações, sendo uma por semana, e usaram *Mankin Score* para avaliar o desfecho, e observaram que o tratamento utilizando PRP apresentou diferença significativa em relação ao HA. Em um trabalho realizado por Pauli *et al.* (2012) comparou *Mankin Score* e OARSI na avaliação das articulações do joelho humano em todos os estágios do desenvolvimento da osteoartrite, e concluíram que ambos sistemas são complexos, demorados e mostram variabilidade, e por dependerem da pessoa que está avaliando, por serem um sistema de pontuação semiquantitativos, as análises são subjetivas (PAULI *et al.*, 2012). No que se refere ao HA, Duan *et al.* (2017) utilizaram HYADD-4G, um derivado do HA, e Liu *et al.* (2014) usaram ácido hialurônico. Existem muitas variedades disponíveis de HA para se usar no tratamento da OA, e cada preparação possui diferentes características como o peso molecular, concentração e estrutura molecular, podendo ser de fonte de biofermentação animal ou fonte bacteriana utilizando organismos modificados (BOWMAN *et al.*, 2018). O peso e a configuração molecular do HA estão relacionados com a velocidade de degradação enzimática e a permanência na articulação (TESTA *et al.*, 2021). Estudos mostraram que HA com maior peso molecular apresenta maiores efeitos anti-inflamatórios (BOWMAN *et al.*, 2018). Em relação ao PRP, Duan *et al.* (2017) utilizaram o método de dupla centrifugação e Liu *et al.* (2014) usaram o protocolo de *Landesburg*. O PRP possui diferentes formas de preparação, o que faz com que apresente características variadas, dificultando a comparação entre estudos que utilizam diferentes protocolos (O'CONNELL *et al.*, 2019). Duan *et al.* (2017) e Liu *et al.* (2014) tiveram resultados diferentes, porem é preciso levar em consideração que a metodologia e o sistema de avaliação utilizados não seguiram o mesmo padrão. Já a histologia da sinóvia foi analisada em apenas um estudo (DUAN *et al.*, 2017), e não houve diferença significativa entre os grupos de tratamentos. Chiou *et al.* (2018) fizeram a análise histopatológica utilizando metaloproteinase-1 de matriz (MMP-1) como marcador

molecular, e também não observaram diferença significativa entre os grupos de PRP e HA, porém os métodos de intervenção não foram relatados claramente.

Em nossas pesquisas encontramos três artigos que não viram diferenças entre o tratamento de PRP em comparação ao HA (HENG-DONG *et al.*, 2015; DUAN *et al.*, 2017; CHIOU *et al.*, 2018), e um artigo que observou que o tratamento usando PRP foi superior ao HA (LIU *et al.*, 2014). Nossos achados divergem parcialmente dos achados de Filardo *et al.* (2020), que realizaram uma revisão sistemática, e encontraram que o PRP foi superior ao HA em relação a dor e rigidez em pacientes com OA nos joelhos, sendo que a diferença é clinicamente significativa após seis a 12 meses de acompanhamento, porém a melhora ainda é parcial e suportada por baixo nível de evidência.

Estudos de revisões sistemáticas são altamente recomendados para avaliação da qualidade metodológica em pesquisas e determinação da eficácia de tratamentos. Assim, o desenho deste estudo ocupa o mais alto grau na hierarquia das evidências científicas (AKOBENG *et al.*, 2005; EVANS, 2003). Nesta presente revisão, a avaliação do risco de viés dos estudos foi realizada usando a ferramenta SYRCLE's RoB.

Dentre os dez itens da escala SYRCLE's RoB, os critérios com maior risco de viés foram o item 1 (sequência de alocação adequada), o item 5 (cegamento dos investigadores) e o item 6 (randomização da seleção dos animais para avaliação dos resultados). Nenhum dos estudos incluídos atendeu a esses três itens. A análise de viés é importante, pois auxilia na avaliação crítica das evidências dos resultados dos estudos, e na conscientização sobre a importância de fazer um estudo com experimentação animal com uma boa qualidade metodológica (HOOIJMANS *et al.*, 2014).

5.2 FORÇA E LIMITAÇÕES DO ESTUDO

Esta é a primeira revisão sistemática sobre a comparação dos efeitos do PRP versus HA no processo inflamatório e nas características histológicas da cartilagem e da sinóvia em animais com OA. Um ponto forte foi a metodologia adotada, que seguiu as diretrizes e recomendações PRISMA e da Colaboração Cochrane. No entanto, devemos reconhecer a heterogeneidade quanto aos métodos empregados nos estudos incluídos nesta revisão. Os quatro estudos

não aplicaram o mesmo método de indução de OA, o modo de preparo do PRP, a dosagem de HA e PRP e o protocolo de tratamento também foram distintos, e em alguns estudos essas informações não foram apresentadas. Além disso, os estudos analisaram diferentes características, e na avaliação da histologia da cartilagem, que foi feita por dois estudos (LIU *et al.*, 2014; DUAN *et al.*, 2017), a ferramenta de análise não foi a mesma. Espera-se que este estudo seja de alguma ajuda no desenho de estudos pré-clínicos de alta qualidade no futuro.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos mostraram que o tratamento com PRP comparado ao tratamento com HA não apresentou diferenças na sinovite, na concentração de MMP-1, e na concentração dos marcadores pró-inflamatórios IL-6, IL-1 e TNF- α , porém em relação a lesão da cartilagem, os estudos tiveram resultados divergentes. Mais estudos com rigor metodológico sobre este tema são necessários para fazer uma melhor comparação.

REFERÊNCIAS

ABRAMOFF, Benjamin *et al.* Osteoarthritis. **Medical Clinics Of North America**, [S.L.], v. 104, n. 2, p. 293-311, mar. 2020.

AKOBENG, A K *et al.* Principles of evidence based medicine. **Archives Of Disease In Childhood**, [S.L.], v. 90, n. 8, p. 837-840, 1 ago. 2005.

ALTMAN, Roy *et al.* Efficacy and safety of repeated courses of hyaluronic acid injections for knee osteoarthritis: a systematic review. **Seminars In Arthritis And Rheumatism**, [S.L.], v. 48, n. 2, p. 168-175, out. 2018.

BELK, John W. *et al.* Platelet-Rich Plasma Versus Hyaluronic Acid for Knee Osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **The American Journal Of Sports Medicine**, [S.L.], v. 49, n. 1, p. 249-260, 17 abr. 2020.

BOWMAN, Steven *et al.* Recent advances in hyaluronic acid based therapy for osteoarthritis. **Clinical And Translational Medicine**, [S.L.], v. 7, n. 1, 16 fev. 2018.

CHEN, Zehan *et al.* Platelet-rich plasma versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis. **Medicine**, [S.L.], v. 99, n. 11, mar. 2020.

CHEN, Zhijie *et al.* DNA-Grafted Hyaluronic Acid System with Enhanced Injectability and Biostability for Photo-Controlled Osteoarthritis Gene Therapy. **Advanced Science**, [S.L.], v. 8, n. 9, mar. 2021.

CHIOU, Chi-Sheng *et al.* Mechanistic insight into hyaluronic acid and platelet-rich plasma-mediated anti-inflammatory and anti-apoptotic activities in osteoarthritic mice. **Aging**, [S.L.], v. 10, n. 12, p. 4152-4165, 23 dez. 2018.

DUAN, Xin *et al.* Therapeutic efficacy of intra-articular hyaluronan derivative and platelet-rich plasma in mice following axial tibial loading. **Plos One**, [S.L.], v. 12, n. 4, 13 abr. 2017.

EVANS, D. (2003). Hierarchy of evidence.pdf. *Journal of Clinical Nursing*, 12, 77–84.

EVERTS, Peter *et al.* Platelet-Rich Plasma: new performance understandings and therapeutic considerations in 2020. **International Journal Of Molecular Sciences**, [S.L.], v. 21, n. 20, p. 7794, 21 out. 2020.

FILARDO, Giuseppe *et al.* PRP Injections for the Treatment of Knee Osteoarthritis: a meta-analysis of randomized controlled trials. **Cartilage**, [S.L.], v. 13, n. 1, 19 jun. 2020.

GONG, Hao *et al.* Clinical therapy of platelet-rich plasma vs hyaluronic acid injections in patients with knee osteoarthritis. **Medicine**, [S.L.], v. 100, n. 12, 26 mar. 2021.

HENG-DONG, Ji. Platelet-rich plasma with sodium hyalinate in repair of rabbit knee osteoarthritis. **Chinese Journal Of Tissue Engineering Research**, [S.L.], v. 19, n. 38, 17 set. 2015.

HIGGINS, JPT *et al.* *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 6.1.* The Cochrane Collaboration. training.cochrane.org/cochrane-handbook-systematic-reviews-interventions, 2020.

HOOIJMANS, Carlijn R *et al.* SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **Bmc Medical Research Methodology**, [S.L.], v. 14, n. 1, 26 mar. 2014.

ISHAQ, Noaman *et al.* COMPARATIVE CHONDROPROTECTIVE EFFECTS OF INTRA-ARTICULAR HYALURONIC ACID AND TRIAMCINOLONE IN MURINE MODEL OF OSTEOARTHRITIS. **Journal Of Ayub Medical College Abbottabad**, [S.L.], v. 34, n. 1, p. 82-86, 1 jan. 2022.

IM, Gun-Il *et al.* Perspective on Intra-articular Injection Cell Therapy for Osteoarthritis Treatment. **Tissue Engineering And Regenerative Medicine**, [S.L.], v. 16, n. 4, p. 357-363, 23 jan. 2019.

JONES, Ian A. *et al.* Intra-articular treatment options for knee osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, [S.L.], v. 15, n. 2, p. 77-90, 29 nov. 2018.

KATZ, Jeffrey N. *et al.* Diagnosis and Treatment of Hip and Knee Osteoarthritis. **Jama**, [S.L.], v. 325, n. 6, p. 568, 9 fev. 2021.

KENNEDY, Mitchell I. *et al.* Platelet-Rich Plasma and Cartilage Repair. **Current Reviews In Musculoskeletal Medicine**, [S.L.], v. 11, n. 4, p. 573-582, 10 set. 2018.

LATOURTE, Augustin *et al.* Emerging pharmaceutical therapies for osteoarthritis. **Nature Reviews Rheumatology**, [S.L.], v. 16, n. 12, p. 673-688, 29 out. 2020.

LEE, Mun-Ik *et al.* A placebo-controlled study comparing the efficacy of intra-articular injections of hyaluronic acid and a novel hyaluronic acid-platelet-rich plasma conjugate in a canine model of osteoarthritis. **Journal Of Orthopaedic Surgery And Research**, [S.L.], v. 14, n. 1, 18 set. 2019.

LIU, Ji *et al.* A Comparison between Platelet-Rich Plasma (PRP) and Hyaluronate Acid on the Healing of Cartilage Defects. **Plos One**, [S.L.], v. 9, n. 5, 12 maio 2014.

MAHEU, Emmanuel *et al.* Why we should definitely include intra-articular hyaluronic acid as a therapeutic option in the management of knee osteoarthritis: results of an extensive critical literature review. **Seminars In Arthritis And Rheumatism**, [S.L.], v. 48, n. 4, p. 563-572, fev. 2019.

MARTEL-PELLETIER, Johanne *et al.* Osteoarthritis. **Nature Reviews Disease Primers**, [S.L.], v. 2, n. 1, 13 out. 2016.

MATAS, Jose *et al.* Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) for Knee Osteoarthritis: repeated msc dosing is superior to a single msc dose and to hyaluronic acid in a controlled randomized phase i/ii trial. **Stem Cells Translational Medicine**, [S.L.], v. 8, n. 3, p. 215-224, 28 dez. 2018.

O'CONNELL, Brendan *et al.* The use of PRP injections in the management of knee osteoarthritis. **Cell And Tissue Research**, [S.L.], v. 376, n. 2, p. 143-152, 13 fev. 2019.

Ouzzani M, Hammady H, Fedorowicz Z, Elmagarmid A. Rayyan-a web and mobile app for systematic reviews. *Syst Rev*. 2016;5(1):1-10.

PAGE, Matthew J *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. **Nihon Bika Gakkai Kaishi (Japanese Journal of Rhinology)**, 59(Supplement), S59–S61, 2020.

PAULI, C. *et al.* Comparison of cartilage histopathology assessment systems on human knee joints at all stages of osteoarthritis development. **Osteoarthritis And Cartilage**, [S.L.], v. 20, n. 6, p. 476-485, jun. 2012.

RAEISSADAT, Seyed Ahmad *et al.* The comparison effects of intra-articular injection of Platelet Rich Plasma (PRP), Plasma Rich in Growth Factor (PRGF), Hyaluronic Acid (HA), and ozone in knee osteoarthritis; a one year randomized clinical trial. **Bmc Musculoskeletal Disorders**, [S.L.], v. 22, n. 1, 3 fev. 2021.

SACITHARAN, Pradeep Kumar *et al.* Ageing and Osteoarthritis. **Subcellular Biochemistry**, [S.L.], p. 123-159, 2019.

TANG, Jia Zhu *et al.* Platelet-rich plasma versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. **Journal Of Orthopaedic Surgery And Research**, [S.L.], v. 15, n. 1, 11 set. 2020.

TESTA, Gianluca *et al.* Intra-Articular Injections in Knee Osteoarthritis: a review of literature. **Journal Of Functional Morphology And Kinesiology**, [S.L.], v. 6, n. 1, 3 fev. 2021

XING, Dan *et al.* Intra-articular Hyaluronic Acid in Treating Knee Osteoarthritis: a prisma-compliant systematic review of overlapping meta-analysis. **Scientific Reports**, [S.L.], v. 6, n. 1, 12 set. 2016.

ZHAO, Jinlong *et al.* Effects and safety of the combination of platelet-rich plasma (PRP) and hyaluronic acid (HA) in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis. **Bmc Musculoskeletal Disorders**, [S.L.], v. 21, n. 1, 11 abr. 2020.