

MURILLO DÓRIO QUEIROZ

**Plasma rico em plaquetas e plasma para o tratamento da
osteoartrite de joelhos: um ensaio clínico randomizado duplo-
cego placebo-controlado**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção
do título de Doutor em Ciências

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Fuller

SÃO PAULO

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Queiroz, Murillo Dório

Plasma rico em plaquetas e plasma para o
tratamento da osteoartrite de joelhos : um ensaio
clínico randomizado duplo-cego placebo-controlado /
Murillo Dório Queiroz. -- São Paulo, 2019.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências do Sistema
Musculoesquelético.

Orientador: Ricardo Fuller.

Descritores: 1.Osteoartrite 2.Osteoartrite do
joelho 3.Gonartrose 4.Plasma rico em plaquetas
5.Plasma 6.Solução salina 7.Efeito placebo

USP/FM/DBD-454/19

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

À minha mãe, Mariléia Dório, que me deu todo o suporte necessário para construção da minha vida pessoal, profissional e acadêmica.

Agradecimentos

Ao meu orientador, Dr. Ricardo Fuller, por ser uma referência profissional, acadêmica e ética. Por sempre ter acreditado em mim, pelas oportunidades, pelo elegante respeito na convivência diária e por exercer o papel de um pai.

À Prof. Rosa Pereira, pela coorientação e coautoria do trabalho, que elevaram o nível de qualidade desta tese.

Ao Dr. Ricardo de Oliveira, pela coautoria do trabalho e pela doação do material e espaço necessários para a execução desta tese.

Ao Dr. Alexandre Galeno, pela coautoria do trabalho e pela realização com comprometimento das ultrassonografias e infiltrações de todos os participantes deste estudo.

Aos Profs. Marco Demange, Jamil Natour e Rita Furtado pelas sugestões sobre a metodologia e a apresentação dos resultados no valioso exame de Qualificação;

À Dra. Letícia Deveza, por ter guiado a minha rica jornada no *Royal North Shore Hospital* da Universidade de Sydney, desde a conquista da bolsa de estudos da OARSI até as finalizações dos trabalhos após o meu retorno. Por gentilmente compartilhar sua experiência com a metodologia e escrita dos artigos científicos e por ter aberto as portas à comunidade internacional que estuda osteoartrite.

Ao Prof. David Hunter, à Dra. Jillian Eyles, à Dra. Jocelyn Bowden e a toda a equipe do *Kolling Institute* da Universidade de Sydney, que gentil e respeitosamente deram sugestões para esta tese em um verdadeiro 2º exame de qualificação.

Ao Dr. Luiz Eduardo de Paula pela elaboração da versão inicial do protocolo deste estudo.

A Danielle Daffre, estatística que se dedicou para explorar os resultados encontrados e descrevê-los com detalhes e muita clareza.

A Walquiria Tavares Gomes Rosendo, farmacêutica do laboratório RDO, pelo preparo dos tratamentos e auxílio na alocação e cegamento dos participantes e investigadores deste estudo.

A todos os funcionários do laboratório RDO, que me receberam, juntamente com os participantes, com solicitude e gentileza.

A Tânia Borges, secretária do Programa de Ciências do Sistema Musculoesquelético, que desde o início deu todas as orientações imprescindíveis para elaboração desta tese.

A Cristina Maria Nazareth e demais secretárias do ambulatório de reumatologia, que gentilmente recepcionaram os participantes convocados para o recrutamento e o as avaliações deste estudo.

A todos os participantes do estudo desta tese, pela disponibilidade, alegria e motivação em ajudar. Especialmente agradeço a Sra. Janete Clini de Souza, que se empenhou no recrutamento de novos participantes e facilitou muito meu trabalho.

Aos meus colegas e amigos reumatologistas Lorena Castelo Branco, Carini Otsuzi, Mariana Alves e Rodrigo Toledo, pelo encaminhamento de participantes para triagem no período de recrutamento.

Aos meus queridos amigos, que me ajudaram a manter a leveza no dia a dia e me estimularam a ser uma pessoa cada dia melhor.

A Roberto Bozzi, pela gentil ajuda no transporte dos participantes desta tese, pelo suporte e incentivo diários para que eu exerça minhas funções com primor e parceria incondicional no dia a dia.

À minha família: minha mãe Mariléia Dório, meus irmãos Natielly Dório e Marcello Dório, meus sobrinhos Bento Dório e João Dório. Por serem o meu norte, por recarregarem minhas energias e por me motivarem para a vida em São Paulo.

Esta dissertação ou tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas e siglas

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVO	6
3. MÉTODO.....	8
Desenho do estudo.....	9
Local do estudo e amostra.....	10
Procedimentos.....	12
Preparo de PRP e plasma	14
Desfechos.....	16
Randomização, alocação e cegamento	18
Análise estatística.....	19
4. RESULTADOS	20
Subanálises	28
5. DISCUSSÃO.....	30
6. CONCLUSÕES.....	34
7. ANEXOS.....	36
8. REFERÊNCIAS	50
APÊNDICES.....	1

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACR	- <i>American College of Rheumatology</i>
AH	- Ácido Hialurônico
ANOVA	- Análise de Variância
AVG	- Avaliação global
CAPPesq	- Comitê de Ética para Análise de Projeto de Pesquisa
DP	- Desvio-padrão
ECR	- Ensaio clínico randomizado
EVA	- Escala Visual Analógica 0-10 cm
GS	- Escala de cinza (<i>gray scale</i>)
HC-FMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade São Paulo
IKDC	- <i>International Knee Documentation Committee</i>
IMC	- Índice de Massa Corporal
KL	- Graduação radiográfica de Kellgren e Lawrence
KOOS	- <i>Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score</i>
N	- Número de participantes
ns	- Não significante estatisticamente
OA	- Osteoartrite
OMERACT-OARSI	- <i>Outcome Measures in Rheumatology-Osteoarthritis Research Society International</i>
PRP	- Plasma rico em plaquetas
TCLE	- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TUGT	- <i>Timed up and go test</i>
US	- Ultrassom
WOMAC	- <i>Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index</i>

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Protocolo do estudo	10
Figura 2 - Preparo do PRP e plasma: A – coleta de 40 ml (4 tubos à vácuo) de sangue autólogo; B - após a 1ª centrifugação, separação dos eritrócitos no fundo, uma camada leucoplaquetária intermediária (<i>buffy coat</i>) e uma camada superior de plasma; C - separação do plasma, juntamente com a porção superior da camada leucoplaquetária, de todos os tubos; D - plasma separado em tubo de centrifugação (Falcon®); E - após a 2ª centrifugação, separação de um sedimento (<i>pellet</i>) de plaquetas, no fundo, do plasma (sem plaquetas); F - ampliação do <i>pellet</i> de plaquetas; G - retirada do plasma para uso como tratamento e para rediluição do <i>pellet</i> de plaquetas em volume necessário para obtenção de PRP com aproximadamente 1×10^6 plaquetas/mm ³ ; H - PRP final para uso como tratamento	15
Figura 3 - Diagrama CONSORT	21
Figura 4 - EVA para dor geral, delta de melhora	26
Figura 5 - Distribuição por quartis da porcentagem de melhora da EVA de dor geral na semana 12	28

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Diagrama SPIRIT	17
Tabela 2 - Características dos participantes na inclusão do estudo	22
Tabela 3 - Resultados	24
Tabela 4 - Eventos adversos	27

RESUMO

Queiroz MD. *Plasma rico em plaquetas e plasma para o tratamento da osteoartrite de joelhos: um ensaio clínico randomizado duplo-cego placebo-controlado* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

INTRODUÇÃO: A osteoartrite (OA) de joelhos apresenta alta prevalência, com grande impacto social e econômico. Porém, seu tratamento ainda é relativamente limitado porque as terapias existentes até o momento apresentam duração curta e tamanho de efeito apenas pequeno a moderado. Na busca por novas opções, o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) tem mostrado eficácia em alguns ensaios. No entanto, esses estudos apresentam falhas metodológicas importantes, não existe padronização no preparo do PRP e apenas 3 deles usaram placebo como comparador. Já o plasma (sem as plaquetas) não foi testado como tratamento até o momento. O objetivo deste estudo foi avaliar se a infiltração intra-articular de plasma rico em plaquetas (PRP) ou plasma é superior ao placebo para melhorar a dor ou a função em participantes com OA de joelhos em 24 semanas. **MÉTODO:** ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo-controlado com 3 grupos: PRP (n = 20), plasma (n = 21) e soro fisiológico (n = 21). Foram realizadas 2 infiltrações guiadas por ultrassom com intervalo de 2 semanas. O desfecho primário foi a dor geral no joelho estudado pela escala visual analógica 0-10 cm (EVA) avaliada na semana 24, com avaliações intermediárias nas semanas 6 e 12. Os desfechos secundários foram: EVA de dor em repouso e em movimento, avaliação global do paciente e do médico, escala likert de melhora, WOMAC (*Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index*), KOOS (*Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score*), critério OMERAC-OARSI e o TUGT (*Timed Up and Go Test*). **RESULTADOS:** Os grupos eram semelhantes na inclusão: 57 (92%) participantes eram do sexo feminino, com média de idade de 65 anos, média de índice de massa corporal de 28,0 kg/m² e média da EVA para dor geral de 6,2 cm. Os deltas de melhora da dor geral na semana 24 foram -2,9 (DP 2,5), -2,4 (DP 2,5) e -3,5 (DP 3,3) cm para o PRP, o plasma e o soro fisiológico, respectivamente (p intergrupo = 0,499). Nas semanas 6 e 12 também não houve diferença entre os grupos. Da mesma forma, não houve diferença entre os grupos quanto aos desfechos secundários, exceto na escala likert para melhora, em que houve uma diferença significativa no grupo PRP entre as semanas 6 e 12, sugerindo melhores respostas na semana 12 (p = 0,003). Eventos adversos ocorreram em 13 (65%) participantes do grupo PRP, 5 (24%) do grupo plasma e 7 (33%) do grupo soro fisiológico (p = 0,02), sendo o mais comum a dor leve a moderada, com duração média de 2 dias, porém não houve diferença entre os grupos quanto ao tipo, intensidade e duração dos sintomas. **CONCLUSÕES:** o PRP e o plasma não foram superiores ao placebo para melhora da dor e função em participantes com OA de joelhos no período de 24 semanas. O grupo PRP apresentou maior frequência de eventos adversos, mas o tipo, a intensidade e a duração não foram diferentes entre os grupos.

Descritores: Osteoartrite; Osteoartrite do joelho; Gonartrose; Plasma rico em plaquetas; Plasma; Solução salina; Efeito placebo.

ABSTRACT

Queiroz MD. *Platelet-rich plasma and plasma for treatment of knee osteoarthritis: a double-blinded placebo-controlled randomized clinical trial* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2019.

INTRODUCTION: Knee osteoarthritis (OA) has a high prevalence, with great social and economic impact. Nevertheless, its treatment is still relatively limited because existing therapies are of short duration and have small to moderate effect sizes at best. In the search for new options, Platelet Rich Plasma (PRP) has shown efficacy in some trials. However, these studies have major methodological flaws, there is no standardization in PRP preparation and only 3 of them used placebo as comparator. On the other hand, the plasma (without platelets) has not been tested as a treatment so far. The aim of this study was to evaluate whether intra-articular platelet-rich plasma (PRP) or plasma are superior to placebo to improve pain or function in participants with knee OA over 24 weeks.

METHOD: Randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial with 3 groups: PRP (n = 20), plasma (n = 21) and saline (n = 21). Two ultrasound-guided knee injections were performed with a 2-week interval. The primary outcome was visual analog scale 0-10 cm (VAS) for overall pain at week 24, with intermediate assessments at weeks 6 and 12. Secondary outcomes were: pain at rest, pain at movement, physician and patient's global assessment, likert scale for improvement, WOMAC (Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index), KOOS (Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score), OMERACT-OARSI criteria and Timed Up and Go Test.

RESULTS: Baseline characteristics were similar between groups: 57 (92%) of participants were female, with a mean age of 65 years, mean body mass index of 28.0 Kg/m² and mean VAS for overall pain at baseline of 6.2 cm. Changes from baseline for VAS for overall pain at week 24 were -2.9 (SD 2.5), -2.4 (SD 2.5) and -3.5 (SD 3.3) cm for PRP, plasma and saline, respectively (p intergroup = 0.499). At weeks 6 and 12 there was also no difference between the groups. Similarly, there was no difference between groups regarding secondary outcomes, except for the likert scale for improvement, in which there was a significant difference in the PRP group between weeks 6 and 12, suggesting better responses at week 12 (p = 0.003). Adverse events occurred in 13 (65%) participants in the PRP group, 5 (24%) in the plasma group and 7 (33%) in the saline group (p = 0.02), most common mild to moderate pain with a mean duration of 2 days, but without difference between groups regarding type, intensity and duration of symptoms.

CONCLUSIONS: PRP and plasma were not superior to placebo for pain and function improvement in participants with knee OA over 24 weeks. The PRP group had a higher frequency of adverse events, but type, intensity and duration were not different between groups.

Descriptors: Osteoarthritis; Osteoarthritis, knee; Gonarthrosis; Platelet-rich plasma; Plasma; Saline solution; Placebo effect.

1. INTRODUÇÃO

Estima-se que a osteoartrite (OA) de joelhos afete mais de 10% da população mundial(1) com um risco ao longo da vida de 45%(2). Um aumento desses números é esperado ao longo dos próximos anos devido ao envelhecimento da população e da prevalência de obesidade(3). A OA de joelhos causa incapacidade, diminuição da qualidade de vida e está associada a gastos econômicos consideráveis, com custos diretos, relacionados ao tratamento, e custos indiretos, como a perda de produtividade no trabalho(3, 4).

As diretrizes atuais indicam como tratamento para a OA de joelhos tanto os tratamentos não medicamentosos (como o exercício) quanto os tratamentos medicamentosos (como os anti-inflamatórios)(5, 6). No entanto, eles apresentam benefício no curto prazo e seus tamanhos de efeito são apenas pequenos a moderados(7, 8). Além disso, o uso dos medicamentos é restrito em pacientes com comorbidades devido ao risco de eventos adversos(5). Terapias intra-articulares são opções para o tratamento da OA de joelhos e incluem corticoides e ácido hialurônico (AH). Os corticoides são, geralmente, recomendados somente para o alívio da dor a curto prazo dado que os benefícios são limitados a 4 a 6 semanas(5, 9). Além disso, um estudo recente sugeriu que as infiltrações repetidas estão associadas à perda de volume da cartilagem(10). O uso do AH é controverso e as diretrizes fornecem recomendações condicionais(5, 6). Com a falha dessas opções anteriores, a artroplastia total do joelho é geralmente um tratamento definitivo eficaz. No entanto ele é caro, existe o risco de complicações pré e pós-operatórias e não é apropriado para todos os pacientes(11). Portanto, a identificação de tratamentos alternativos eficazes e seguros para a OA de joelhos é uma necessidade.

Alguns tratamentos biológicos tem sido estudados recentemente para o tratamento da OA de joelhos e um deles é o plasma rico em plaquetas (PRP)(12), para uso intra-articular. Ele já era utilizado em diversas situações clínicas com a finalidade de regenerar tecidos e, atualmente, é empregado no tratamento de lesões em tecidos moles, como na reparação de úlceras crônicas(12-14), tendinopatias e fasciítes(15).

O PRP é um produto sanguíneo autólogo que contém uma concentração elevada de plaquetas, acima da concentração do sangue periférico. Em geral, o

seu preparo requer a coleta de sangue periférico seguida de centrifugação para concentrar as plaquetas no plasma(16). A degranulação das plaquetas libera fatores de crescimento enquanto o plasma contém citocinas, trombina e outros fatores de crescimento com propriedades biológicas e adesivas(17). Atualmente, também estão disponíveis kits comerciais de PRP. A concentração das plaquetas varia de acordo com os diferentes sistemas e fabricantes, forças de gravidade e tempos de centrifugação, bem como o sexo do paciente e as características físicas pessoais(16).

Embora a o mecanismo de ação do PRP não seja completamente compreendido, ele pode ser benéfico na OA, interferindo em eventos catabólicos e inflamatórios e promovendo, subsequentemente, respostas anabólicas(18). A ativação do PRP libera fatores de crescimento e outras moléculas, incluindo o fator de crescimento derivado de plaquetas, o fator de crescimento transformador- β , o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 e o fator de crescimento endotelial vascular, os quais devem estar relacionados à sua eficácia(17, 18). Essas proteínas são responsáveis por uma série de papéis críticos na cicatrização tecidual, como a inibição da apoptose de condrócitos, o remodelamento ósseo e de vasos, a modulação inflamatória e a síntese de colágeno(16, 18).

Em estudos que utilizaram modelos animais de OA, o PRP demonstrou atuar na regeneração da cartilagem(19), embora esse não seja um achado consistente(20). Há evidências de que o PRP tem, também, um papel complexo na inflamação, com uma ação pró-inflamatória inicial, seguida por uma redução das citocinas inflamatórias(21). Há estudos sugerindo um efeito analgésico direto via aumento de receptores canabinoides(22). Assim, mesmo que o PRP não leve à regeneração da cartilagem, ele poderia oferecer benefícios sintomáticos e funcionais através da modulação da inflamação e analgesia direta.

Vários ensaios clínicos demonstraram que o PRP pode ser promissor para o tratamento da OA de joelhos(16, 23, 24). No entanto, a maioria deles apresenta problemas em relação ao método e limitações que dificultam uma análise adequada dos seus resultados, com risco de viés(23, 25, 26). Citam-se o cegamento questionável, a falha em ocultar a alocação, a seleção de dados para

publicação, as amostras pequenas e as análises estatísticas inadequadas(23, 26). Além disso, é considerável a heterogeneidade entre os estudos em termos da população estudada, dos desfechos avaliados, dos regimes de aplicação e, principalmente, do modo de preparo do PRP, com diferentes métodos de centrifugação e concentrações finais. Todos esses fatores dificultam a produção de protocolos universais(16, 24).

A maioria dos ensaios clínicos tem o AH como comparador, o qual é ainda controverso(16). Muitos relataram melhoras significativas nos resultados clínicos do PRP em comparação com o AH, os quais foram observados em até 12 meses, embora pareçam diminuir ao longo do tempo. No entanto, embora os resultados possam ser estatisticamente significativos, o tamanho do efeito do PRP é pequeno, questionando-se a relevância clínica da melhora nesses estudos(16).

Apenas três ensaios clínicos compararam o PRP com o placebo até o momento, com resultados que mostraram melhoras significativas dos sintomas em relação ao soro fisiológico até 6 e 12 meses(27-29). No entanto, esses estudos também apresentam falhas metodológicas importantes, incluindo a falta de cegamento apropriado, sugerindo que os benefícios podem ter sido superestimados(16), estatísticas inadequadas e ausência de melhora no grupo placebo, o que contraria o bem documentado efeito placebo com infiltrações de soro fisiológico para a OA de joelhos(30). Desse modo, ainda são necessários estudos comparando o PRP com placebo.

Duas revisões sistemáticas recentes incluíram em suas análises apenas ensaios clínicos randomizados (ECRs)(23, 26). Kanchanatawan et al.(26) incluíram nove estudos que compararam o PRP ao AH ou ao placebo em participantes com OA de joelhos. Foram encontrados resultados significativamente melhores com o PRP, quando comparado ao AH, para as variáveis: WOMAC (*Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index*) total, IKDC (*International Knee Documentation Committee*) e escala visual analógica de dor. Porém, o PRP não apresentou diferença estatisticamente significativa em relação às variáveis dor, rigidez e função do WOMAC, Lequesne e eventos adversos quando comparado tanto ao AH quanto ao placebo. As limitações desta revisão incluem o pequeno número de estudos reunidos nas

diferentes análises para as diversas variáveis e o risco médio a alto de viés nos estudos. Um número maior de ECRs (n = 14) foi incluído na revisão sistemática de Shen et al.(23), mas novamente nenhum dos estudos foi considerado com baixo risco de viés. Ela revelou benefícios significativos do PRP para dor e função em 3, 6 e 12 meses após o tratamento em comparação com infiltrações intra-articulares de soro fisiológico, AH, ozônio e corticoides. No entanto, o cegamento dos participantes, que é crucial para controlar o efeito placebo, foi considerada executada com sucesso apenas em cerca de metade dos estudos. Os autores concluíram, então, que provavelmente os efeitos relatados do PRP foram superestimados. É importante ressaltar que o PRP foi considerado um tratamento seguro. Os efeitos colaterais foram poucos e menos intensos, como dor no local da infiltração.

Em virtude dessas lacunas, o PRP não tem recomendação formal para o tratamento da OA pelas agências normatizadoras específicas(31). No Brasil, o Conselho Federal de Medicina, por meio da Resolução 2128/2015(32) determinou que o uso do PRP deve ocorrer apenas em procedimentos experimentais de protocolos de pesquisa devido à falta de padronização e controle do seu preparo e ao uso indiscriminado até aquele momento.

O plasma humano é composto de água, proteínas e eletrólitos, fatores de coagulação e imunoglobulinas. Como é o meio no qual as plaquetas concentradas do PRP são diluídas, é relevante o estudo de sua possível ação na melhora clínica da OA de joelhos.

As justificativas para o estudo do PRP ou plasma para o tratamento da OA de joelhos seriam: i) são relativamente fáceis de usar, pois o preparo é rápido e são terapias minimamente invasivas; ii) trata-se de tratamentos relativamente baratos, considerando o uso da estrutura e equipamentos existentes nos serviços públicos de saúde; e iii) é provável que sejam seguros, pois são produtos autólogos e estudos anteriores relataram apenas efeitos adversos leves e transitórios(16).

2. OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar se o PRP ou o plasma são superiores ao placebo para a melhora da dor ou da função em participantes com OA de joelhos ao longo de 24 semanas.

3. MÉTODO

Desenho do estudo

Ensaio clínico de superioridade, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, paralelo, com 3 grupos na proporção de 1: 1: 1. Comparou o tratamento intra-articular para OA de joelhos de dois grupos experimentais, um com PRP e outro com plasma, com um grupo controle, que recebeu soro fisiológico. Duas infiltrações articulares guiadas por ultrassom foram realizadas com um intervalo de duas semanas e os resultados foram avaliados na semana 24, com avaliações intermediárias nas semanas 6 e 12 (Figura 1). O estudo foi registrado no [ClinicTrials.gov](https://www.clinicaltrials.gov) com o identificador NCT03138317.

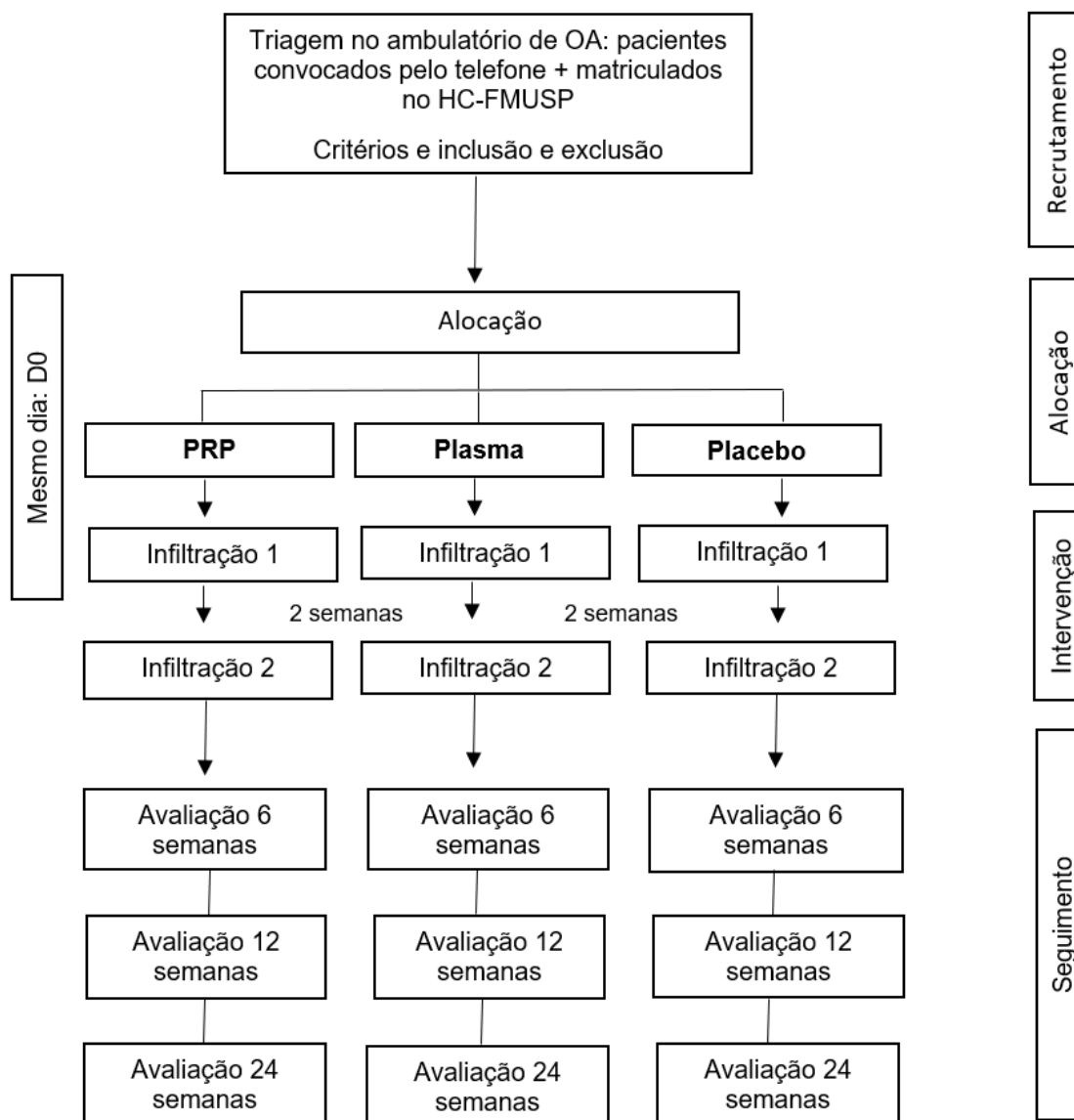


Figura 1 - Protocolo do estudo.

Local do estudo e amostra

O estudo foi realizado no serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HC-FMUSP), São Paulo, Brasil. A amostra foi composta por participantes diagnosticados com OA de joelhos em acompanhamento ambulatorial e participantes externos triados por telefone e, em seguida, pessoalmente no ambulatório. Todos os participantes foram instruídos sobre os procedimentos e método do estudo e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A). Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética para Análise de Projeto de

Pesquisa (CAPPesq), com número de registro 15059, aprovado em 8 de julho de 2016 (Anexo B).

Os seguintes critérios foram utilizados para inclusão dos participantes no estudo:

- 1) homens e mulheres com idade entre 45 e 80 anos;
- 2) preencher os critérios para OA de joelhos do *American College of Rheumatology*(33);
- 3) grau radiográfico 2 ou 3 pela graduação de Kellgren e Lawrence (KL)(34) em pelo menos um joelho;
- 4) referir dor de 3 a 8 cm na escala visual analógica de 0 a 10 cm (EVA) em pelo menos um joelho na última semana.

As radiografias de joelho realizadas até 6 meses antes da alocação foram aceitas para a inclusão. O joelho estudado foi o referido com maior nível de dor.

Foram excluídos participantes com morbidades que impossibilitassem a realização do procedimento ou que pudessem interferir nos resultados obtidos. Os seguintes critérios foram utilizados:

- 1) uso de analgésicos, anti-inflamatórios não esteroidais, relaxantes musculares e corticoides sistêmicos até uma semana antes alocação;
- 2) uso de medicamentos de ação lenta para OA iniciados até 8 semanas antes da alocação. Para participantes que os utilizavam há mais de 8 semanas, eles deveriam ser mantidos até o final do protocolo;
- 3) infiltração de corticoides ou AH no joelho estudado até 6 meses antes da alocação;
- 4) infiltração de qualquer medicamento em qualquer outra articulação até 1 mês antes da alocação;
- 5) introdução de qualquer intervenção médica ou fisioterápica para o sistema locomotor nos 3 meses anteriores à alocação (exercícios, acupuntura, bengala, órteses etc.);
- 6) KL 4 na radiografia de qualquer joelho;

- 7) índice de massa corporal (IMC) ≥ 35 kg/m²;
- 8) fibromialgia, doenças do tecido conjuntivo e artropatias como artrite reumatoide, microcristalinas, espondiloartrites e artropatias infecciosas;
- 9) OA sintomática de quadris ou pés;
- 10) lesão meniscal ou ligamentar sintomática conhecida no joelho estudado;
- 11) cirurgia prévia no joelho estudado;
- 12) diferença de comprimento dos membros inferiores > 1 cm;
- 13) lesão cutânea na superfície do joelho estudado;
- 14) escoliose grave;
- 15) qualquer discrasia sanguínea (incluindo trombocitopenia) ou uso de anticoagulantes;
- 16) outras doenças: depressão grave, diabetes não controlado, doença cardiovascular descompensada, infecção, imunossupressão (metotrexato até 10 mg/semana permitido), doença infecciosa sistêmica, doença vascular sintomática dos membros inferiores, doenças neurológicas, câncer ou quaisquer outras condições que na avaliação do investigador pudessem interferir nos resultados;
- 17) qualquer licença médica, benefício previdenciário ou similar devido à OA de joelhos.

Procedimentos

Os participantes recrutados foram avaliados em um laboratório privado (laboratório RDO) para serem alocados aos grupos de tratamento e submetidos a avaliação clínica e procedimentos de intervenção: i) variáveis descritivas e questionários; ii) exame físico; iii) teste funcional; iv) coleta de sangue com realização de hemograma completo; v) avaliação do joelho estudado por ultrassonografia; vi) infiltração articular; vii) orientações gerais.

O joelho estudado foi avaliado por ultrassom com o participante em decúbito dorsal com flexão do joelho de 30° e flexão máxima ($> 90^\circ$). Foram

avaliados os seguintes parâmetros(35): hipertrofia sinovial com a escala de cinza (graus 0 a 4), presença de *power doppler* (graus 0 a 4), quantificação do derrame articular, em mm (medido com o joelho flexionado a 30°, no eixo longitudinal) e quantificação da cartilagem articular(36):

- Grau 0 – normal: se apresentassem banda anecoica monótona, com forte interface hiperecoica anterior e posterior;
- Grau 1 - alterações degenerativas leves: perda da nitidez normal das interfaces e/ou aumento da ecogenicidade da cartilagem;
- Grau 2A - alterações degenerativas moderadas: se, além das alterações acima, houvesse evidente afinamento focal (menos de 50%) da cartilagem;
- Grau 2B - alterações degenerativas moderadas: se o afinamento focal da cartilagem fosse superior a 50%, mas inferior a 100%;
- Grau 3 - alterações degenerativas graves: perda da espessura de 100% da cartilagem.

As infiltrações do joelho foram guiadas por ultrassom, realizadas pela via lateral, 2 cm acima e lateralmente ao ângulo superolateral da patela, com agulha 22G e administração de anestésico local (lidocaína a 2% sem vasoconstritor). Em seguida, com a mesma agulha, foram infiltrados o PRP, o plasma ou o soro fisiológico, de acordo com o grupo de alocação. Um curativo (Blood Stop®) foi colocado, com orientação de ser removido no dia seguinte ao procedimento. Os participantes foram instruídos a evitar exercícios nas 48 horas seguintes à infiltração.

Ao longo do estudo, os participantes foram instruídos a usar paracetamol em caso de dor, na dose máxima de 3 g/dia, e a evitar o uso de outros medicamentos, principalmente anti-inflamatórios não esteroidais e dipirona.

Um único investigador (o autor desta tese) realizou todas as avaliações e um único radiologista (Dr. Alexandre Galeno), com mais de 20 anos de experiência em ultrassonografia do sistema musculoesquelético e procedimentos intervencionistas, realizou todas as avaliações de ultrassom e infiltrações guiadas. A alocação dos participantes ocorreu de abril de 2017 a outubro de 2017 e as avaliações foram concluídas em março de 2018.

Preparo de PRP e plasma

Todos os participantes foram submetidos à coleta de 40 ml de sangue autólogo pela veia antecubital em tubos à vácuo (BD Vacutainer®) de 10 ml contendo como anticoagulante a solução de citrato de sódio a 3,8%. Os tubos foram submetidos à dupla centrifugação (centrífuga Cel LS3 Plus®). A primeira foi realizada a 1500 rpm (395 g), com duração de 12 minutos. Após 10 minutos de repouso, foi obtida uma camada inferior composta por eritrócitos, uma camada leucoplaquetária intermediária (*buffy coat*) e uma camada superior de plasma. Esse plasma, juntamente com a porção superior da camada leucoplaquetária, foi colocado em um tubo de centrifugação (Falcon®) e submetido à segunda centrifugação a 2300 rpm (930 g), com duração de 10 minutos(37) e separação de um sedimento (*pellet*) de plaquetas do plasma (sem plaquetas). Em seguida, procedeu-se a retirada do plasma para uso como tratamento e para a rediluição do sedimento de plaquetas em um volume necessário para obtenção de um PRP com aproximadamente 1×10^6 plaquetas/mm³ (aproximadamente 3 vezes a contagem basal de plaquetas), o qual também foi utilizado como tratamento neste estudo(37) (Figura 2). O PRP não foi submetido a nenhum tipo de ativação.

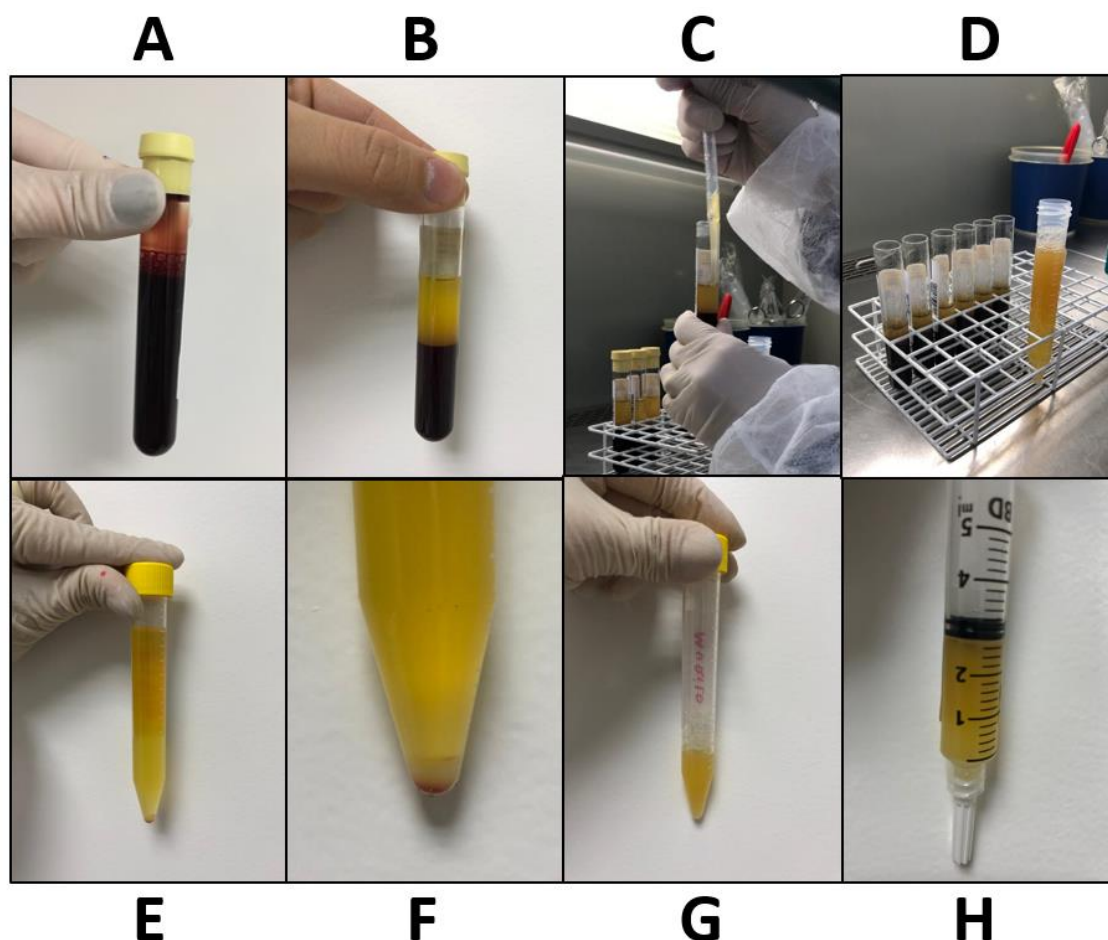


Figura 2 - Preparo do PRP e plasma: A – coleta de 40 ml (4 tubos à vácuo) de sangue autólogo; B - após a 1ª centrifugação, separação dos eritrócitos no fundo, uma camada leucoplaquetária intermediária (*buffy coat*) e uma camada superior de plasma; C - separação do plasma, juntamente com a porção superior da camada leucoplaquetária, de todos os tubos; D - plasma separado em tubo de centrifugação (Falcon®); E - após a 2ª centrifugação, separação de um sedimento (*pellet*) de plaquetas, no fundo, do plasma (sem plaquetas); F - ampliação do *pellet* de plaquetas; G - retirada do plasma para uso como tratamento e para rediluição do *pellet* de plaquetas em volume necessário para obtenção de PRP com aproximadamente 1×10^6 plaquetas/mm³; H - PRP final para uso como tratamento.

A contagem de plaquetas no sangue periférico pré-centrifugação foi usada para estimar o volume final de PRP necessário para obter a concentração de 1×10^6 plaquetas/mm³. Desse modo, o volume final de PRP infiltrado variou de 1,4 a 5 ml entre os participantes devido a variação da contagem basal de plaquetas entre eles. O volume de plasma e soro fisiológico também foi calculado de acordo com a contagem basal de plaquetas no sangue periférico de cada participante para manter o cegamento do médico que fez as infiltrações. Plaquetas, leucócitos e eritrócitos foram contados após as centrifugações em algumas amostras de PRP e plasma para confirmar a concentração esperada. Tanto o

PRP quanto o plasma tinham aproximadamente zero leucócitos e eritrócitos. O plasma usado para tratamento também tinha aproximadamente zero plaquetas.

Todos os procedimentos foram realizados em cabines de proteção biológica (Veco Bioprotector®), de acordo com as recomendações da *Cell Medicine Society*(38). Os tratamentos foram preparados no laboratório RDO por uma única farmacêutica (Walquiria Rosendo), que trabalha no laboratório, não envolvida no estudo.

Desfechos

Os desfechos foram avaliados após 6, 12 e 24 semanas da data da alocação e primeira infiltração e se referem ao joelho estudado na última semana antes da avaliação. Foram permitidas avaliações no intervalo de 10 dias antes ou depois da data exata para adequação logística.

O desfecho primário foi:

- 1) EVA para dor geral na semana 24.

Os desfechos secundários foram:

- 1) EVA para dor em repouso;
- 2) EVA para dor em movimento;
- 3) Avaliação global (AVG) do médico;
- 4) AVG de melhora do participante, 0-100%;
- 5) Índice WOMAC(39, 40);
- 6) Índice de gravidade da Osteoartrite KOOS (*Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score*)(41, 42);
- 7) Escala likert para melhora: nenhuma melhora, melhora pobre, melhora razoável, melhora boa, excelente melhora;
- 8) Critério OMERACT-OARSI(43), definido como
 - A) melhora da dor ou função $\geq 50\%$ e melhora absoluta ≥ 20 ou
 - B) melhora de pelo menos 2 dos 3 critérios a seguir:

- i) dor $\geq 20\%$ e melhora absoluta ≥ 10 ,
- ii) função $\geq 20\%$ e melhora absoluta ≥ 10 ;
- iii) AVG do paciente $\geq 20\%$ e melhora absoluta ≥ 10 .

Para esse critério, a dor foi avaliada pela EVA para dor geral e a função pela subescala de função do WOMAC;

9) *Timed up and go test* (TUGT)(44);

10) consumo de analgésicos, avaliado em um diário para anotações de dor e tomada de analgésicos (Tabela 1).

Tabela 1 - Diagrama SPIRIT.

Procedimentos	Recrutamento e inclusão	Semana 0		Semana 2	Semana 6	Semana 12	Semana 24
		Alocação	Infiltração 1	Infiltração 2			
Avaliação clínica	x						
Avaliação radiográfica	x						
TCLE	x						
Variáveis descritivas e questionários		x					
Avaliação ultrassonográfica		x					
Cegamento		x	x	x	x	x	x
Intervenções: PRP, plasma ou placebo			x	x			
Eventos adversos				x			
Desfechos							
EVA dor geral		x			x	x	x
EVA dor em repouso		x			x	x	x
EVA dor em movimento		x			x	x	x
AVG do paciente					x	x	x
AVG do médico		x			x	x	x
Likert para melhora					x	x	x

WOMAC	x			x	x	x
KOOS	x			x	x	x
TUGT	x			x	x	x
Entrega do diário de consumo de analgésicos	x					
Orientação sobre uso de medicamentos	x	x	x	x	x	
Checagem do consumo de analgésicos			x	x	x	x

Randomização, alocação e cegamento

Uma lista de randomização foi gerada em blocos de 3 por uma pessoa não envolvida no estudo, utilizando a versão 2015a do programa MATLAB®. A alocação entre os grupos obedeceu a uma razão 1: 1: 1. Para a ocultação da alocação, letras correspondentes a cada grupo de tratamento foram colocadas em envelopes opacos numerados sequencialmente, de acordo com a lista de randomização e, em seguida, foram selados. Esses procedimentos também foram realizados por uma pessoa não envolvida no estudo. Para cada participante que entrou no estudo foi destinado um envelope na sequência.

Todos os participantes foram submetidos à coleta de sangue para manter o cegamento. Os envelopes foram abertos pela farmacêutica de laboratório que preparou os tratamentos, não envolvida no estudo. Após a preparação das seringas, ela as cobriu completamente (incluindo a base da agulha) com uma etiqueta adesiva branca não transparente, apenas com a identificação do participante, e as entregou ao médico que realizou as infiltrações guiadas. Todos os pesquisadores envolvidos foram cegados em todas as fases do estudo, sem acesso à lista de randomização e sem saber para qual grupo cada participante havia sido alocado. Todos os participantes estavam cegos. Além disso, a estatística trabalhou com os números 1, 2 e 3 sem saber a que tratamento cada número correspondia. A revelação dos grupos de tratamento ocorreu apenas após análise estatística inicial e produção dos resultados principais.

Análise estatística

O tamanho da amostra foi calculado de acordo com o desfecho primário na semana 24. Considerou-se uma redução de 2 cm na EVA para dor geral como a diferença mínima a ser detectada entre os grupos e um desvio padrão (DP) de 1,5, baseado no estudo de Patel et al(20). Admitiu-se um alfa de 5% e um poder de estudo (1 - beta) de 80%. Obteve-se o N de 15 participantes em cada um dos três grupos. Considerando-se uma perda de seguimento de 20%, o número mínimo de participantes em cada grupo deveria ser 18 e, portanto, o N total do estudo de 54 participantes. O cálculo foi realizado pelo software Action Stat Pro®.

Foram obtidos a média e o DP para variáveis contínuas e a distribuição das variáveis categóricas. Com o intuito de comparar os grupos na inclusão, foram considerados os testes Qui-quadrado ou Exato de Fisher (quando a premissa do número mínimo de 5 casos estimados no cruzamento entre categorias não era satisfeito) para as variáveis categóricas e ANOVA ou teste não paramétrico de Kruskal-Wallis (quando não podia ser assumida a distribuição normal das variáveis, testada a partir do teste de Kolmogorov-Smirnov) para as variáveis contínuas. Sendo um estudo com dados longitudinais, coletados nos tempos 0, 6, 12 e 24 semanas, foi utilizado o teste ANOVA com medidas repetidas para as variáveis contínuas. Por sua natureza de resposta, testes não paramétricos foram utilizados na avaliação da resposta likert (Teste de Friedman para dados pareados) e preenchimento do critério OMERACT-OARSI (Teste Q de Cochran para dados pareados). Foram considerados, para todos os testes, uma significância estatística de 5%. Os dados faltantes (*missing data*) foram tratados com imputação múltipla. As análises foram conduzidas utilizando-se o software SPSS versão 20.

4. RESULTADOS

Quinhentos e setenta e um participantes foram triados e 62 foram alocados aos grupos de tratamento (Figura 3). Cinquenta e sete (92%) eram do sexo feminino, com idade média de 65 anos e média de IMC de 28,0 Kg/m². Todos os grupos eram homogêneos na inclusão, exceto para o domínio esporte e recreação do KOOS, no qual o grupo plasma apresentou maior pontuação (melhores resultados) em relação ao grupo PRP, e para a presença de hipertrofia sinovial na ultrassonografia, na qual o grupo PRP apresentou graus mais baixos da escala de cinza em relação aos demais grupos (Tabela 2).

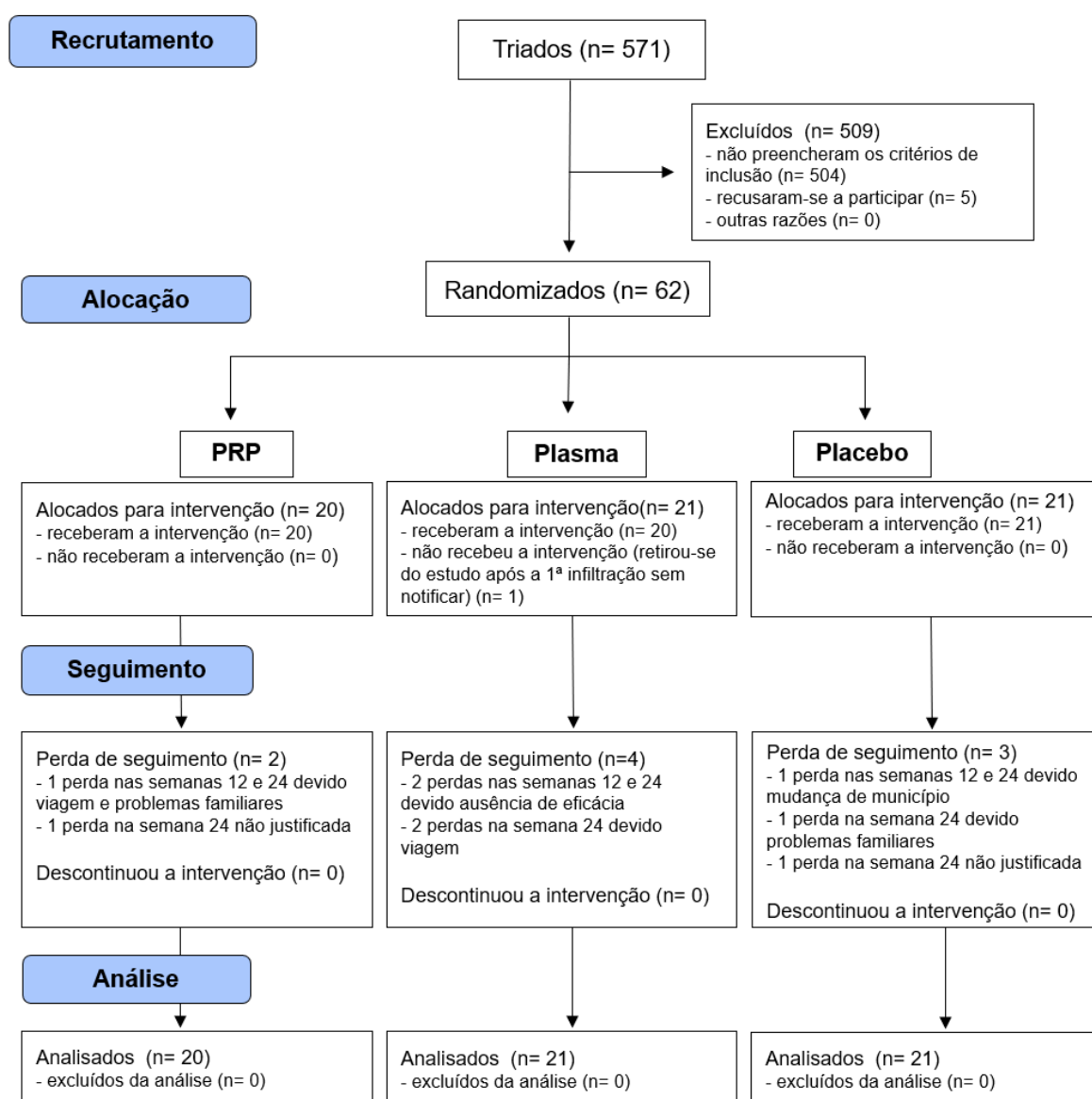


Figura 3 - Diagrama CONSORT.

Tabela 2 - Características dos participantes na inclusão do estudo.

Variáveis	PRP (N = 20)	Plasma (N = 21)	Placebo (N = 21)	p
Idade em anos, média (DP)	66,4 ± 5,6	66,1 ± 7,5	62,5 ± 8,1	0,159
Sexo, N (%)				1,000
Homens	1 (5%)	2 (10%)	2 (10%)	
Mulheres	19 (95%)	19 (90%)	19 (90%)	
IMC em Kg/m ² média (DP)	28,3 ± 4,1	28 ± 3,1	27,6 ± 3,8	0,844
IMC - categoria, N (%)				0,388
< 25	6 (30%)	4 (19%)	4 (19%)	
25-30	5 (25%)	11 (52%)	11 (52%)	
30-35	9 (45%)	6 (29%)	6 (29%)	
Joelho, N (%)				0,811
Esquerdo	9 (45%)	9 (43%)	11 (52%)	
Direito	11 (55%)	12 (57%)	10 (48%)	
Raio X, N (%)				0,948
KL2	13 (65%)	13 (62%)	14 (67%)	
KL3	7 (35%)	8 (38%)	7 (33%)	
Atividade física, N (%)				0,451
Não	12 (60%)	9 (43%)	9 (43%)	
Sim	8 (40%)	12 (57%)	12 (57%)	
Comorbidades ^a , N (%)				0,791
Não	4 (20%)	5 (24%)	3 (14%)	
Sim	16 (80%)	16 (76%)	18 (86%)	
Duração dos sintomas em anos, média (DP)	8,4 ± 6,5	7 ± 8,1	7,1 ± 6,9	0,399
EVA de dor, média (SD)				
Geral	6,1 ± 1,6	5,9 ± 1,4	6,6 ± 1,4	0,317
Em repouso	2,5 ± 2,3	1,5 ± 1,9	1,9 ± 1,9	0,164
Em movimento	6,8 ± 2,1	6,8 ± 2,1	6,8 ± 2	0,994
AVG médico 0-10 cm, média (DP)	4,6 ± 1,9	4,6 ± 1,5	4,1 ± 1,7	0,592
WOMAC, média (DP)				
Dor	10,7 ± 3,2	9,2 ± 2,5	11 ± 3,1	0,114
Rigidez	4,4 ± 1,7	4 ± 1,4	4,3 ± 1,8	0,485
Função	37,9 ± 11,6	33,5 ± 11,2	37 ± 12	0,451
Total	52,9 ± 15,5	46,7 ± 14,3	52,3 ± 15,9	0,356
KOOS, média (DP)				
Sintomas	46,1 ± 21	56,1 ± 21,6	45,4 ± 15,9	0,151
Dor	42,9 ± 15,3	50,8 ± 17,5	40,7 ± 14,6	0,107
Atividades diárias	44,4 ± 15,3	51,8 ± 18,6	45,4 ± 16,2	0,310
Esporte e recreação	12,8 ± 10,9	29,8 ± 21	17,4 ± 12,2	0,002
Qualidade de vida	18,1 ± 13,9	29,5 ± 16,4	25 ± 15,3	0,065
TUGT, média (DP)	13,6 ± 2,8	13,8 ± 3,1	13,6 ± 3	0,971
US - sinovite, N (%)				0,016
Não	6 (30%)	2 (10%)	1 (5%)	
GS1	8 (40%)	6 (29%)	2 (10%)	
GS2	4 (20%)	5 (24%)	7 (33%)	
GS3	2 (10%)	8 (38%)	11 (52%)	
US - power doppler, N (%)				0,386
Não	16 (80%)	17 (81%)	18 (86%)	

Grau 1	1 (5%)	3 (14%)	3 (14%)	
Grau 2	3 (15%)	1 (5%)	0 (0%)	
US – derrame articular, N (%)				0,667
Não	6 (30%)	2 (10%)	3 (14%)	
0-2mm	2 (10%)	3 (14%)	1 (5%)	
2-4mm	5 (25%)	6 (29%)	5 (24%)	
4-6mm	4 (20%)	3 (14%)	6 (29%)	
> 6mm	3 (15%)	7 (33%)	6 (29%)	
US - cartilagem ^b , N (%)				0,243
1	0 (0%)	3 (14%)	1 (5%)	
2A	13 (65%)	8 (38%)	13 (62%)	
2B	3 (15%)	8 (38%)	4 (19%)	
3	4 (20%)	2 (10%)	3 (14%)	

^a As mais frequentes foram hipertensão arterial sistêmica e dislipidemia.

^b Para a classificação da cartilagem, consulte o texto na página 13.

O desfecho primário, EVA para dor geral em 24 semanas, mostrou melhora significativa nos 3 grupos, mas sem diferença estatística entre eles (Tabela 3, Figura 4). A média do delta de melhora para a dor geral foi -2,9 (DP 2,5), -2,4 (DP 2,5) e -3,5 (DP 3,3) cm para os grupos PRP, plasma e soro fisiológico, respectivamente (p intergrupo = 0,499). Nas semanas 6 e 12 também não houve diferença estatística entre os grupos.

Tabela 3 - Resultados.

Variáveis	Grupos	Inclusão	Semana 6	Semana 12	Semana 24	p intergrupo ^a
EVA para dor geral, média (DP)	PRP	6,1 (1,6)	3,7 (2,4)	2,0 (1,4)	3,2 (2,5)	0,483
	Plasma	5,9 (1,4)	3,7 (2,5)	3,2 (2,8)	3,5 (2,4)	
	Placebo	6,6 (1,4)	3,5 (2,1)	3,9 (2,7)	3,1 (2,6)	
EVA para dor geral (delta de melhora), média (DP)	PRP	-	-2,4 (2,7)	-4,1 (1,6)	-2,9 (2,5)	0,499
	Plasma	-	-2,2 (2,3)	-2,7 (3,0)	-2,4 (2,5)	
	Placebo	-	-3,1 (2,5)	-2,7 (3,2)	-3,5 (3,3)	
EVA para dor geral, % de melhora, média (DP)	PRP	-	-36,5 (39,7)	-67,0 (23,0)	-46,4 (41,3)	ns ^b
	Plasma	-	-36,2 (39,8)	-43,5 (55,6)	-38,0 (50,4)	
	Placebo	-	-43,4 (46,5)	-35,8 (52,5)	-46,5 (54,3)	
EVA de dor em repouso, média (DP)	PRP	2,5 (2,3)	1,2 (1,6)	0,6 (0,8)	1,6 (2,2)	0,216
	Plasma	1,5 (1,9)	0,8 (1,1)	0,6 (0,7)	0,9 (0,9)	
	Placebo	1,9 (1,9)	1,6 (2,0)	1,0 (1,2)	1,4 (2,3)	
EVA de dor em movimento, média (DP)	PRP	6,8 (2,1)	4,7 (2,8)	3,7 (2,3)	3,7 (2,8)	0,928
	Plasma	6,8 (2,1)	4,5 (3,1)	3,9 (3,1)	4,0 (2,7)	
	Placebo	6,8 (2,0)	4,2 (2,2)	3,9 (2,9)	3,5 (2,6)	
AVG do médico 0-10 cm, média (DP)	PRP	4,6 (1,9)	3,3 (2,0)	2,3 (1,4)	3,0 (2,0)	0,634
	Plasma	4,6 (1,5)	3,1 (2,0)	2,9 (2,1)	3,1 (1,8)	
	Placebo	4,1 (1,7)	2,7 (1,8)	2,5 (1,5)	2,7 (2,0)	
AVG de melhora do participante (0-100%), média (DP)	PRP	-	48,0 (29,9)	67,3 (21,6)	56,3 (29,2)	0,639
	Plasma	-	59,0 (25,3)	63,2 (24,5)	67,7 (18,8)	
	Placebo	-	59,0 (27,0)	57,7 (31,1)	66,7 (25,4)	
Likert para melhora ^c , %	PRP	-	0 – 10%	0 – 0%	0 – 5%	ns ^d
			1 – 15%	1 – 5%	1 – 20%	
			2 – 25%	2 – 20%	2 – 15%	
			3 – 45%	3 – 60%	3 – 35%	
			4 – 5%	4 – 15%	4 – 25%	
	Plasma	-	0 – 5%	0 – 0%	0 – 0%	
			1 – 10%	1 – 15%	1 – 5%	
			2 – 35%	2 – 20%	2 – 40%	

			3 – 45%	3 – 50%	3 – 35%	
			4 – 5%	4 – 15%	4 – 20%	
	Placebo	-	0 – 10%	0 – 14%	0 – 5%	
			1 – 10%	1 – 10%	1 – 14%	
			2 – 33%	2 – 19%	2 – 5%	
			3 – 38%	3 – 48%	3 – 67%	
			4 – 10%	4 – 10%	4 – 10%	
WOMAC dor, média (DP)	PRP	10,7 (3,2)	7,9 (3,7)	5,6 (2,6)	6,6 (3,5)	0,561
	Plasma	9,2 (2,5)	6,8 (3,6)	6,1 (3,9)	6,5 (3,6)	
	Placebo	11,0 (3,1)	7,4 (3,5)	7,1 (2,8)	6,2 (2,3)	
WOMAC rigidez, média (DP)	PRP	4,4 (1,7)	2,8 (1,7)	2,1 (1,0)	2,7 (1,6)	0,713
	Plasma	4,0 (1,4)	2,9 (1,7)	2,6 (1,9)	2,5 (1,7)	
	Placebo	4,3 (1,8)	2,8 (1,6)	3,0 (1,5)	2,8 (1,5)	
WOMAC função, média (DP)	PRP	37,9 (11,6)	25,8 (12,0)	21,2 (9,8)	23,5 (14,3)	0,847
	Plasma	33,5 (11,2)	25,4 (13,9)	20,9 (14,6)	24,2 (15,5)	
	Placebo	37,0 (12,0)	26,6 (12,5)	24,7 (10,0)	22,6 (11,0)	
WOMAC total, média (DP)	PRP	52,9 (15,5)	36,4 (16,7)	28,9 (12,6)	32,7 (18,9)	0,787
	Plasma	46,7 (14,3)	35,0 (18,5)	29,6 (19,9)	33,2 (20,3)	
	Placebo	52,3 (15,9)	36,9 (17,1)	34,9 (13,5)	31,6 (14,4)	
KOOS sintomas, média (DP)	PRP	46,1 (21,0)	67,0 (19,0)	71,4 (13,2)	63,9 (21,2)	0,442
	Plasma	56,1 (21,6)	66,3 (18,1)	69,4 (20,0)	66,0 (23,6)	
	Placebo	45,4 (15,9)	63,6 (15,8)	59,9 (17,1)	65,3 (17,4)	
KOOS dor, média (DP)	PRP	42,9 (15,3)	63,9 (18,7)	67,6 (12,5)	62,4 (20,1)	0,434
	Plasma	40,8 (17,5)	61,9 (19,3)	67,5 (21,9)	66,1 (21,0)	
	Placebo	40,7 (14,6)	58,7 (13,9)	59,4 (16,2)	66,1 (16,7)	
KOOS Atividades diárias, média (DP)	PRP	44,4 (15,3)	64,3 (18,3)	68,3 (17,0)	64,0 (20,7)	0,607
	Plasma	51,8 (18,6)	65,9 (19,0)	70,4 (21,8)	67,7 (19,7)	
	Placebo	45,4 (16,2)	62,0 (16,0)	63,3 (15,4)	68,6 (16,7)	

KOOS esporte e recreação, média (DP)	PRP	12,8 (10,9)	27,8 (19,0)	35,5 (21,0)	32,8 (21,1)	0,031^e
	Plasma	29,8 (21,0)	38,8 (27,8)	51,7 (30,3)	46,0 (25,2)	
	Placebo	17,4 (12,2)	33,8 (20,7)	35,7 (16,4)	40,7 (21,6)	
KOOS qualidade de vida, média (DP)	PRP	18,1 (13,9)	33,1 (21,4)	48,1 (22,0)	39,1 (22,4)	0,336
	Plasma	29,5 (16,4)	42,3 (25,4)	51,5 (27,5)	45,2 (22,7)	
	Placebo	25,0 (15,3)	39,0 (20,2)	43,2 (16,9)	50,6 (22,7)	
Critério OMERACT-OARSI, %	PRP	-	75%	95%	80%	ns ^f
	Plasma	-	70%	85%	80%	
	Placebo	-	81%	76%	86%	

^a Este p representa a diferença entre os grupos; houve diferença estatisticamente significativa intragrupo para todos os parâmetros da inclusão (semana 0) em relação às semanas 6, 12 e 24.

^b p intergrupo, semana 6: p = 0,823; semana 12: p = 0,162; semana 24: p = 0,814.

^c 0 – nenhuma melhora; 1 - melhora pobre; 2 - melhora razoável; 3 - melhora boa; 4 - melhora excelente.

^d p intergrupo, semana 6: p = 0,986; semana 12: p = 0,712; semana 24: p = 0,076. Houve diferença significativa no grupo PRP entre as semanas 6 e 12 (p = 0,003) sugerindo melhores respostas na semana 12.

^e A diferença ocorreu devido à diferença entre os grupos PRP e plasma (p = 0,03) da semana 6 para a semana 12 (p = 0,005).

^f p intergrupo, semana 6: p = 0,767; semana 12: p = 0,268; semana 24: p = 0,872.

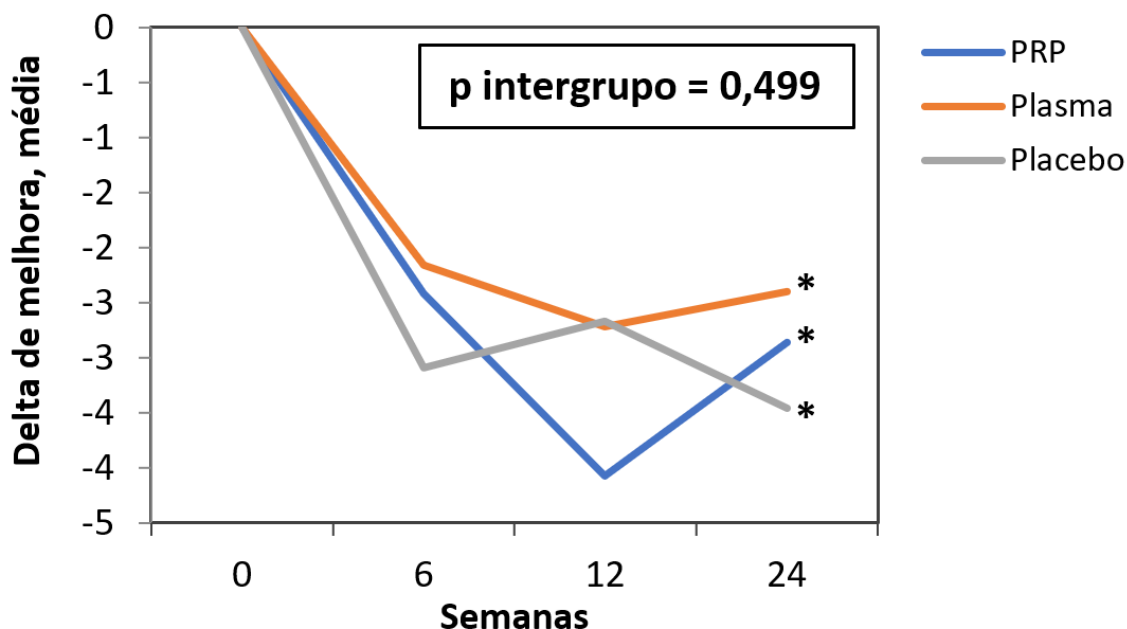


Figura 4. EVA para dor geral, delta de melhora.

*Para todos os 3 grupos: p intragrupo < 0,001; p < 0,001 entre a inclusão (semana 0) e as semanas 6, 12 e 24; p > 0,05 entre as semanas 6, 12 e 24.

Para quase todos os desfechos secundários avaliados, também houve diferença significativa entre os resultados pré e pós-tratamento, com melhora dos parâmetros avaliados nos 3 grupos, mas sem diferença estatística entre eles (Tabela 3, Anexo C). Analisando a escala likert para melhora, houve uma diferença significativa no grupo PRP entre as semanas 6 e 12, sugerindo melhores respostas na semana 12 ($p = 0,003$). A subescala esporte e recreação do KOOS também mostrou resultados diferentes entre os grupos, mas com o mesmo padrão identificado na inclusão.

Os participantes do grupo PRP apresentaram frequência significativamente maior de eventos adversos (65% versus 25% no grupo plasma e 33% no grupo placebo, p intergrupo = 0,025), porém não houve diferença entre os grupos quanto ao tipo, intensidade e duração (Tabela 4). O mais comum foi a dor, de intensidade leve ou moderada, com duração média de 2,1 (DP 1,3) dias.

Tabela 4. Eventos adversos.

Eventos adversos (EA), n (%)	PRP (n = 20)	Plasma (n = 21)	Placebo (n = 21)	p
Não	7 (35%)	16 (76%)	14 (67%)	0,025
Sim	13 (65%)	5 (24%)	7 (33%)	
Tipo de EA, N (%)				0,914
Dor	8 (40%)	5 (24%)	5 (24%)	
Edema	1 (5%)	0 (0%)	1 (5%)	
Equimose/sangramento	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	
Outros	1 (5%)	0 (0%)	0 (0%)	
Mais de um (inclui dor)	3 (15%)	0 (0%)	1 (5%)	
Intensidade da dor, N (%)				0,202
0 - leve (0 a < 3)	6 (30%)	2 (10%)	4 (19%)	
1 - moderada (3 a ≤ 8)	7 (35%)	2 (10%)	1 (5%)	
2 - intensa (> 8 a 10)	0 (0%)	1 (5%)	2 (10%)	
Duração da dor em dias, média (DP)	2,1 (1,3)	2,2 (1,1)	3,6 (2,9)	0,681

Não foi possível avaliar o consumo de analgésicos em cada grupo porque poucos participantes preencheram adequadamente seus diários, porém não houve diferença entre os grupos em uma análise qualitativa. Para todos os participantes (N = 62), dados faltantes (*missing data*) ocorreram para 6 (9,7%) deles na semana 6, 7 (11,3%) na semana 12 e 10 (16,1%) na semana 24.

Subanálises

Foram realizadas algumas subanálises pois, apesar da ausência de diferença entre os grupos, foi observada uma melhora numérica EVA para dor geral na semana 12 no grupo PRP. Avaliando-se então, na semana 12, a distribuição da porcentagem de melhora (referente ao delta de melhora) por quartis, no grupo PRP, 75% dos participantes tiveram uma melhora superior a 59,4%, enquanto os outros grupos tiveram menor porcentagem de melhora (Figura 5).

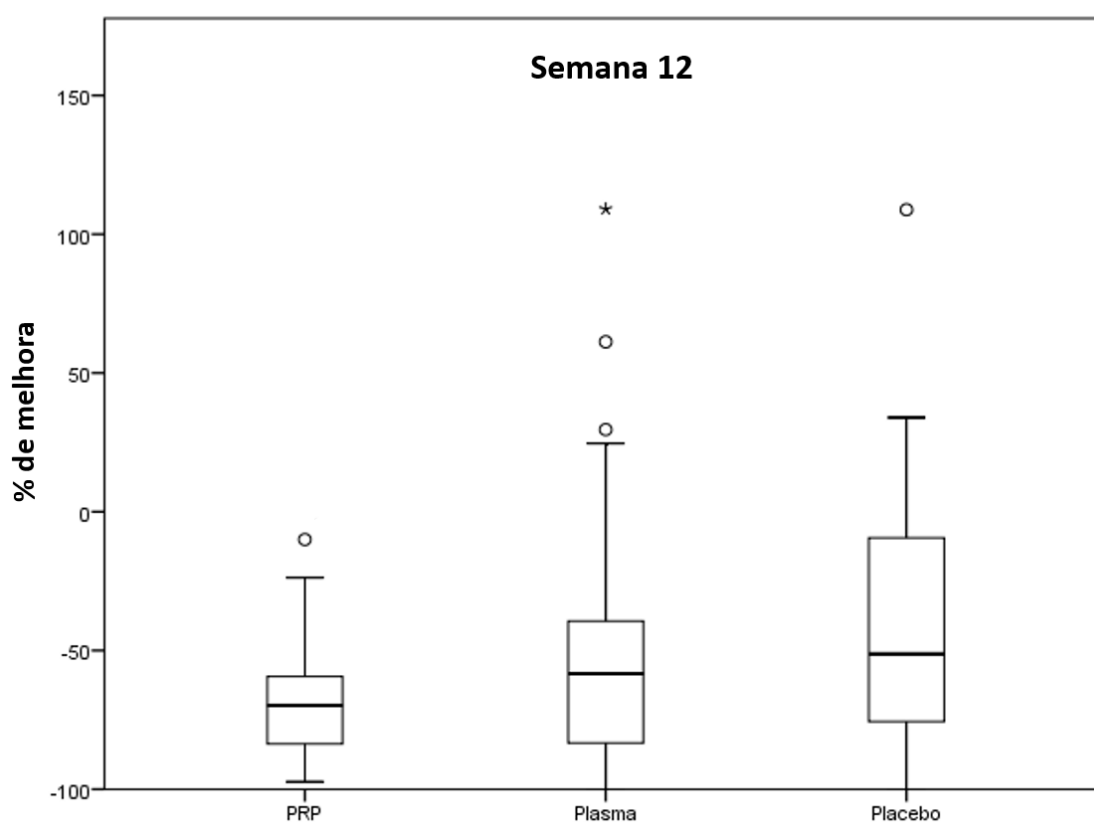


Figura 5 - Distribuição por quartis da porcentagem de melhora (referente ao delta de melhora) da EVA para dor geral na semana 12.

Também analisamos subgrupos na tentativa de encontrar um preditor de melhora com PRP ou plasma:

- i) EVA para dor geral < 6 versus ≥ 6 cm na inclusão;
- ii) KL2 versus KL3 na inclusão;
- iii) sinovite graus 0 ou 1 versus 2 ou 3 na inclusão;

- iv) *power doppler* ausente versus presente na inclusão;
- v) derrame articular < 4 mm versus ≥ 4 mm na inclusão;
- vi) EVA para dor geral comparando apenas dois grupos (PRP versus placebo);
- vii) respondedores "maiores" OMERACRT-OARSI versus respondedores "menores" mais não respondedores, com respondedores "maiores" definidos como melhora na dor ou função $\geq 50\%$ e melhora absoluta ≥ 20 ;
- viii) taxa de piora (porcentagem de participantes com piora) em cada grupo;
- ix) volume de PRP e plasma infiltrado $\leq 3,2$ ml versus $> 3,2$ ml.

Em todas essas análises, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (Anexo D).

5. DISCUSSÃO

Os resultados evidenciaram a melhora nos grupos PRP, plasma e placebo nas semanas 6, 12 e 24 para os principais desfechos avaliados: EVA para dor geral, WOMAC, KOOS e OMERACT-OARSI. No entanto, não houve diferença na resposta entre os grupos ao longo do tempo de avaliação. Na semana 12, encontramos uma diferença numérica que sugere uma tendência de melhora dos parâmetros avaliados no grupo PRP em relação aos demais, mas sem significância estatística. Por outro lado, essa tendência pode ser valorizada se considerarmos a diferença estatisticamente significativa que ocorreu no grupo PRP na avaliação da escala likert para melhora entre as semanas 6 e 12 (Tabela 3).

A literatura atual é divergente quanto ao real efeito do PRP no tratamento da OA de joelhos(16). Esse fato pode, entre outros aspectos, dever-se à falta de padronização dos protocolos dos estudos, às diferentes técnicas de preparo do PRP e aos diferentes intervalos e número de infiltrações articulares(16). O PRP utilizado neste estudo utilizou técnica simples, foi fresco, não congelado, obtido por dupla centrifugação, pobre em leucócitos e não ativado. Continha uma média de 1×10^6 plaquetas/mm³, ou seja, aproximadamente 3 vezes a contagem basal de plaquetas no sangue periférico, com volume variável de 1,4 a 5 ml e aplicado com intervalo de 2 semanas. A vantagem do PRP fresco é a diminuição, pelo menos em tese, da perda de função dos produtos plaquetários que pode ocorrer no armazenamento do PRP congelado, como foi usado em alguns estudos(28, 45, 46) e, portanto, maior efetividade(16). O PRP com baixa concentração de leucócitos mostrou maior eficácia prévia para a OA de joelhos(47) quando comparado a PRPs ricos em leucócitos(48), com menor reação inflamatória local(49). A ativação provavelmente não é necessária porque pode ser alcançada por mecanismos endógenos após a infiltração(16) e não é embasada pela literatura(47). A dupla centrifugação poderia proporcionar maior concentração de plaquetas no PRP(50), apesar dessa estratégia ainda não ter confirmação definitiva(47), e maior concentração de leucócitos(51), o que não foi confirmado neste estudo. O volume do PRP infiltrado foi menor que o utilizado em alguns estudos(16, 25), mas não há padronização na literatura(47) e a contagem absoluta final de plaquetas foi semelhante à infiltrada por Patel et al(29). Outros estudos realizaram um total de 1 a 4 infiltrações, com intervalos

de 1 a 4 semanas(16, 23, 25, 52). Por fim, as infiltrações guiadas por ultrassom foram um diferencial do nosso estudo e, pelo que sabemos, foram realizadas apenas em um estudo anterior(53).

Apenas três estudos utilizaram placebo como comparador do PRP até o momento, todos sugerindo superioridade do PRP(27-29), o que diferiu dos achados deste estudo. O uso de placebo foi importante devido a essa pequena quantidade de estudos, os quais apresentam falhas de qualidade, na literatura. A maioria dos ensaios clínicos usou o AH como comparador. No entanto, esse tratamento não pode ser considerado um padrão-ouro para o tratamento da OA, pois ainda existe divergência em relação à sua eficácia(52). Além disso, seu tamanho do efeito pode ter interferido na quantificação do tamanho de efeito real do PRP.

O presente estudo foi o primeiro do nosso conhecimento a testar o plasma fresco (sem plaquetas) como uma opção terapêutica. A justificativa foi avaliar se o possível benefício do PRP demonstrado em outros estudos estava de fato relacionado às plaquetas e seus produtos ou se havia participação de outros componentes do plasma, como albumina, fatores de coagulação, imunoglobulinas, eletrólitos etc. O soro autólogo condicionado, por exemplo, já havia sido testado para o tratamento da OA de joelhos, devido às suas propriedades anti-inflamatórias, com resultados positivos(54).

A resposta ao placebo nos ensaios clínicos para tratamento da OA é frequente e dificulta a avaliação da resposta ao tratamento(30, 55). É cerca de 30%(52), mas alguns estudos já relataram valores mais altos(56), como um estudo clássico com glicosamina e condroitina para tratamento da OA de joelhos, que identificou 60% de resposta ao placebo(57). No presente estudo, a resposta ao placebo foi de cerca de 50% e acreditamos que possa ter sido potencializada pelos fatores contextuais relacionados ao contato próximo dos participantes com o único pesquisador que fez o recrutamento e as avaliações(58). Além disso, sabe-se que tratamentos invasivos, como infiltrações, determinam respostas maiores do que as pílulas em OA(30, 55).

A alta taxa de melhora com as infiltrações de soro fisiológico nos faz questionar se ela realmente foi decorrente do efeito placebo ou se existe um

possível efeito analgésico do soro fisiológico, como recentemente sugerido em algumas revisões e metanálises(59-61). A esse respeito, o soro fisiológico pode ter sido um fator de confusão em vários ensaios clínicos nos quais foi usado como comparador placebo e ter influenciado a divergência dos resultados. O mecanismo de ação do soro fisiológico pode estar relacionado à alteração da osmolaridade no líquido sinovial e a uma possível participação do sódio na fisiopatologia da OA(59-62). Estudos futuros comparando soro fisiológico com um procedimento *sham*, por exemplo, podem ajudar a elucidar essa questão.

Os efeitos adversos foram duas vezes mais frequentes no grupo PRP em comparação com os outros grupos. O sintoma mais frequente foi dor leve ou moderada, com duração média de 2 dias. Esses resultados foram semelhantes aos descritos por outros ensaios clínicos, que descrevem sintomas leves ou a ausência deles, sem comprometimento dos resultados(52).

Algumas limitações podem ser apontadas neste estudo. O tamanho da amostra e a grande variabilidade nos resultados podem ter contribuído para a ausência de diferença entre os grupos na avaliação dos principais desfechos. O volume total do PRP infiltrado foi variável, diferente de outros estudos que utilizaram volumes maiores e fixos(23), apesar da ausência de padronização na literatura até o momento. Por fim, não foi realizada nova ultrassonografia ao final do estudo para avaliação do efeito do PRP ou do plasma em parâmetros estruturais, como sinovite, derrame articular e quantificação da cartilagem.

6. CONCLUSÕES

O PRP pobre em leucócitos, preparado por dupla centrifugação e aplicado com intervalo de 2 semanas e o plasma sem plaquetas não foram superiores ao placebo na melhora da dor e função em participantes com OA de joelhos ao longo de 24 semanas. Apesar disso, na 12 foi encontrada uma melhora significativa no grupo PRP, em relação à semana 6, na avaliação de melhora pela escala likert. O grupo PRP teve uma frequência mais alta de efeitos adversos, mas o tipo e a intensidade não variaram entre os grupos. Estudos futuros comparando PRP com placebo e com protocolos de preparo e regimes de infiltração mais homogêneos são necessários para confirmar os resultados deste estudo.

7. ANEXOS

ANEXO A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

HOSPITAL DAS CLÍNICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO-HCFMUSP

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME:
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº: SEXO: M F
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO Nº APTO:
- BAIRRO CIDADE
- CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)
2. RESPONSÁVEL LEGAL
- NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
- DOCUMENTO DE IDENTIDADE :.....SEXO: M F
- DATA NASCIMENTO:/...../.....
- ENDEREÇO:Nº APTO:
- BAIRRO: CIDADE:
- CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS DA PESQUISA

1. TÍTULO DA PESQUISA

Avaliação da aplicação de plasma rico em plaquetas e plasma na osteoartrite de joelhos.

2. PESQUISADOR PRINCIPAL: **Dr. Ricardo Fuller**

CARGO: Assistente do Serviço de Reumatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

CONSELHO REGIONAL Nº 41495/SP

3. DEPARTAMENTO / INSTITUTO: Disciplina de Reumatologia. Departamento de Clínica Médica / Instituto Central / Prédio dos Ambulatórios

UNIDADE DO HCFMUSP: Ambulatório de Reumatologia do Hospital das Clínicas de São Paulo da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO RISCO MÉDIO
RISCO BAIXO X RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: 3 anos

Prezado senhor(a), como você tem Osteoartrite (popularmente conhecida como artrose), você está sendo convidado (a) a participar desse estudo que avaliará a aplicação do Plasma Rico em Plaquetas (PRP) na osteoartrite de joelhos. A osteoartrite é a doença reumatológica de maior frequência no mundo, porém o seu tratamento com medicamentos ainda é pouco eficaz.

O PRP é composto por substâncias e fragmentos de células que são retiradas do seu próprio sangue e que possuem capacidade de recuperar tecidos, entre eles a cartilagem e osso. O uso do PRP para o tratamento da osteoartrite de joelhos já foi demonstrado em estudos em animais e em estudos em seres humanos. No entanto, os resultados ainda não são totalmente conclusivos, em virtude de falhas nos estudos existentes na literatura médica. O objetivo deste estudo é avaliar a eficácia de injeções do PRP no seu joelho com osteoartrite. Para que haja mais precisão na aplicação da injeção no joelho com osteoartrite, esse procedimento será guiado por ultrassom.

Para testar a eficácia do PRP na dor da osteoartrite, ele será comparado com o soro fisiológico (que chamaremos de placebo) e com o plasma, que também é uma parte do seu próprio sangue composta por água e proteínas, sem nenhuma célula.

Sua participação consistirá em permitir: a leitura do seu prontuário médico, realização de uma entrevista, exame físico, retirada de 40 mililitros de sangue (4 colheres de sopa), para formulação do Plasma Rico em Plaquetas -PRP) ou de plasma. Você também fará exames de raios-x e ultrassom dos joelhos.

Após essa avaliação inicial você será submetido(a) a um procedimento de infiltração dos joelhos que significa introdução de uma agulha no joelho para injeção de medicação que é realizada por um médico com experiência e com adequada anestesia local para você não ter dor. A infiltração do seu joelho poderá ser realizada ou com PRP (+ anestesia da pele) ou com soro fisiológico (+ anestesia da pele) ou com plasma (+ anestesia da pele). Desse modo, poderemos

fazer uma comparação para sabermos se realmente a infiltração com PRP melhora a sua doença.

Assim, você poderá ser sorteado para o grupo que irá receber PRP ou para o grupo que irá receber infiltração com soro fisiológico ou para o grupo que receberá o plasma. Tanto você como o médico que o avaliará durante este estudo não saberão em qual grupo você está durante o tempo que durar a pesquisa. Esse dado será conhecido por um outro médico que não estará realizando diretamente suas consultas. Esse processo visa a obtenção de dados sem o sugestionamento tanto do paciente como do médico. Se houver algum efeito colateral, a equipe médica poderá a qualquer momento revelar em qual grupo você está, caso essa atitude seja a melhor para sua saúde.

O risco da realização desta infiltração é baixo. Pode ocorrer desconforto produzido pelo procedimento de infiltração na articulação, como formação de um hematoma (“sangue no local da infiltração”) e dor. Existe o risco muito raro de infecções local e lesão de tendão. Serão tomadas todas as medidas (limpeza adequada da sua pele e infiltração guiada por ultrassom), para evitar estes desconfortos e complicações. Para a realização desta infiltração serão utilizados somente materiais esterilizados e descartáveis.

Participando deste estudo, vamos ver se a aplicação do plasma rico em plaquetas melhora a osteoartrite de joelhos e desta maneira poder usar esta infiltração nos pacientes que tem osteoartrite de joelhos. Não será dado dinheiro para as suas despesas pessoais em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Também não há compensação em dinheiro para a sua participação

Você terá o direito de ser mantido atualizado sobre os resultados parciais da pesquisa, quando o resultado for do conhecimento dos pesquisadores.

Os resultados poderão ser fornecidos periodicamente; e, se desejar, poderá deixar de participar do estudo a qualquer momento, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição, sendo sua participação neste trabalho confidencial, e sua identidade mantida em sigilo.

Em qualquer etapa do estudo, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de dúvidas: **O principal investigador é o Dr. Ricardo Fuller que pode ser encontrado no Ambulatório de Reumatologia - Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 155 – 5º andar – Bloco 4A – Cerqueira César, fone (11) 26616105.**

Se houver alguma dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) – Rua Ovídio Pires de Campos, 225 – 5º andar – tel: 2661-6442 ramais 16, 17, 18 ou (11) 2661-7585; e E-mail: **cappesq.adm@hc.fm.usp.br**.

Acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo

Eu discuti com o Dr Ricardo Fuller sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os objetivos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de sigilo e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.

Assinatura do paciente/representante legal Data ____ / ____ / ____

Assinatura da testemunha Data ____ / ____ / ____

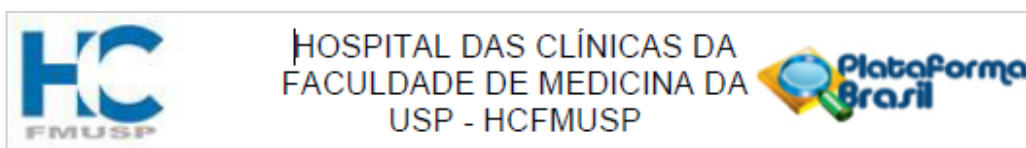
Para casos de pacientes menores de 18 anos, analfabetos, semi-analfabetos ou portadores de deficiência auditiva ou visual.

(Somente para o responsável do projeto)

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste paciente ou representante legal para a participação neste estudo.

Assinatura do responsável pelo estudo Data ____ / ____ / ____

ANEXO B – Aprovação CAPPesq



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Avaliação da aplicação de plasma rico em plaquetas na osteoartrite de joelhos.

Pesquisador: Ricardo Fuller

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 57161216.8.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.629.287

Apresentação do Projeto:

Trata-se de estudo clínico prospectivo randomizado em pacientes com osteoartrite do joelho.

No desenho do estudo, há descrição de criteriosa seleção de pacientes, realização de infiltração guiada por ultrassonografia, avaliação dos resultados seguindo a padronização para estudos clínicos em Osteoartrite (OMERACT-OARSI) e a avaliação com radiografia convencional.

No método, será comparado o uso de Plasma Rico em Plaquetas preparado pelo método de dupla centrifugação versus solução fisiológica.

Desenho do estudo bem apresentado.

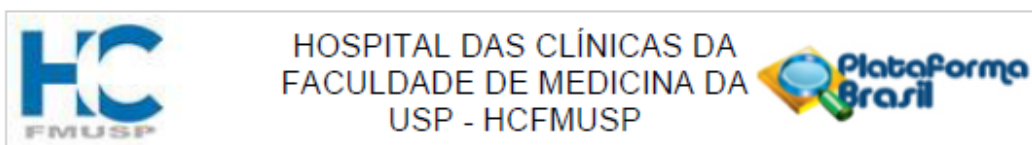
Objetivo da Pesquisa:

Objetivo do estudo: Avaliar a efetividade da infiltração intra-articular do PRP guiado por ultrassom no controle dos sintomas da osteoartrite de joelho.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Adequados. Trata-se de assunto controverso, que demanda pesquisa para maior esclarecimento. No Brasil, o uso terapêutico do PRP, no momento atual, por recomendação do CFM, está restrito a protocolos de pesquisa.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.629.267

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Desenho do estudo adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Adequado.

Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

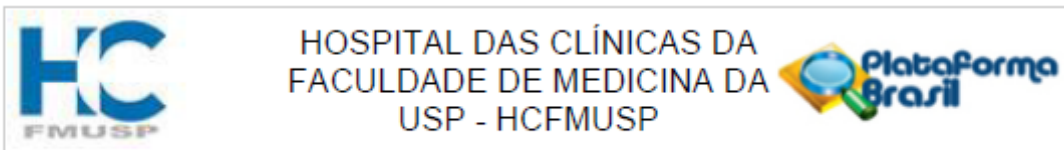
Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_712579.pdf	17/06/2016 14:09:28		Aceito
Outros	15059_CPP.pdf	17/06/2016 14:09:09	Ricardo Fuller	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoassinada.pdf	15/06/2016 06:44:54	Ricardo Fuller	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	Tcle_maio2016_PRP.docx	06/05/2016 14:40:09	Ricardo Fuller	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PRP_maio2016.docx	06/05/2016 14:39:39	Ricardo Fuller	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 1.629.267

Não

SAO PAULO, 08 de Julho de 2016

Assinado por:
Joel Faintuch
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
UF: SP Município: SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Avaliação da aplicação de plasma rico em plaquetas na osteoartrite de joelhos.

Pesquisador: Ricardo Fuller

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 57161216.8.0000.0068

Instituição Proponente: HOSPITAL DAS CLINICAS DA FACULDADE DE MEDICINA DA U S P

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.073.126

Apresentação do Projeto:

Trata-se de emenda ao projeto de pesquisa original para inclusão de novo braço em estudo prospectivo randomizado cuja intervenção consiste na infiltração intra articular de PRP, plasma ou solução salina.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar prospectivamente infiltração intra articular de PRP, plasma ou solução salina em pacientes com osteoartrite do joelho. Nesta emenda os autores incluíram o grupo plasma.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Mantidos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Adequado. Emenda com justificativa coerente.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adequados.

Recomendações:

Aprovação.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovação.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)2661-7585

Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE



Continuação do Parecer: 2.073.126

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_801204_E1.pdf	24/04/2017 06:55:37		Aceito
Outros	FormularioEmenda.pdf	24/04/2017 06:48:18	Ricardo Fuller	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLEemenda.docx	24/04/2017 06:46:36	Ricardo Fuller	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PRP_projeto_modificado.doc	17/03/2017 15:57:29	Ricardo Fuller	Aceito
Folha de Rosto	folhaderostoassinada.pdf	15/06/2016 06:44:54	Ricardo Fuller	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 19 de Maio de 2017

Assinado por:

ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador)

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar

Bairro: Cerqueira Cesar

CEP: 05.403-010

UF: SP

Município: SAO PAULO

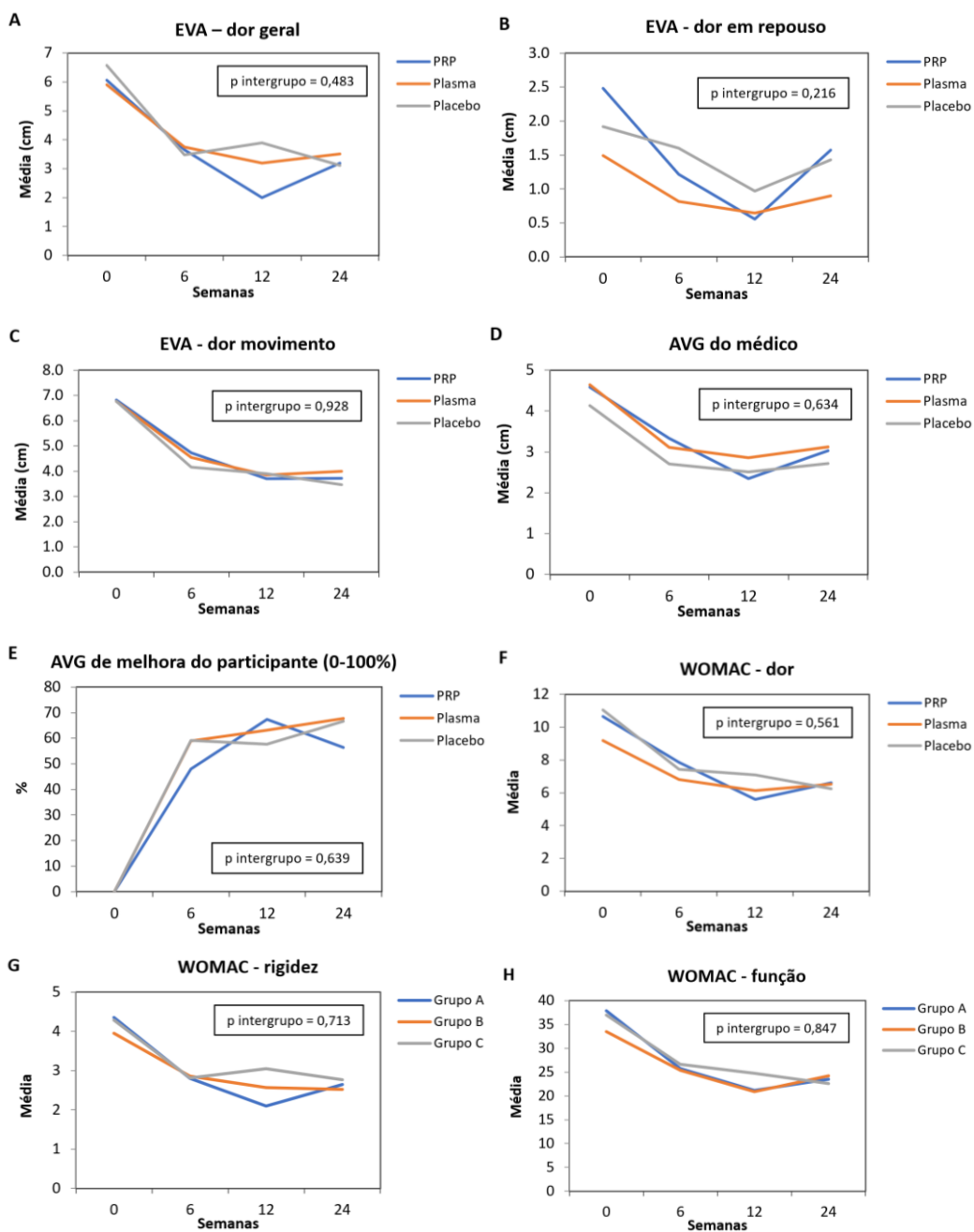
Telefone: (11)2661-7585

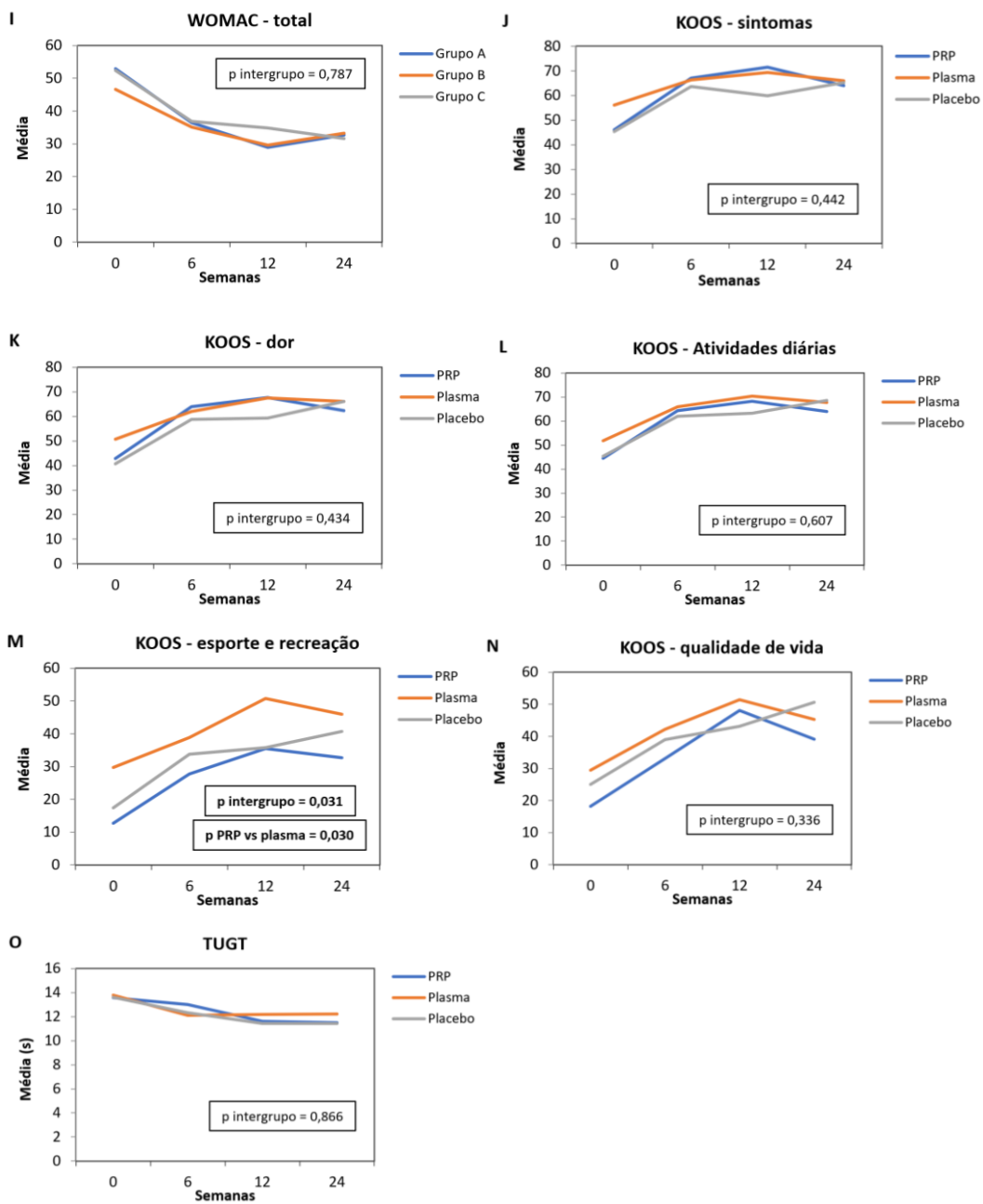
Fax: (11)2661-7585

E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br

ANEXO C - Figuras dos desfechos secundários

Para todas as variáveis, nos 3 grupos (PRP, plasma, soro fisiológico) houve melhora estatisticamente significativa ($p < 0,05$) dos parâmetros avaliados na inclusão em relação aos tempos 6, 12 e 24 semanas. Está mostrado apenas o p para diferença entre os grupos (p intergrupo).

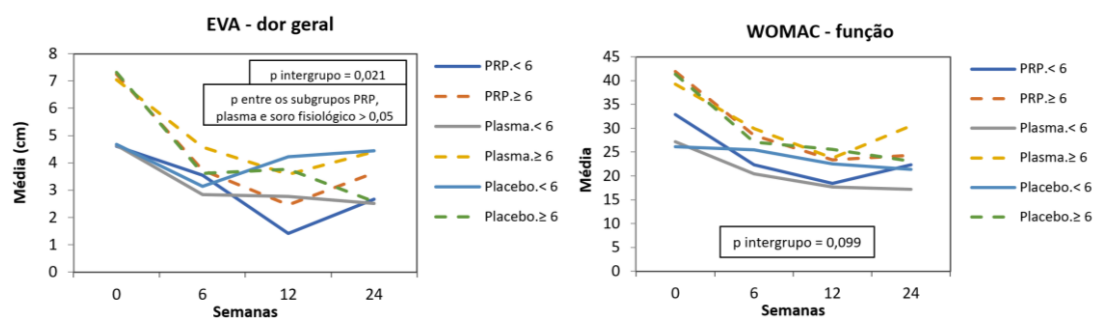




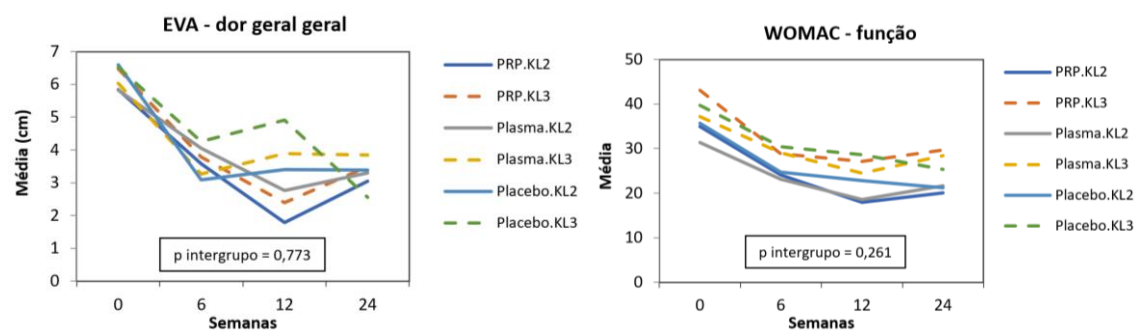
ANEXO D - Principais figuras para dor e função relativas às subanálises

Está mostrado apenas o p para diferença entre os grupos (p intergrupo).

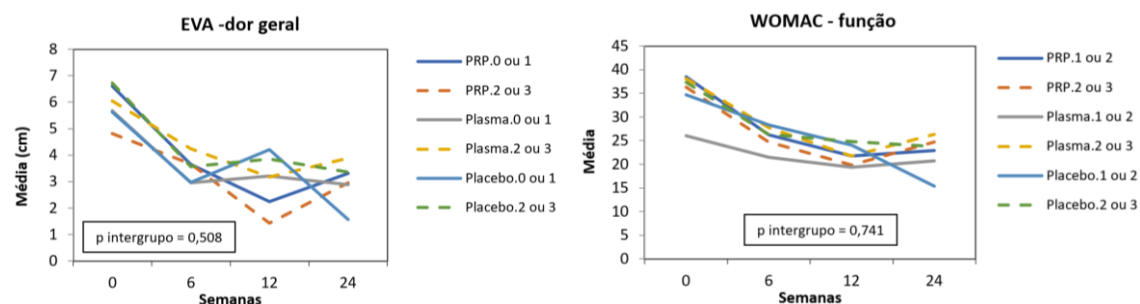
i) EVA para dor geral < 6 versus ≥ 6 cm na inclusão



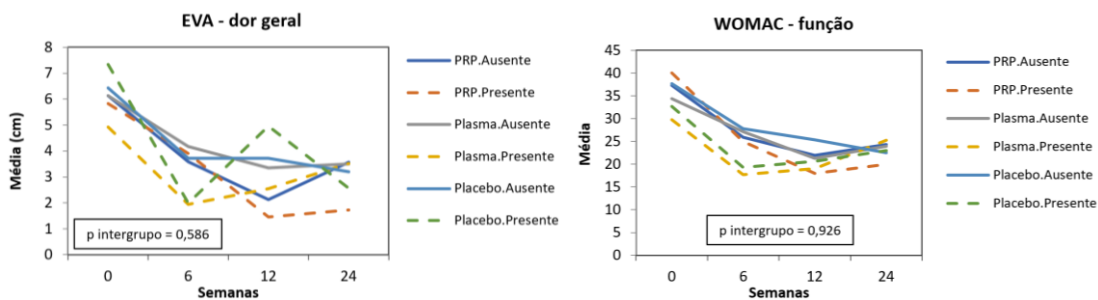
ii) KL2 versus KL3 na inclusão;



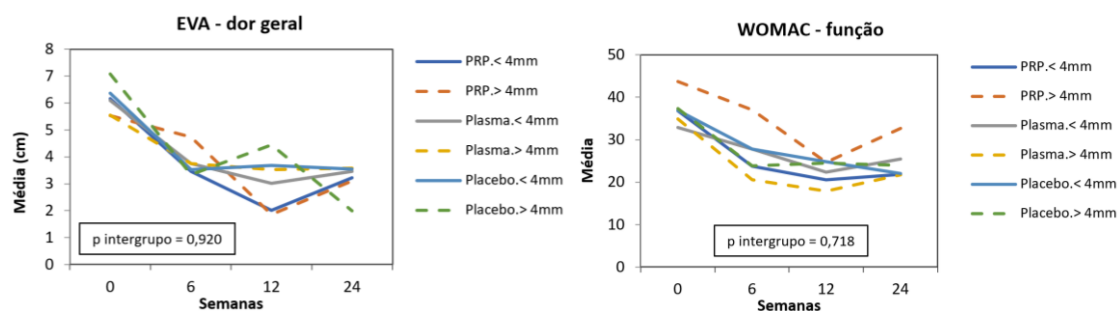
iii) sinovite graus 0 ou 1 versus 2 ou 3 na inclusão;



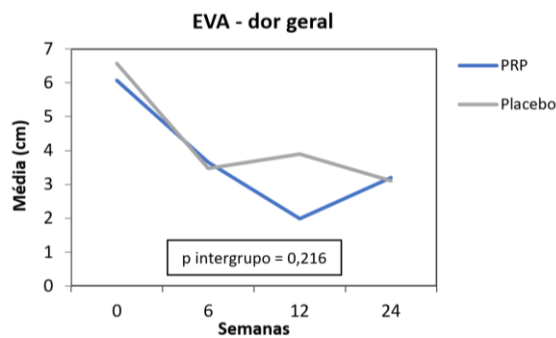
iv) *power doppler* ausente versus presente na inclusão;



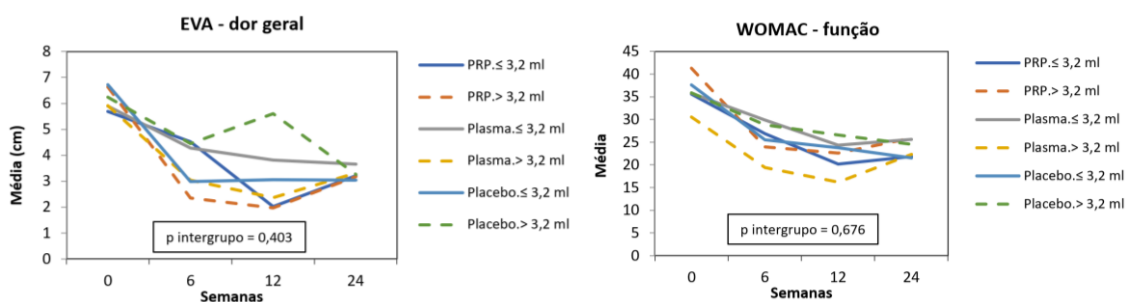
v) derrame articular < 4 mm versus \geq 4 mm na inclusão;



vi) EVA para dor geral comparando apenas dois grupos (PRP versus placebo);



vii) volume de PRP e plasma infiltrado \leq 3,2 ml versus > 3,2 ml.



8. REFERÊNCIAS

1. Lawrence RC, Felson DT, Helmick CG, Arnold LM, Choi H, Deyo RA, et al. Estimates of the prevalence of arthritis and other rheumatic conditions in the United States. Part II. *Arthritis Rheum.* 2008;58(1):26-35.
2. Losina E, Weinstein AM, Reichmann WM, Burbine SA, Solomon DH, Daigle ME, et al. Lifetime risk and age at diagnosis of symptomatic knee osteoarthritis in the US. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2013;65(5):703-11.
3. Cross M, Smith E, Hoy D, Nolte S, Ackerman I, Fransen M, et al. The global burden of hip and knee osteoarthritis: estimates from the global burden of disease 2010 study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73(7):1323-30.
4. Murphy L, Helmick CG. The impact of osteoarthritis in the United States: a population-health perspective: A population-based review of the fourth most common cause of hospitalization in U.S. adults. *Orthop Nurs.* 2012;31(2):85-91.
5. Bannuru RR, Osani MC, Vaysbrot EE, Arden NK, Bennell K, Bierma-Zeinstra SMA, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee, hip, and polyarticular osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2019.
6. Bruyère O, Honvo G, Veronese N, Arden NK, Branco J, Curtis EM, et al. An updated algorithm recommendation for the management of knee osteoarthritis from the European Society for Clinical and Economic Aspects of Osteoporosis, Osteoarthritis and Musculoskeletal Diseases (ESCEO). *Semin Arthritis Rheum.* 2019.
7. Machado GC, Maher CG, Ferreira PH, Pinheiro MB, Lin CW, Day RO, et al. Efficacy and safety of paracetamol for spinal pain and osteoarthritis: systematic review and meta-analysis of randomised placebo controlled trials. *BMJ.* 2015;350:h1225.
8. Fransen M, McConnell S, Harmer AR, Van der Esch M, Simic M, Bennell KL. Exercise for osteoarthritis of the knee. *Cochrane Database Syst Rev.* 2015;1:CD004376.
9. Nelson AE, Allen KD, Golightly YM, Goode AP, Jordan JM. A systematic review of recommendations and guidelines for the management of osteoarthritis: The chronic osteoarthritis management initiative of the U.S. bone and joint initiative. *Semin Arthritis Rheum.* 2014;43(6):701-12.
10. McAlindon TE, LaValley MP, Harvey WF, Price LL, Driban JB, Zhang M, et al. Effect of Intra-articular Triamcinolone vs Saline on Knee Cartilage Volume and Pain in Patients With Knee Osteoarthritis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA.* 2017;317(19):1967-75.
11. Hunter DJ, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet.* 2019;393(10182):1745-59.
12. Demange MK, Sisto M, Rodeo S. Future trends for unicompartmental arthritis of the knee: injectables & stem cells. *Clin Sports Med.* 2014;33(1):161-74.
13. Sakata J, Sasaki S, Handa K, Uchino T, Sasaki T, Higashita R, et al. A retrospective, longitudinal study to evaluate healing lower extremity wounds in patients with diabetes mellitus and ischemia using standard protocols of care and platelet-rich plasma gel in a Japanese wound care program. *Ostomy Wound Manage.* 2012;58(4):36-49.
14. de Leon JM, Driver VR, Fylling CP, Carter MJ, Anderson C, Wilson J, et al. The clinical relevance of treating chronic wounds with an enhanced near-physiological concentration of platelet-rich plasma gel. *Adv Skin Wound Care.* 2011;24(8):357-68.
15. Redler LH, Thompson SA, Hsu SH, Ahmad CS, Levine WN. Platelet-rich plasma therapy: a systematic literature review and evidence for clinical use. *Phys Sportsmed.* 2011;39(1):42-51.
16. Bennell KL, Hunter DJ, Paterson KL. Platelet-Rich Plasma for the Management of Hip and Knee Osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep.* 2017;19(5):24.
17. Zhu Y, Yuan M, Meng HY, Wang AY, Guo QY, Wang Y, et al. Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis Cartilage.* 2013;21(11):1627-37.

18. Sundman EA, Cole BJ, Karas V, Della Valle C, Tetreault MW, Mohammed HO, et al. The anti-inflammatory and matrix restorative mechanisms of platelet-rich plasma in osteoarthritis. *Am J Sports Med.* 2014;42(1):35-41.
19. Kwon DR, Park GY, Lee SU. The effects of intra-articular platelet-rich plasma injection according to the severity of collagenase-induced knee osteoarthritis in a rabbit model. *Ann Rehabil Med.* 2012;36(4):458-65.
20. Guner S, Buyukbebeci O. Analyzing the effects of platelet gel on knee osteoarthritis in the rat model. *Clin Appl Thromb Hemost.* 2013;19(5):494-8.
21. Pereira RC, Scaranari M, Benelli R, Strada P, Reis RL, Cancedda R, et al. Dual effect of platelet lysate on human articular cartilage: a maintenance of chondrogenic potential and a transient proinflammatory activity followed by an inflammation resolution. *Tissue Eng Part A.* 2013;19(11-12):1476-88.
22. Lee HR, Park KM, Joung YK, Park KD, Do SH. Platelet-rich plasma loaded hydrogel scaffold enhances chondrogenic differentiation and maturation with up-regulation of CB1 and CB2. *J Control Release.* 2012;159(3):332-7.
23. Shen L, Yuan T, Chen S, Xie X, Zhang C. The temporal effect of platelet-rich plasma on pain and physical function in the treatment of knee osteoarthritis: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Orthop Surg Res.* 2017;12(1):16.
24. Knop E, Paula LE, Fuller R. Platelet-rich plasma for osteoarthritis treatment. *Rev Bras Reumatol Engl Ed.* 2016;56(2):152-64.
25. Zhang HF, Wang CG, Li H, Huang YT, Li ZJ. Intra-articular platelet-rich plasma versus hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. *Drug Des Devel Ther.* 2018;12:445-53.
26. Kanchanatawan W, Arirachakaran A, Chaijenkij K, Prasathaporn N, Boonard M, Piyapittayanun P, et al. Short-term outcomes of platelet-rich plasma injection for treatment of osteoarthritis of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2016;24(5):1665-77.
27. 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(4):884-91.
28. Görmeli G, Görmeli CA, Ataoglu B, Çolak C, Aslantürk O, Ertem K. Multiple PRP injections are more effective than single injections and hyaluronic acid in knees with early osteoarthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017;25(3):958-65.
29. Patel S, Dhillon MS, Aggarwal S, Marwaha N, Jain A. Treatment with platelet-rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: a prospective, double-blind, randomized trial. *Am J Sports Med.* 2013;41(2):356-64.
30. Bannuru RR, McAlindon TE, Sullivan MC, Wong JB, Kent DM, Schmid CH. Effectiveness and Implications of Alternative Placebo Treatments: A Systematic Review and Network Meta-analysis of Osteoarthritis Trials. *Ann Intern Med.* 2015;163(5):365-72.
31. McAlindon TE, Bannuru RR, Sullivan MC, Arden NK, Berenbaum F, Bierma-Zeinstra SM, et al. OARSI guidelines for the non-surgical management of knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2014;22(3):363-88.
32. RESOLUÇÃO CFM nº 2.128/2015. Publicado no D.O.U. de 29 de out. de 2015, Seção I, p. 236. [Available from: http://www.portalmédico.org.br/resolucoes/CFM/2015/2128_2015.pdf.
33. Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K, et al. Development of criteria for the classification and reporting of osteoarthritis. Classification of osteoarthritis of the knee. Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American Rheumatism Association. *Arthritis Rheum.* 1986;29(8):1039-49.
34. KELLGREN JH, LAWRENCE JS. Radiological assessment of osteo-arthrosis. *Ann Rheum Dis.* 1957;16(4):494-502.

35. D'Agostino MA, Conaghan P, Le Bars M, Baron G, Grassi W, Martin-Mola E, et al. EULAR report on the use of ultrasonography in painful knee osteoarthritis. Part 1: prevalence of inflammation in osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2005;64(12):1703-9.
36. Saarakkala S, Waris P, Waris V, Tarkiainen I, Karvanen E, Aarnio J, et al. Diagnostic performance of knee ultrasonography for detecting degenerative changes of articular cartilage. *Osteoarthritis Cartilage*. 2012;20(5):376-81.
37. Akhundov K, Pietramaggiore G, Waselle L, Darwiche S, Guerid S, Scaletta C, et al. Development of a cost-effective method for platelet-rich plasma (PRP) preparation for topical wound healing. *Ann Burns Fire Disasters*. 2012;25(4):207-13.
38. International Cellular Medicine Society. Platelet Rich Plasma (PRP) Guidelines. 2011. [Available from: [http://www.cellmedicinesociety.org/attachments/370_Section%2010%20-%20Platelet%20Rich%20Plasma%20\(PRPR\)%20Guidelines.pdf](http://www.cellmedicinesociety.org/attachments/370_Section%2010%20-%20Platelet%20Rich%20Plasma%20(PRPR)%20Guidelines.pdf).
39. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol*. 1988;15(12):1833-40.
40. Fernandes MI. Tradução e validação do questionário de qualidade de vida específico para osteoartrose WOMAC (Western Ontario McMaster Universities) para a língua portuguesa.: Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina; 2003. [103p.]. Available from: <http://repositorio.unifesp.br/handle/11600/19401>.
41. Roos EM, Roos HP, Lohmander LS, Ekdahl C, Beynnon BD. Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS)--development of a self-administered outcome measure. *J Orthop Sports Phys Ther*. 1998;28(2):88-96.
42. Almeida GPL. Translation and cross-cultural validation of the KOOS to Brazilian Portuguese. 2016. [Available from: <http://www.koos.nu/>.
43. Pham T, Van Der Heijde D, Lassere M, Altman RD, Anderson JJ, Bellamy N, et al. Outcome variables for osteoarthritis clinical trials: The OMERACT-OARSI set of responder criteria. *J Rheumatol*. 2003;30(7):1648-54.
44. Podsiadlo D, Richardson S. The timed "Up & Go": a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc*. 1991;39(2):142-8.
45. Filardo G, Di Matteo B, Di Martino A, Merli ML, Cenacchi A, Fornasari P, et al. Platelet-Rich Plasma Intra-articular Knee Injections Show No Superiority Versus Viscosupplementation: A Randomized Controlled Trial. *Am J Sports Med*. 2015;43(7):1575-82.
46. Montañez-Heredia E, Irizar S, Huertas PJ, Otero E, Del Valle M, Prat I, et al. Intra-Articular Injections of Platelet-Rich Plasma versus Hyaluronic Acid in the Treatment of Osteoarthritic Knee Pain: A Randomized Clinical Trial in the Context of the Spanish National Health Care System. *Int J Mol Sci*. 2016;17(7).
47. Amin I, Gellhorn AC. Platelet-Rich Plasma Use in Musculoskeletal Disorders: Are the Factors Important in Standardization Well Understood? *Phys Med Rehabil Clin N Am*. 2019;30(2):439-49.
48. Riboh JC, Saltzman BM, Yanke AB, Fortier L, Cole BJ. Effect of Leukocyte Concentration on the Efficacy of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Knee Osteoarthritis. *Am J Sports Med*. 2016;44(3):792-800.
49. Filardo G, Kon E, Pereira Ruiz MT, Vaccaro F, Guitaldi R, Di Martino A, et al. Platelet-rich plasma intra-articular injections for cartilage degeneration and osteoarthritis: single- versus double-spinning approach. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2012;20(10):2082-91.
50. Fukaya M, Ito A. A New Economic Method for Preparing Platelet-rich Plasma. *Plast Reconstr Surg Glob Open*. 2014;2(6):e162.
51. Braun HJ, Kim HJ, Chu CR, Dragoo JL. The effect of platelet-rich plasma formulations and blood products on human synoviocytes: implications for intra-articular injury and therapy. *Am J Sports Med*. 2014;42(5):1204-10.

52. Di Y, Han C, Zhao L, Ren Y. Is local platelet-rich plasma injection clinically superior to hyaluronic acid for treatment of knee osteoarthritis? A systematic review of randomized controlled trials. *Arthritis Res Ther.* 2018;20(1):128.
53. Ahmad HS, Farrag SE, Okasha AE, Kadry AO, Ata TB, Monir AA, et al. Clinical outcomes are associated with changes in ultrasonographic structural appearance after platelet-rich plasma treatment for knee osteoarthritis. *Int J Rheum Dis.* 2018;21(5):960-6.
54. Wehling P, Moser C, Frisbie D, McIlwraith CW, Kawcak CE, Krauspe R, et al. Autologous conditioned serum in the treatment of orthopedic diseases: the orthokine therapy. *BioDrugs.* 2007;21(5):323-32.
55. Zhang W, Robertson J, Jones AC, Dieppe PA, Doherty M. The placebo effect and its determinants in osteoarthritis: meta-analysis of randomised controlled trials. *Ann Rheum Dis.* 2008;67(12):1716-23.
56. Altman RD, Moskowitz R. Intraarticular sodium hyaluronate (Hyalgan) in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: a randomized clinical trial. Hyalgan Study Group. *J Rheumatol.* 1998;25(11):2203-12.
57. Clegg DO, Reda DJ, Harris CL, Klein MA, O'Dell JR, Hooper MM, et al. Glucosamine, chondroitin sulfate, and the two in combination for painful knee osteoarthritis. *N Engl J Med.* 2006;354(8):795-808.
58. Nielsen SM, Tugwell P, de Wit MPT, Boers M, Beaton DE, Woodworth TG, et al. Identifying Provisional Generic Contextual Factor Domains for Clinical Trials in Rheumatology: Results from an OMERACT Initiative. *J Rheumatol.* 2019;46(9):1159-63.
59. Bar-Or D, Rael LT, Brody EN. Use of Saline as a Placebo in Intra-articular Injections in Osteoarthritis: Potential Contributions to Nociceptive Pain Relief. *Open Rheumatol J.* 2017;11:16-22.
60. Saltzman BM, Leroux T, Meyer MA, Basques BA, Chahal J, Bach BR, et al. The Therapeutic Effect of Intra-articular Normal Saline Injections for Knee Osteoarthritis: A Meta-analysis of Evidence Level 1 Studies. *Am J Sports Med.* 2017;45(11):2647-53.
61. Altman RD, Devji T, Bhandari M, Fierlinger A, Niazi F, Christensen R. Clinical benefit of intra-articular saline as a comparator in clinical trials of knee osteoarthritis treatments: A systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Semin Arthritis Rheum.* 2016;46(2):151-9.
62. Wheaton AJ, Borthakur A, Shapiro EM, Regatte RR, Akella SV, Kneeland JB, et al. Proteoglycan loss in human knee cartilage: quantitation with sodium MR imaging--feasibility study. *Radiology.* 2004;231(3):900-5.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Submissão para a revista *Expert Opinion on Biological Therapy*

23/10/2019

Gmail - Expert Opinion On Biological Therapy - Manuscript ID EOBT-2019-ST-0192



Murillo Dório <murillodorio@gmail.com>

Expert Opinion On Biological Therapy - Manuscript ID EOBT-2019-ST-0192

Expert Opinion On Biological Therapy <onbehalf@manuscriptcentral.com>

23 October 2019 at 22:05

Reply-To: Alexander.Dearman@informa.com

To: murillodorio@gmail.com

23-Oct-2019

Dear Dr Dorio,

Your manuscript entitled "Platelet-rich plasma and plasma for treatment of knee osteoarthritis: a double-blinded placebo-controlled randomized clinical trial." has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in Expert Opinion On Biological Therapy.

Your manuscript ID is EOBT-2019-ST-0192.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions.

You can view the status of your manuscript at any time by checking your Author Centre after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/eobt>.

In addition, if you have submitted figures or tables alongside your manuscript that have been adapted or reproduced from previously published work, please ensure you have obtained permission from the previous publisher to use these. It is the authors' responsibility to obtain such permission and proof of permission acquired should have been uploaded alongside your manuscript – if any required permission documents have not been uploaded, please send them directly to our editorial office at Alexander.Dearman@informa.com.


Please note that the Expert Collection uses plagiarism detection software and your paper may be run through iThenticate.

Finally, please note that Expert Opinion On Biological Therapy has a central email address from which you will receive communications updating you on any progress with your manuscript. This address is IEBT-peerreview@journals.tandf.co.uk; you may also direct any correspondence regarding your manuscript to this email address.

Thank you again for submitting your manuscript to Expert Opinion On Biological Therapy.

Sincerely,

Alexander Dearman
Editor - Expert Opinion On Biological Therapy
Alexander.Dearman@informa.com

 * Disclosure-Statement---EOBT.pdf
138K

APÊNDICE B – Apresentação como pôster no OARSI 2019 World Congress on Osteoarthritis

Abstracts / Osteoarthritis and Cartilage 27 (2019) S373–S516

S481

onset and progression (ACL-R-OA develops more rapidly than ACL-L-OA). Both ACL injury models induced specific meniscal molecular changes with a greater increase in the medial meniscus compared to the lateral. These changes may be predictive of long term meniscal pathology and have the potential to contribute to the development of medial tibiofemoral OA though reduced mechanical function and increased production of degradative enzymes.

692

SYNOVIAL FLUID MICRORHEOLOGY TO IDENTIFY POTENTIAL CANDIDATES FOR VISCOSUPPLEMENTATION

R. Yin, J. Su, M. Colville, M. Paszek, H. Reesink, *Cornell Univ, Ithaca, NY, USA*

Purpose: Hyaluronic acid (HA) is a large, hydrophilic glycosaminoglycan that functions as the primary viscous lubricant in synovial fluid. Studies suggest that HA can be decreased, increased, or unchanged in concentration and/or molecular weight (MW) distribution in osteoarthritis (OA). Although HA viscosupplementation can be used to treat OA-related pain, it is difficult to predict which patients will respond best to HA supplementation. One potential explanation for the variable clinical response to HA is the presence of distinct OA phenotypes, some of which may benefit from HA supplementation whereas others may not. Here, we first asked whether HA concentration and MW distribution were altered in naturally occurring equine carpal osteoarthritis as a model for naturally occurring OA in humans. Multiple particle-tracking micro rheology (MPTM) was performed to determine whether viscosity correlated with HA concentration and/or molecular weight.

Methods: All protocols were approved by the university IACUC. **Synovial fluid sampling:** Synovial fluid samples were obtained from healthy research horses and clinical cases with carpal OA (n=87; 25 healthy and 62 OA joints). **HA ELISA:** Synovial fluid HA concentrations were quantified for all samples using both a sandwich ELISA (HA DuoSet ELISA, R&D Systems) and a competitive ELISA (HA ELISA, Echelon Biosciences). **HA agarose gel electrophoresis:** PBS-diluted and proteinase K-digested SF samples were run on 0.5% agarose gels, stained with 0.005% Stains-All and de-stained with 10% ethanol. Densitometric scans of stained gels were used to detect relative HA molecular weight distribution into four categories: >6.1MDa, 6.1–3.1MDa, 3.1–1.5MDa and <1.5MDa. **Micro-rheology:** Synovial fluid viscosity was measured using MPTM (n=24; 12 healthy and 12 OA joints). 15µl of synovial fluid was loaded with 0.5 nm yellow-green fluorescent beads and imaged on a custom epifluorescence microscope with a high-speed EMCCD detector. **Statistical analysis:** Data was log-transformed to achieve normality, and t-tests were used to compare healthy and OA groups. Pearson product-moment correlation coefficients were calculated.

Results: Full cohort (n=87): Synovial fluid HA concentrations varied substantially between individual animals (range: 0.04 to 0.9 mg/mL, R&D Systems; 0.14 to 2.74 mg/mL, Echelon Biosciences), but did not differ between healthy and OA joints (median: 0.35 and 0.29 mg/mL, R&D Systems; 0.70 and 0.70 mg/mL, Echelon Biosciences, **Fig. 1A**). The proportion of high MW (>3.1MDa) to low MW (<3.1MDa) HA was significantly decreased in OA samples (median: 87% and 66%, p=0.009, **Fig. 1B**). **MPTM cohort (n=24):** Synovial fluid HA concentrations did not differ between healthy and OA joints. There was a trend for decreased synovial fluid viscosity in OA joints (median: 60 cP, IQR: 34–106) as compared to healthy joints (median: 120 cP, IQR: 68–263, p=0.07, **Fig. 2A**). HA concentration and viscosity were highly correlated (r=0.75, p<0.001, **Fig. 2B**).

Conclusions: HA concentrations did not differ between healthy and OA joints due to significant inter-individual variability, suggesting that HA viscosupplementation may not be indicated in all OA cases. However, the trend for decreased synovial fluid viscosity in OA joints indicates that MPTM may be a more sensitive assay for detecting pathological changes in synovial fluid compared to measurements of HA total concentration or molecular weight distribution. HA concentration was a better predictor of synovial fluid viscosity than MW distribution. An inherent limitation of HA measurements is that neither HA ELISAs nor gel electrophoresis are able to measure the lowest MW HA isoforms. Multiple particle-tracking micro rheology (MPTM) may hold potential promise as a method to identify joints that would be most likely to benefit from HA viscosupplementation. Additional work is needed to assess the rheologic and tribologic behavior of HA-deficient synovial fluid following HA supplementation.

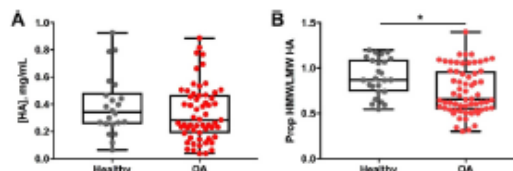


Figure 1. (A) Hyaluronic acid concentration did not differ between healthy and OA joints. (B) The molecular weight distribution of OA synovial fluid was shifted towards lower MW species. Data are presented as box-and-whiskers plots, with the first and third quartiles, the median, and the range of values represented. * = P<0.05

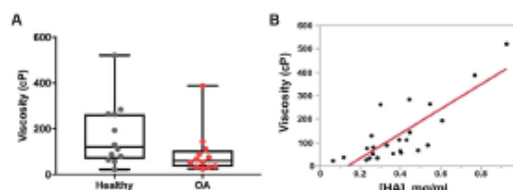


Figure 2. (A) There was a trend for decreased synovial fluid viscosity in OA as compared to healthy joints. Data are presented as box-and-whiskers plots, with the first and third quartiles, the median, and the range of values represented. (B) Viscosity was strongly correlated with HA concentration (r=0.75, p<0.001).

693

PLATELET-RICH PLASMA AND PLASMA FOR TREATMENT OF KNEE OSTEOARTHRITIS: A DOUBLE-BLIND PLACEBO-CONTROLLED RANDOMIZED CLINICAL TRIAL

M. D'Ório¹, R.M. Pereira¹, R.M. Oliveira², A.G. Luz², R. Fuller¹, ¹ *Univ. of São Paulo, São Paulo, Brazil;* ² *Laboratório RDO, São Paulo, Brazil*

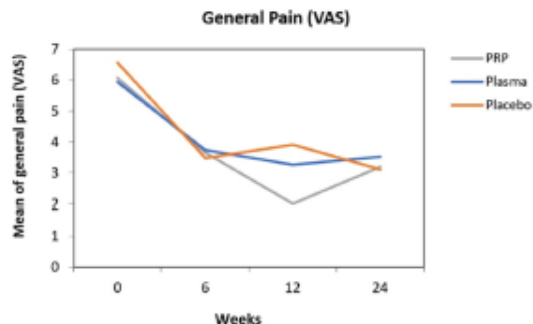
Purpose: To evaluate whether platelet-rich plasma or intra-articular plasma are superior to placebo in improving pain and function in patients with knee osteoarthritis (OA) in a 6-month follow-up period.

Methods: Randomized, double-blind, clinical trial with 3 groups. Compared intra-articular treatment of knee OA of two experimental groups, one with PRP (N = 20) and other with plasma (N = 20), with a control group receiving saline solution (N = 21). Two ultrasound-guided joint injections were performed at intervals of 2 weeks. PRP injected was fresh, obtained by double centrifugation, leucocyte-poor, nonactivated and contained on average 1 million platelets/mm³. The primary endpoint was general pain in the injected knee measured by the visual analogue scale (VAS) 0–10 cm evaluated at week 24, with intermediate evaluations at weeks 6 and 12. The secondary outcomes were: WOMAC (Western Ontario McMaster University Osteoarthritis Index), KOOS (Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score), OMERACT-OARSI criteria and TUGT (Timed Up and Go Test).

Results: The general pain (VAS) assessment in week 24 showed significant improvement regarding the 3 groups (p = 0.000 for all), but there was no statistical difference between them (p = 0.891). The PRP group presented reduction of the mean of pain from 6.1 (SD 1.6) to 3.2 (SD 2.5), which represented a decrease of 2.9 cm or 47.5%. The plasma group presented reduction of the mean of pain from 5.9 (SD 1.4) to 3.5 (SD 2.4), which represented a decrease of 2.4 cm or 40.7%. The placebo group showed a decrease in mean of pain from 6.6 (SD 1.4) to 3.1 (SD 2.6), which represented a decrease of 3.5 cm or 53.0%. In week 6, mean of pain was 3.6 (SD 2.4), 3.7 (SD 2.5) and 3.5 (SD 2.1) in the PRP, plasma and placebo groups, respectively, and in week 12 it was 2.0 (SD 1.4), 3.2 (SD 2.9) and 3.9 (SD 2.7), respectively. In weeks 6 and 12 there was also no statistical difference between the groups, despite the PRP group demonstrated a trend of improvement of pain in week 12 (see attached graphic). In WOMAC and KOOS there was significant improvement in all domains of the 3 groups, with no statistical difference between them in weeks 6, 12 and 24. The same occurred with TUGT. The percentage of patients who achieved OMERACT-OARSI improvement criteria in week 24 for the PRP, Placebo and Plasma groups were, respectively, 80%, 86% and 80%, and there was no statistical difference between the groups. Similar values were found in weeks 6 and 12. Adverse effects were more

common within the PRP group, with the most frequent of them being mild to moderate knee pain lasting 2 days on average.

Conclusions: PRP, plasma and saline improved knee OA pain and function outcomes in weeks 6, 12 and 24 with statistical and clinical significance. There was no difference between the groups, despite a favourable trend for PRP superiority in week 12.



General pain (VAS 0-10 cm) at weeks 6, 12, 24.

694

OBJECTIVE AND SUBJECTIVE EVALUATION OF PLASMA RICH IN GROWTH FACTORS THERAPY FOR THE TREATMENT OF OSTEOARTHRITIS IN DOGS

B. Cuervo¹, D. Chicharro¹, A. Del Romero¹, E. Damia¹, J. Carrillo¹, J. Sopena¹, P. Peláez¹, L. Miguel¹, J. Vilar², M. Rubio^{1,3}. ¹Univ. UCH-CEU, CEU Universities; García Cugar Fndn., Valencia, Spain; ²Univ. de Las Palmas de Gran Canaria Trasmontaña; García Cugar Fndn., Las Palmas de Gran Canaria, Spain

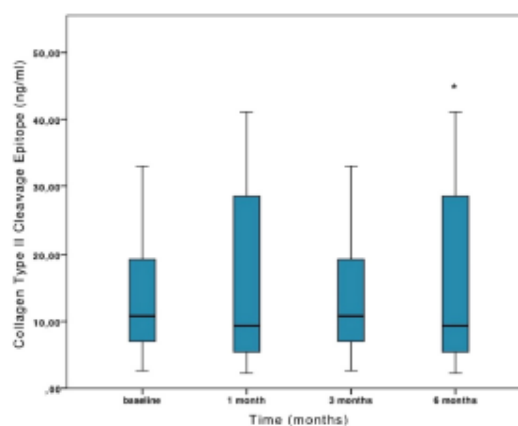
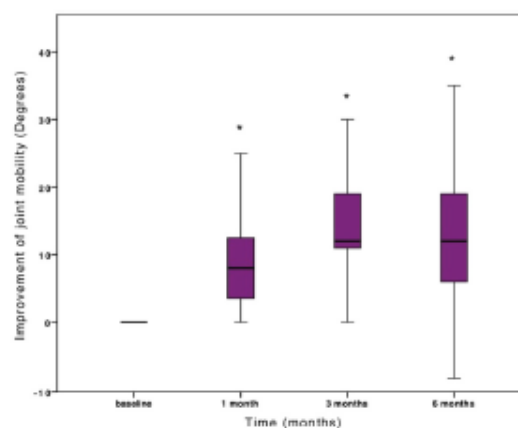
Purpose: Osteoarthritis (OA) is one of the most important degenerative diseases worldwide, due to its increasing prevalence in recent years, affecting to both human and veterinary medicine. OA is the most common cause of disability in the elderly population with an incidence of 10% in humans with an average age of 60 years. In veterinary medicine it affects 20% of the adult canine population, with important welfare implications. There are different therapies for OA treatment, a relatively new strategy is the use of plasma rich in growth factors (PRGF). Nowadays, subjective methods such as pain scales are used to evaluate the response to therapy. Nevertheless, there are other novel objective methods to assess the evolution of a pathology, including blood biomarkers such as collagen type II cleavage epitope (C2C). The main objective of this study was to evaluate the response of dogs with OA treated with an intra-articular injection of PRGF. This evaluation was carried out with the analysis of subjective measurements such as the visual analogue scale (VAS) performed by the owner and the veterinarian, and by evaluating the improvement of joint mobility. In addition, an objective assessment was also performed by measuring C2C serum concentrations of patients. In addition, a concordance analysis in between objective and subjective variables was carried out.

Methods: A total of 21 adult client-owned dogs (5 females and 16 males) with lameness and pain associated to OA were included in the study. OA was diagnosed with an orthopedic examination and radiographic study of the affected limbs. The sample size was chosen according to the availability of patients with bilateral OA in hip and knee joints and weighting over 20kg. Animals were treated with a single 2ml intra-articular injection of PRGF. The assessment of animals was carried out at baseline (before injection), 1, 3 and 6 months after intra-articular injection.

Results: Body weight of dogs ranged from 20.05 to 62.75 kg (mean \pm SD: 38.50 \pm 11.84 kg), and age from 2 to 11.5 years (mean: 7.4 \pm 3 years). Significant differences were observed at every study time with respect to basal time regarding subjective variables such as owner VAS, veterinary VAS, and improvement of joint mobility (Figure 1). According to the assessment of objective variables, significant differences were shown in C2C serum concentrations between basal time and 6 months (Figure 2). A final correlation analysis between objective and subjective variables

was performed by a Pearson correlation test. A negative correlation between the owner VAS and the veterinarian VAS in relation to the C2C serum concentration was observed, and a positive correlation between the improvement of joint mobility and C2C serum concentrations.

Conclusions: Evaluating the efficacy of therapies for OA treatment in patients is difficult in veterinary medicine, since pain scales or improvement in joint mobility are subjective assessments that may differ depending on the clinician who performs them. The study aimed to assess the reliability of these subjective variables, correlating them with an objective variable previously studied in OA. With the results obtained, we can conclude that the improvement observed in the subjective variables does not related with the results obtained in the C2C assessment. These results could be explained by the small number of animals used and due to the evaluation of a single biomarker in the patients' serum. The analysis of more serum biomarkers and a larger number of animals would be needed to evaluate the evolution of therapies to treat OA.



695

NOVEL NERVE GROWTH FACTOR-TARGETING THERANOSTICS FOR OSTEOARTHRITIS PAIN MANAGEMENT

M. Au, J. Shi, M. Yang, C. Wen. The Hong Kong Polytechnic Univ., Hong Kong, Hong Kong

Purpose: Osteoarthritis (OA) causes debilitating pain to patients, making it the third cause of disability globally. Laser treatment for

APÊNDICE C – Bolsa de estudos da *Osteoarthritis Research Society International (OARSI)*

Relacionado ao tema Osteoartrite. Apesar de a bolsa não ter sido direcionada para execução do estudo desta tese, eu o apresentei oralmente na Universidade de Sydney para o time de pesquisa do Prof. David Hunter em uma segunda qualificação, extraoficial.



President

Jeffrey N. Katz, MD, MS
Brigham & Women's Hospital
Boston, MA, USA

President Elect

Alli Mobasher, BSc, ARCS, MSc, DPhil
University of Surrey
Surrey, UK

Secretary

Kim Bennell, PhD, PT
University of Melbourne
Melbourne, Australia

Treasurer

Martin Englund, MD, PhD
Lund University
Lund, Sweden

Past President

John Loughlin, PhD
Newcastle University
Newcastle Upon Tyne, UK

Members at Large:

Aileen Davis, PhD
Toronto, Ontario, Canada

Changhai Ding, MD
Guangzhou, China

Jerome Gulcheux, PhD
Nantes, France

Gun Il Im, MD, PhD
Goyang, Korea

Muneaki Ishijima, MD, PhD
Tokyo, Japan

Rita Kandel, MD
Toronto, Ontario, Canada

Margreet Kloppenburg, MD, PhD
Leiden, Netherlands

Christopher B. Little, PhD
St. Leonards, Australia

Anne-Marie Malfait, MD, PhD
Chicago, IL, USA

Eeva K. Mollanen, MD
Tampere, Finland

Tuhina Neogi, MD, PhD, FRCPC
Boston, MA, USA

Michael Nevitt, PhD, MPH
San Francisco, CA, USA

Peter van der Kraan, PhD
Nijmegen, Netherlands

Tonia Vincent, MD, PhD
Oxford, UK

Editor-in-Chief
Joel A. Block, MD
Chicago, IL, USA

April 22, 2019

To whom it may concern:

Dr. Murillo Dorio Queiroz has submitted a study that he is conducting in collaboration with Dr. David Hunter from the Royal North Shore Hospital, Institute of Bone and Joint Research and Kolling Institute, at the University of Sydney, Sydney, Australia.

The Osteoarthritis Research Society International (OARSI) has award Dr. Queiroz \$6500,00 (US) for his travel to Sydney, Australia to continue his study with Dr. Hunter.

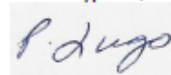
This scholarship is a very prestigious award that allows our young researchers to study the progressive disease of osteoarthritis with well known and highly educated professors in this field, such as Dr. Hunter. The award allows the researcher to learn new techniques, methods and gives them networking opportunities that would otherwise not be available to the researchers.

Dr. Queiroz has shown potential for the relief of progression of this disease through his study with Dr. Hunter and has been invited to give a summary of their findings in our annual congress in 2020. We are excited to hear the results.

I hope this letter has helped explain our award and its benefits to our awardees and their patients.

If you should have any questions or concerns, please do not hesitate to contact me at info@oarsi.org or my direct phone number, +1-856-642-4215.

Kind regards,



Priscilla Lugo
Director of Membership Services

APÊNDICE D – Submissão de artigo com o tema Osteoartrite

31/10/2019

Gmail - Your submission to Osteoarthritis and Cartilage



Murillo Dório <murillodorio@gmail.com>

Your submission to Osteoarthritis and Cartilage

1 message

Osteoarthritis and Cartilage <em@editorialmanager.com>

25 September 2019 at 19:58

Reply-To: Osteoarthritis and Cartilage <oac@elsevier.com>

To: Murillo Dório <murillodorio@gmail.com>

CC: "David J Hunter" david.hunter@sydney.edu.au, "Jamie E Collins" jcollins13@bwh.harvard.edu, "Rebecca Asher" rebecca.asher@ctc.usyd.edu.au, "Felix Eckstein" felix.eckstein@pmu.ac.at, "Ali Guerrazi" guerrazi@bu.edu, "Frank W Roemer" frank.roemer@uk-erlangen.de, "Leticia A Deveza" leticia.alle@sydney.edu.au

Dear Dr Dório:

Thank you for the submission of your manuscript, "Association of baseline and change in tibial and femoral cartilage thickness and development of widespread full-thickness cartilage loss in knee osteoarthritis – data from the Osteoarthritis Initiative.", to Osteoarthritis and Cartilage.

The manuscript has been assigned number OAC10217.

The manuscript is undergoing review. You will be notified when the review is complete, but you may log in to EM as an Author for details on the progress of the review.

Editorial Office
Osteoarthritis and Cartilage

EM is at <https://www.editorialmanager.com/oac/>.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/oac/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.