

ARTICOLO ORIGINALE

Ampiezza di distribuzione piastrinica e volume piastrinico medio: due indicatori semplici, pratici e specifici di attivazione piastrinica nella fibrina ricca di piastrine liquida

Platelet distribution amplitude and mean platelet volume: two simple, practical, and specific indicators of platelet activation in liquid platelet-rich fibrin

Michela CRISCI ¹, Francesco CRISCI ², Alessandro CRISCI ^{3,4,*}, Fabiana FLAGIELLO ⁵, Antonio D'ANIELLO ⁴

¹Unità Operativa di Chirurgia Generale d'Urgenza, A.U.O. Città della Salute e della Scienza di Torino, Torino, Italia;

²Centro Clinico e di Formazione in Medicina Estetica Agorà - Società Scientifica di Medicina Estetica, Milano, Italia;

³Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Facoltà di Medicina e Chirurgia Salernitana, Università degli Studi di Salerno, Salerno, Italia;

⁴Unità Operativa di Dermochirurgia, Trapianti Cutanei e Ferite Difficili, Casa di Cura Villa Fiorita, Aversa, Caserta, Italia;

⁵Laboratorio Analisi, Casa di Cura Villa Fiorita, Aversa, Caserta, Italia

*Autore di contatto: Alessandro Crisci, Dipartimento di Medicina, Chirurgia e Odontoiatria, Facoltà di Medicina e Chirurgia Salernitana, Università degli Studi di Salerno, Salerno, Italia. E-mail: alessandrocrisci@libero.it

RIASSUNTO

Premesse: Gli indici piastrinici sono marcatori potenzialmente utili per la diagnosi dell'attivazione piastrinica e della qualità della fibrina ricca di piastrine liquida (PRF). Un aumento sia del volume piastrinico medio (MPV) che dell'ampiezza di distribuzione piastrinica (PDW) è dovuto all'attivazione piastrinica e deriva dal rigonfiamento piastrinico e dalla formazione di pseudopodi. L'ipotesi del nostro studio è che l'utilizzo di provette e centrifughe diverse per la produzione di PRF liquida possa determinare valori diversi di MPV e PDW i quali indicano una diversa attivazione.

Metodi: Gli indici piastrinici (MPV, PDW, Plt) sono stati misurati in vari tipi/gruppi di PRF liquida. Sono stati preparati cinque diversi tipi di PRF liquida: fibrinogeno liquido; i-PRF 3300 rpm × 3 minuti; i-PRF 700 rpm × 5 minuti; A-PRF; C-PRF e anche PRP (plasma ricco di piastrine).

Risultati: Il massimo MPV trovato con la provetta Vacumed FL sottoposta a vuoto era 9,428±0,69 fL, con le provette S-PRF Sticky originali era 9,56±0,77 fL P=0,49 (I.C.95%: 0,598-0,338) qualunque sia il tipo di centrifuga adottato; il massimo PDW trovato con la provetta FL Vacumed era 11,71±0,66%, con le provette S-PRF originali era 11,7±1,95% P=0,974 (I.C.95%: 0,9219-0,9419) qualunque sia il tipo di centrifuga utilizzata. Questo indica che non si è riscontrata alcuna differenza nei valori correlati al tipo di provetta e centrifuga utilizzata, ma solo in base al tipo di PRF liquido prodotto.

Conclusioni: PDW e MPV risultano marcatori correlati dell'attivazione piastrinica. Il PDW sembra essere un indicatore più specifico dell'attivazione piastrinica rispetto all'MPV, poiché non è risultato elevato durante la sola distensione piastrinica causata dal semplice rigonfiamento piastrinico. Il tipo di PRF liquida con migliore attivazione è risultato essere A-PRF liquido, seguito alla pari dal fibrinogeno liquido e da i-PRF. Tuttavia si ritiene che il loro contributo e la loro validità definitiva possa essere meglio dimostrato da ulteriori e più ampi studi clinici.

(Per citare questo articolo: Crisci M, Crisci F, Crisci A, Flagiello F, D'Aniello A. Ampiezza di distribuzione piastrinica e volume piastrinico medio: due indicatori semplici, pratici e specifici di attivazione piastrinica nella fibrina ricca di piastrine liquida. Riv Ital Med Lab 2025 Jun 19. DOI: 10.23736/S1825-859X.25.00293-2)

ABSTRACT

Background: Platelet indices are potentially useful markers for the diagnosis of platelet activation and platelets-rich fibrin (PRF) fluid quality. An increase in both mean platelet volume (MPV) and platelet distribution width (PDW) is due to platelet activation and is derived from platelet swelling and pseudopod formation. The hypothesis of our study is that using different tubes and centrifuges for the production of Liquid PRF may result in different values of MPV and PDW indicating different activation.

Methods: Platelet indices (MPV, PDW, Plt) were measured in various types/groups of platelets-rich fibrin (PRF) fluid quality. Five different types of platelets-rich fibrin (PRF) Fluid quality were prepared: liquid fibrinogen; i-PRF 3300 rpm × 3'; i-PRF 700 rpm × 5'; A-PRF; C-PRF and also PRP (platelet rich plasma). The following hematologic parameters were studied: platelet count (Plt), mean platelet volume (MPV) and platelet distribution width (PDW).

Results: Maximum MPV found with Vacumed FL tube was 9.428±0.69 fL, with original S-PRF Sticky tubes was 9.56±0.77 fL P=0.49 (I.C.95%: 0,598-0,338) whatever type of centrifuge adopted; maximum PDW found with Vacumed FL tube was 11.71±0.66%, with original S-PRF tubes was 11.7±1.95% P=0.974 (I.C.95%: 0,9219-0,9419) whatever type of centrifuge used. Therefore, there was no difference in values related to the type of tube and centrifuge used, but only according to the type of liquid PRF produced.

Conclusions: PDW and MPV were found to be very specific markers of platelet activation. PDW appeared to be a more specific indicator of platelet activation than MPV, as it was not elevated during single platelet distension caused by platelet swelling. The type of liquid PRF with the best activation was found to be liquid A-PRF, followed equally by Liquid Fibrinogen and i-PRF. However, it is believed that their contribution and definitive validity can be better demonstrated by further and larger clinical studies.

Key words: Platelet activation; Mean platelet volume; Platelet-rich fibrin.

Introduzione

L'uso topico della fibrina ricca di piastrine (PRF) può svolgere un ruolo importante nell'avvio del processo di riparazione delle ferite croniche.¹ Oggigiorno, questo trattamento è chiamato *Natural Guided Regeneration-Therapy* (NGR-T) perché utilizza solo i componenti biologici del paziente senza aggiungere altro. La fibrina ricca di piastrine avanzata (A-PRF) di Choukroun² rappresenta un nuovo passo nel concetto terapeutico di concentrato piastrinico con una elaborazione semplificata e modificazioni biochimiche poco artificiali. Come altri concentrati piastrinici di seconda generazione, questa tecnica non richiede né anticoagulanti, né trombina bovina, né alcun altro agente gelificante, il che lo rende sostanzialmente pari a sangue naturale centrifugato senza additivi.³

Anche se le piastrine e le citochine leucocitarie svolgono un ruolo importante nella biologia di questo biomateriale, la matrice di fibrina di supporto costituisce certamente l'elemento determinante responsabile del reale potenziale terapeutico della PRF liquida. I gel di fibrina, ma anche la forma liquida di PRF, sono desiderabili come *scaffolds* in ingegneria tissutale per diversi motivi. La ragione più importante è inerente alla compatibilità con la vita cellulare della fibrina, che è diversa in base ai molti componenti ed ai processi coinvolti nella fabbricazione di *scaffolds*.

I vari tipi di PRF liquida a seguito dell'attivazione delle piastrine e dai leucociti producono vari fattori di crescita che sono responsabili sotto vari aspetti della rigenerazione tissutale. Tra i fattori di crescita (FG), fondamentali per la guarigione della ferita, contiamo il PDGF, in particolare PDGF-AB e PDGF-C (isoforme predominanti nelle piastrine); diversi elementi incorporano il fattore di crescita vaso endoteliale (VEGF), fondamentalmente il VEGF-A; il fattore di crescita trasformante 1 (TGF-1); il fattore di crescita essenziale dei fibroblasti (bFGF), della famiglia FGF-2; il fattore di crescita epidermica (EGF); il fattore di crescita degli epatociti (HGF) e il fattore di crescita insulino-simile 1 (IGF-1).⁴ Anche se i fattori di crescita piastrinica svolgono un'importante ruolo nella biologia del PRF, l'architettura della fibrina e il contenuto di leucociti e di cellule staminali sono parametri chiave. La distribuzione delle piastrine e dei leucociti all'interno della PRF liquida è stata evidenziata attraverso la conta ematologica, la microscopia fotonica e la SEM, nonché sugli strisci ematologici colorati con blu di metilene e May-Grünwald.⁵

Recentemente è stato studiato un elenco significativo di marcatori affidabili, riguardanti l'attivazione piastrinica, come la β -tromboglobulina (β -TG) o la *P*-selectina.

Diversi ricercatori hanno utilizzato una serie di indi-

ci piastrinici misurati mediante analizzatori ematologici, dato che l'attivazione piastrinica è causa di cambiamenti morfologici importanti delle piastrine. Il volume piastrinico medio (MPV) è probabilmente il marcatore di attivazione piastrinica più ampiamente studiato. Recentemente, nuovi indici piastrinici come la componente piastrinica media (MPC) e l'ampiezza di distribuzione della componente piastrinica (PDW) sono stati studiati, e il nostro gruppo ha studiato MPV e PDW come potenziali marcatori di attivazione piastrinica nello studio della PRF liquida⁵ in qualità di indici della produzione dei fattori di crescita da parte delle piastrine contenute. Il presente studio si propone di individuare indici di attivazione piastrinica semplici e ampiamente utilizzati si è concentrato sul fatto che la stessa attivazione piastrinica causa cambiamenti morfologici in esse, inclusa sia la forma sferica che la formazione di pseudopodi. Le piastrine con pseudopodi in numero e dimensione aumentati differiscono in dimensioni, probabilmente influenzando l'ampiezza del PDW. Il PDW è anche un marcatore di anisocitosi piastrinica, che accompagna l'attivazione, aumentando il diametro e il volume apparente delle stesse e ciò indica che PDW può essere anch'esso un indicatore semplice, poco costoso e utile dell'attivazione piastrinica.⁶ Tuttavia la correlazione di MPV e PDW con le forme liquide di PRF ad oggi non è stata segnalata. Vari studi hanno segnalato la correlazione tra questi valori e l'attivazione piastrinica⁷⁻⁹ in varie condizioni e patologie. Al contrario, ad oggi non è stata studiata una chiara associazione tra attivazione piastrinica, MPV, ampiezza della distribuzione piastrinica (PDW) e vari tipi di PRF liquida.

La PDW infatti riflette la variabilità delle dimensioni delle piastrine ed è considerata un indice valido della funzione e dell'attivazione piastrinica. Valori PDW aumentati sono stati segnalati anche in pazienti con diabete mellito.¹⁰

È stata considerata, quindi, la possibilità che l'attivazione piastrinica aumenti i valori di MPV e PDW, nei vari tipi di PRF liquida.

L'MPV riportato nelle persone sane varia molto in letteratura: da 6,0 a 13,2 fL. Il nostro laboratorio riporta come valori normali il range da 8,0 a 12,0 fL, per il PDW da 8,0 a 18,0%.

La rilevanza della PDW come possibile indicatore generale dell'attivazione piastrinica rimane, tuttavia, scarsamente definita. Attualmente abbiamo voluto studiare anche il significato funzionale piastrino-dipendente della variabilità PDW nei vari tipi di PRF liquido, chiarendo il suo ruolo in relazione all'attivazione piastrinica in vivo nella sintesi dei fattori di crescita piastrinici.

Materiali e metodi

In questo studio, vogliamo indagare il valore dell'attivazione delle piastrine dimostrato dal dosaggio di MPV e PDW contenute in PRF liquida.

Lo studio è stato condotto in modo prospettico e approvato prima dell'inizio dell'arruolamento da parte del Comitato di Revisione Istituzionale.

Non è stata richiesta l'approvazione etica per questo studio perché non sono stati identificati campioni umani, come precedentemente descritto da Miron, Fujioka-Kobayashi *et al.*¹¹ Tutti i soggetti sottoposti a prelievo ematico hanno accettato di firmare il consenso informato.

Disegno dello studio

L'obiettivo principale è indagare se l'adattamento della forza *g* per le suddette modifiche su PRF liquida (C-PRF liquid, A-PRF liquid e *i*-PRF), utilizzando una centrifuga ad angolo fisso 41,3° (F) o una oscillante (H) e con due diversi tipi di provetta, ha qualche influenza sulle loro caratteristiche in termini di morfologia e contenuto di piastrine. La centrifugazione eseguita a bassa velocità¹² della PRF liquida nel tubo di raccolta sottovuoto a pressione negativa in Plastica (PET) Vacumed FL (cod. 44909) e/o con provetta originale verde S-PRF (consigliata dall'azienda produttrice Process, Francia), consente di preparare la PRF in forma liquida e di utilizzarla in modo iniettabile. C-PRF liquid ($RCF_{\text{coagulo}}=525 \text{ g}$; $RCF_{\text{max}}=700 \text{ g}$; $RCF_{\text{min}}=280 \text{ g}$) sec. Miron^{13, 14} o altri tipi di PRF liquido (A-PRF, *i*-PRF, C-PRF, fibrinogeno liquido)¹⁵ sono risultati successivamente al prelievo di liquido ottenuto a seguito della centrifugazione del sangue prelevato, con sistema Vacutainer sotto vuoto e ago da 18 gauge.

Selezione dei partecipanti

Sono stati sottoposti, in due fasi, a prelievi ematici 20 soggetti in apparente benessere, di cui 10 maschi e 10 femmine, di età compresa tra i 18 e i 60 anni per un totale di 45 ml (5 provette Vacumed FL × 9 mL) in una prima fase e altri 45 ml (5 provette S-Sticky × 9 mL) in una seconda fase. In questa selezione non è stata eseguita un'analisi del *sample size* e questo è un limite dello studio che può essere considerato in studi successivi. Tutti i campioni di liquido per analizzare la PRF liquida sono stati raccolti in provette (Vacutest K2 EDTA 6 ml cod: K135400) contenenti etilendiamminotetraacetato dipotassico (EDTA) come anticoagulante.

I criteri di inclusione sono stati: nessuna assunzione di anticoagulanti o farmaci funzionali equivalenti per un mese prima dell'arruolamento e numero di piastrine

nell'intervallo da 150.000 a 450.000/ μL e indice di coagulazione determinato come normale (tempo di protrombina [valore PT] compreso tra 11 e 16 secondi). Concentrazione di emoglobina >10 mg/dL, concentrazione di proteine nel siero >6 g/dL e albumina nel siero >3 g/dL.

Le controindicazioni assolute per la produzione di PRF liquida comprendono la sindrome da disfunzione piastrinica, la trombocitopenia critica, l'instabilità emodinamica e la sepsi. Le controindicazioni relative includono i forti fumatori, consumatori di droghe e alcool, pazienti con patologia epatica cronica, gravi disordini metabolici o sistemici, pazienti con cancro di origine ematopoietica, con bassa emoglobina (<10 g/mL) o conta piastrinica (Plt, $<1,2 \times 10^5$ / μL). Inoltre sono stati esclusi i pazienti che assumono FANS, prednisolone >20 mg/die, terapia anticoagulante e i soggetti di sesso femminile nel periodo delle mestruazioni o di altre cause di sanguinamento.

A tutti i pazienti oltre agli esami di routine è stato eseguito un emocromo completo basale, per valutare le condizioni fisiche basali, e inoltre la glicemia basale e HbA_{1c} in modo da escludere una patologia diabetica.

Procedure e valutazioni

Nove mL di sangue intero sono stati centrifugati in provette di plastica S-PRF e provette Vacumed FL in PET per ottenere PRF liquida. La centrifuga (Duo centrifuge, Process for PRF™, Nizza, Francia) utilizzata aveva un angolo fisso (F), nessun freno e una dimensione del rotore di 110 mm secondo il protocollo (angolazione del rotore di 43,1°, raggio di 75 mm al centro del tubo, 100 mm al massimo e 35 mm al minimo). È stato eseguito un confronto con una seconda centrifuga, però di tipo Basculante (H) con angolazione 0-90° (centrifuga orizzontale CenLee CTL420, Hunan, Cina).

I campioni sono stati analizzati da un analizzatore ematologico HECO 5 (Seac Radim Company), ed è stata valutata la concentrazione piastrinica e tutti i parametri piastrinici due ore dopo il prelievo di sangue (i valori medi \pm deviazione standard [SD] ottenuti per ogni tipo di PRF liquido prodotto sono stati riportati) (Tabella I, II).

Sono stati preparati 5 tipi diversi di PRF liquida: fibrinogeno liquido 2700 rpm \times 3 minuti¹¹ ($\text{RCF}_{\text{coagulo}}=608$ g;

TABELLA I.—Valutazione dei parametri Piastrinici con Centrifuga Orizzontale (H) e Fissa (F) in vari tipi di PRF Liquido con provetta Vacumed FL (cod. 44909).

TypePRF	Fibr.,L,H,		Fibr.,L,F,		Significatività		i-PRF H,		i-PRF F,		Significatività		i-PRF H,		i-PRF F,		Signif.	
	2700 rpm x 3/816 g				t-test	t-M/W	3300 rpm x 3/1220 g				t-test	t-M/W	700 rpm x 5/55 g					t-M/W
Plt K/ μL	222,7 \pm 138,3	107,8 \pm 73,5	0,009**				144,3 \pm 68,1	79,5 \pm 62,8	0,017*				260,6 \pm 154,4	175,0 \pm 161,3				
MPV fL	8,34 \pm 3,05	8,32 \pm 2,21		$>0,05$			8,84 \pm 0,99	8,48 \pm 1,07			$>0,05$		7,22 \pm 3,84	8,15 \pm 3,63			$>0,05$	
PDW %	10,6 \pm 3,76	9,53 \pm 4,6		$>0,05$			11,65 \pm 0,85 ^a	10,97 \pm 2,83			$>0,05$		9,35 \pm 4,95	9,28 \pm 5,57			$>0,05$	
TypePRF	A-PRF H,		A-PRF F,		Signif.		C-PRF H,		C-PRF F,		Significatività		PRP					
	1300 rpm x 5/189 g				t-M/W		2500 rpm x 8/700 g				t-test	t-M/W	2200 rpm x 20'					
Plt K/ μL	252,3 \pm 120,6	249,0 \pm 97,9					135,1 \pm 66,2	54,1 \pm 47,2	0,000**				32,3 \pm 57,5					
MPV fL	9,47 \pm 0,72 ^b	9,34 \pm 0,7 ^b		$>0,05$			8,57 \pm 0,65	7,29 \pm 2,64			0,035*		6,52 \pm 2,68					
PDW %	11,7 \pm 0,8 ^a	11,77 \pm 0,6 ^a		$>0,05$			11,58 \pm 0,46 ^a	10,12 \pm 3,57			$>0,05$		7,93 \pm 5,32					

con provetta Vacumed FL (cod. 44909); *P $<0,05$ (differenza significativa); **P $<0,01$; ***P $<0,001$ (differenza altamente significativa);

^aPDW Max; ^bMPV Max

TABELLA II.—Valutazione dei parametri Piastrinici con Centrifuga Orizzontale (H) e Fissa (F) in vari tipi di PRF Liquido con Provetta originale Verde S-PRF Sticky.

TypePRF	Fibr.,L,H,		Fibr.,L,F,		Significatività		i-PRF H,		i-PRF F,		Signif.		i-PRF H,		i-PRF F,		Signif.	
	2700 rpm x 3/816 g				t-test	t-M/W	3300 rpm x 3/1220 g				t-test	t-M/W	700 rpm x 5/55 g					t-M/W
Plt K/ μL	303,5 \pm 97,37	114,4 \pm 51,8	0,000***	0,000***			254,6 \pm 108,3	100,2 \pm 52,4	0,000***				195,6 \pm 163,9	166,1 \pm 172,1				
MPV fL	9,58 \pm 0,55 ^b	8,98 \pm 0,63		$>0,05$			9,48 \pm 0,65 ^b	8,61 \pm 0,99	0,027*				8,01 \pm 2,99	7,25 \pm 3,94			$>0,05$	
PDW %	12,01 \pm 0,58 ^a	11,61 \pm 0,71 ^a		$>0,05$			12,12 \pm 0,69 ^a	11,29 \pm 1,03	0,042*				10,46 \pm 3,73	7,95 \pm 5,9			$>0,05$	
TypePRF	A-PRF H,		A-PRF F,		Signif.		C-PRF H,		C-PRF F,		Significatività		C-PRF F,					
	1300 rpm x 5/189 g				t-M/W		2500 rpm x 8/700 g				t-test	t-M/W	2200 rpm x 20'					
Plt K/ μL	264,8 \pm 152,7	207,1 \pm 132,8					176,9 \pm 75,4	82,0 \pm 52,1	0,002**				0,005**					
MPV fL	8,6 \pm 3,11	9,61 \pm 1,01 ^b		$>0,05$			8,91 \pm 0,37	7,78 \pm 0,7	0,000**				0,001**					
PDW %	10,4 \pm 3,72	11,43 \pm 3,7 ^a		$>0,05$			11,9 \pm 1,40 ^a	10,75 \pm 0,77	0,024*				0,019*					

con provetta Vacumed FL (cod. 44909); *P $<0,05$ (differenza significativa); **P $<0,01$; ***P $<0,001$ (differenza altamente significativa);

^aPDW Max; ^bMPV Max

RCF_{max} =816 g; RCF_{min} =326 g); i-PRF 3300 rpm (1220 g) × 3 minuti (RCF_{coagulo} =765 g; RCF_{max} = 1008 g; RCF_{min} =403 g); i-PRF 700 rpm (55 g) × 5' (RCF_{coagulo} =38 g; RCF_{max} =55 g; RCF_{min} =22 g); A-PRF liquid 1300 rpm (189 g) × 5 minuti (RCF_{coagulo} =142 g; RCF_{max} =189 g; RCF_{min} =66 g); C-PRF 2500 rpm (700 g) × 8 minuti.¹³ I 5 tipi diversi di PRF sono stati scelti in base al tipo di preparazione e le differenze in termini di contenuto cellulare e di fattori di crescita sono ancora in fase di studio dai vari autori.

È stato inserito, per un confronto, un gruppo di 20 pazienti su cui è stato prodotto PRP (plasma ricco di piastrine), in cui è stata dosata la concentrazione di piastrine, il MPV e il PDW. Il PRP è stato preparato come descritto da Rattanasuwan et al nel 2018¹⁶ con piccole modifiche. In breve, il sangue è stato centrifugato in un separatore cellulare (Hettich EBA 200) a 2.300 giri/min (rpm) (1147 g) per 20 min dopo averlo posto in una provetta Kit PRP BioReb Gel da 15 ml BioReb Base (Biodevice & Advanced Materials S.r.l., Napoli) con gel separatore e anticoagulante (ACD-A: *Anticoagulant Citrate Dextrose Solution, Solution A*, USP) con centrifuga HETTICH EBA200 ad angolo fisso di 33°, seguendo il protocollo di produzione indicato dall'azienda produttrice.

Il sangue è stato quindi separato in una regione inferiore con globuli rossi e una regione superiore di plasma di colore paglierino. Il plasma di colore paglierino è stato prelevato e nuovamente centrifugato a 2000 rpm per 10 minuti in provetta con cloruro di calcio. Il risultato della seconda centrifugazione consisteva in una porzione superiore di siero supernatante giallo chiaro e nella porzione inferiore sfumata di rosso. La parte superiore del siero è stata scartata e nella provetta sono rimasti circa 1,5 mL di siero e piastrine concentrate.

La separazione cellulare dei vari tipi di PRF liquida è stata immediatamente effettuata (dopo 2 minuti) attraverso una centrifugazione. Tutta la centrifugazione è stata eseguita a temperatura ambiente (22-25 °C) e tutte le provette prima del prelievo venoso sono state preriscaldate a 37 °C in un incubatore, per simulare il più possibile la temperatura corporea normale.¹⁷

In generale, dopo la centrifugazione, è stata ottenuta una media di circa 1,5 mL di PRF liquida da una provetta contenente 9 mL di sangue pari a 9,1 g. Il peso medio della PRF liquida ottenuto è di 1,3 g.

EndPoints

L'endpoint primario di questo studio è rappresentato dalla possibilità di capire se parametri semplici come MPV

e PDW della PRF liquida possano essere utili a fornirci informazioni sull'attivazione piastrinica che permetta la produzione della massima concentrazione di fattori di crescita e di stabilire quale tipo è il più utile ai fini di una rigenerazione tissutale.

Analisi statistica

In tutti i campioni di PRF liquida estratti sono stati studiati i seguenti parametri ematologici: Plt, MPV e ampiezza della PDW.

La normalità della distribuzione dei dati ottenuti è stata valutata utilizzando il Test W di Shapiro-Wilk. Tutti i dati continui che seguono la distribuzione normale sono stati calcolati come media±SD e valutati per differenze significative in ogni momento con il *t*-test parametrico indipendente di Student per dati appaiati. Il test dei ranghi di Mann-Whitney è stato utilizzato per i dati non appaiati, utilizzando il *software* di Statistica per Discipline Biomediche di Santon A. Glatz Ed. 2007 Versione 6.0.

Le differenze sono state considerate, con valori di P inferiori a 0.05 (*), come significative e valori di P inferiori a 0.01 (**) e 0.001 (***), come altamente significative. In secondo luogo, per indagare le relazioni di distribuzione apparente tra PDW e altri indici piastrinici, abbiamo calcolato il coefficiente di correlazione di Spearman (*rho*), per valutare le correlazioni della PDW con il MPV e con la Plt.¹²

Si è proceduto a calcolare anche la significatività con il test di Wilcoxon quando si sono avuti risultati di una bassa correlazione al test di Spearman.

La Plt è espressa in K/μL, il MPV in fL, il PDW in percentuale (Figura 1A-C).

I dati appaiati sono stato analizzati con una significatività stabilita col *t*-test di Student (Tabella I-IV).

Risultati

Non sono state rilevate differenze significative nel confronto ematologico di base dei soggetti esaminati, che avevano una concentrazione media di RBC di 4,6×10⁶/mL (±1,1; IC95%) (P=0,34) (*range* 4-5,5×10⁶/mL), di WBC di 5,1×10³/mL (±0,37; IC95%) (P=0,24) (*range* 4,5-8,5×10³/mL) e una Plt media di 296,8×10³/mL (±15,3; IC95%) (P=0,15) (*range* 150-400×10³/mL).

In generale i valori PDW al momento dello studio erano correlati positivamente con i valori MPV ($\rho = 0,370$ vs. 0,945, P≤0,001) e inversamente con la Plt ($\rho = -0,627$ vs. 0,945, P≤0,001).

I valori più alti di MPV indicanti attivazione sono stati rilevati utilizzando provette originali S-PRF utilizzando

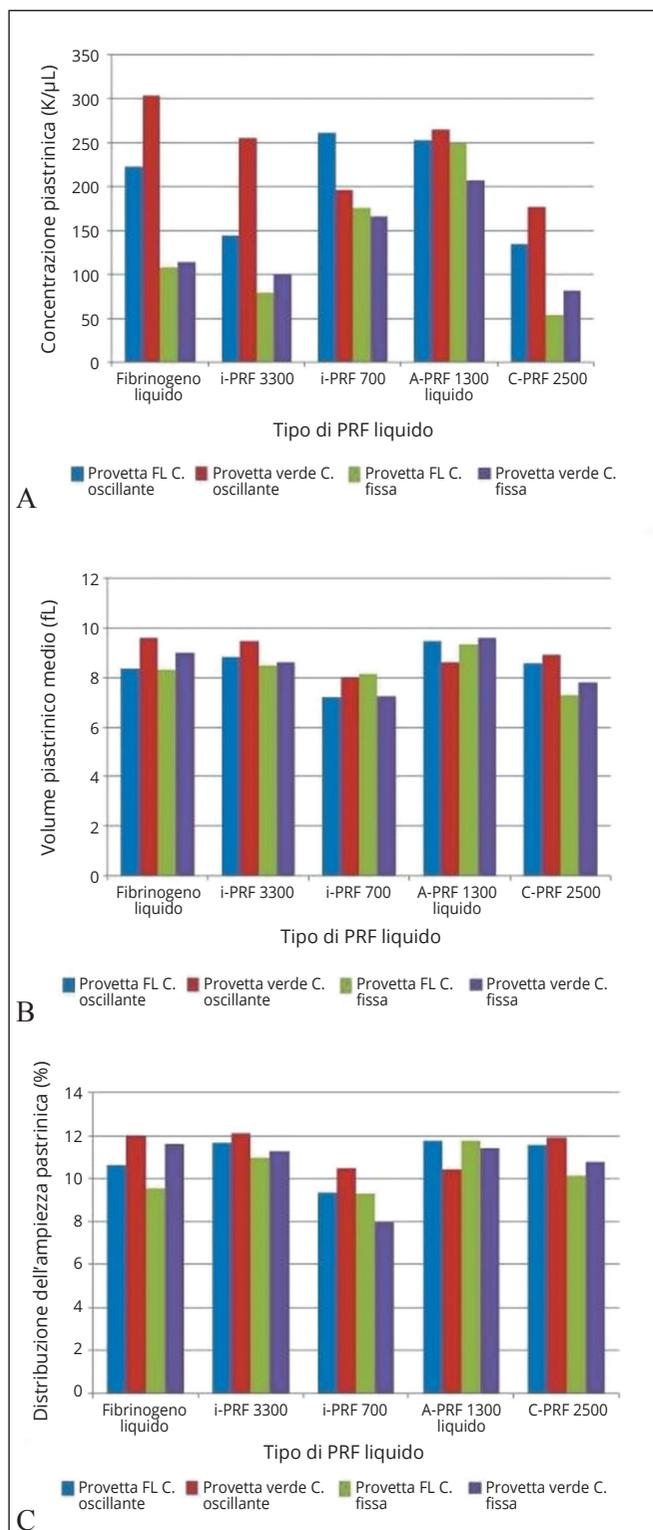


Figura 1.—Valutazione dei parametri piastrinici con centrifuga fissa e oscillante.

centrifuga oscillante per produrre fibrinogeno liquido a 2700 rpm \times 3 minuti (816 g) (9,58 \pm 0,55 fL) e *i*-PRF a 3300 rpm \times 3 minuti (1220 g) (9,48 \pm 0,65 fL) e con centrifuga fissa per produrre A-PRF (9,61 \pm 1,01 fL) (Tabella II). Anche utilizzando provette Vacumed FL (cod. 44909) sia con centrifuga fissa che oscillante si sono riscontrati valori alti di MPV nel produrre A-PRF (9,34 \pm 0,7 fL Centr. F) (9,47 \pm 0,72 fL Centr. H) (Tabella I, Figura 1B).

I valori più alti di PDW indicanti anch'essi attivazione sono stati rilevati utilizzando provette originali S-PRF utilizzando centrifuga oscillante per produrre fibrinogeno liquido (12,01 \pm 0,58%), *i*-PRF a 3300 rpm \times 3 minuti (1220 g) (12,12 \pm 0,69 fL) e C-PRF a 2500 rpm \times 8 minuti (700 g) (11,9 \pm 1,4%) e con centrifuga fissa per produrre fibrinogeno liquido (11,61 \pm 0,71%) e A-PRF (11,43 \pm 3,7%) (Tabella II). Anche utilizzando provette Vacumed FL (cod. 44909) sia con centrifuga fissa che oscillante si sono riscontrati valori alti di PDW nel produrre A-PRF (11,7 \pm 0,8% Centr. H) (11,77 \pm 0,6% Centr. F) (Tabella I) e *i*-PRF a 3300 rpm \times 3 minuti (1220 g) (11,65 \pm 0,85% Centr. H) e C-PRF a 2500 rpm \times 8 minuti (700 g) (11,58 \pm 0,46% Centr. H) (Tabella I).

Il MPV massimo riscontrato con provetta Vacumed FL è stato di 9,428 \pm 0,69 fL, con provette originali S-PRF è stato di 9,56 \pm 0,77 P=0,49 fL qualunque sia il tipo di centrifuga utilizzato; il PDW massimo riscontrato con provetta Vacumed FL è stato di 11,71 \pm 0,66%, con provette originali S-PRF è stato di 11,7 \pm 1,95 P=0,974% qualunque sia il tipo di centrifuga utilizzato. Pertanto non si è evidenziata una differenza significativa di valori relativi sia al tipo di provetta che di centrifuga usati.

La PDW è risultata significativamente e negativamente correlata con la Plt (Plt nella produzione di A-PRF con centrifuga orizzontale [H]), ($\rho = -0,773$, $P < 0,05$) e nel C-PRF con centrifuga fissa ($\rho = -0,627$, $P < 0,01$) con provetta Vacumed FL (Tabella III), anche con MPV ($\rho = -0,885$, $P < 0,01$) nella produzione di A-PRF H (Figura 1B).

È stata osservata anche una correlazione inversa ma poco significativa tra MPV e Plt ($\rho = -0,548$, $P = 0,09$) con provetta Vacumed FL nella produzione di A-PRF H.

Nell'esame della produzione di C-PRF con centrifuga fissa e provetta Vacumed FL è stata riscontrata una correlazione positiva e significativa tra MPV e Plt ($\rho = 0,759$, $P < 0,01$) e tra PDW e MPV ($\rho = 0,778$, $P < 0,01$) e negativamente significativa tra PDW e Plt ($\rho = -0,627$, $P < 0,01$) (Tabella III), i valori di p sono stati corretti col metodo Bonferroni.

Anche la correlazione tra PDW e MPV con provetta Vacumed FL è risultata fortemente positiva in tutte le formulazioni di PRF liquido tranne nel Fibr.Liquido, *i*-PRF (3300 rpm \times 3 minuti) e A-PRF prodotte con centrifuga

TABELLA III.—Coefficiente di correlazione di Spearman tra parametri piastrinici con centrifuga orizzontale (H) e fissa (F) in vari tipi di PRF liquida con provetta Vacumed FL (cod. 44909).

TypePRF	Fibr.L.H.	Fibr.L.F.	i-PRF H.	i-PRF F.	i-PRF H.	i-PRF F.	A-PRF H.	A-PRF F.	C-PRF H.	C-PRF F.
	2700 rpm x 3/816 g		3300 rpm x 3/1220 g		700 rpm x 5/55 g		1300 rpm x 5/189 g		2500 rpm x 8/700 g	
Plt/MPV	r=0,388 P=0,255	r=0,542 P=0,026*	r=0,394 P=0,247	r=0,570 P=0,015*	r=0,542 P=0,102	r=0,474 P=0,036*	r=-0,548 P=0,098	r=0,128 P=0,629	r=0,264 P=0,443	r=0,759 P=0,001**
Plt/PDW	r=0,979 P=0,811	r=0,111 P=0,665	r=0,318 P=0,354	r=0,400 P=0,099	r=0,285 P=0,407	r=0,253 P=0,277	r=-0,773 P=0,011*	r=-0,121 P=0,646	r=-0,152 P=0,657	r=-0,627 P=0,004**
PDW/MPV	r=-0,785 P=0,009**	r=0,520 P=0,033*	r=-0,864 P=0,002**	r=0,534 P=0,024*	r=0,885 P=0,001**	r=0,585 P=0,008*	r=-0,885 P=0,001**	r=0,690 P=0,004**	r=0,803 P=0,007**	r=0,778 P=0,001**

Con provetta Vacumed FL (cod. 44909); *P<0,05 (differenza significativa); **P<0,01; ***P<0,001 (differenza altamente significativa).

TABELLA IV.—Coefficiente di correlazione di Spearman tra parametri piastrinici con centrifuga orizzontale (H) e fissa (F) in vari tipi di PRF liquida con provetta originale verde S-PRF.

TypePRF	Fibr.L.H.	Fibr.L.F.	i-PRF H.	i-PRF F.	i-PRF H.	i-PRF F.	A-PRF H.	A-PRF F.	C-PRF H.	C-PRF F.
	2700 rpm x 3/816 g		3300 rpm x 3/1220 g		700 rpm x 5/55 g		1300 rpm x 5/189 g		2500 rpm x 8/700 g	
Plt/MPV	r=-0,188 P=0,584	r=0,467 P=0,166	r=-0,118 P=0,726	r=0,584 P=0,060	r=0,624 P=0,054	r=0,730 P=0,003**	r=-0,103 P=0,759	r=0,187 P=0,529	r=0,321 P=0,349	r=0,853 P=0,001**
Plt/PDW	r=-0,552 P=0,096	r=0,167 P=0,626	r=-0,358 P=0,296	r=0,195 P=0,548	r=0,370 P=0,279	r=0,654 P=0,009**	r=-0,079 P=0,811	r=-0,021 P=0,939	r=-0,385 P=0,259	r=-0,413 P=0,177
PDW/MPV	r=-0,815 P=0,006**	r=0,633 P=0,05	r=-0,515 P=0,123	r=0,655 P=0,031*	r=0,745 P=0,016*	r=0,917 P=0,001**	r=-0,945 P=0,001**	r=0,598 P=0,033*	r=0,370 P=0,279	r=0,563 P=0,057

Con provetta Vacumed FL (cod. 44909); *P<0,05 (differenza significativa); **P<0,01; ***P<0,001 (differenza altamente significativa).

orizzontale in cui si è avuta una correlazione fortemente negativa.

La correlazione tra PDW e MPV con provetta S-PRF è risultata fortemente positiva in tutte le formulazioni di PRF liquida tranne nel fibrinogeno liquido, i-PRF (3300 rpm x 3 minuti) e A-PRF prodotte con centrifuga orizzontale (H) in cui si è avuta una correlazione fortemente negativa. In sintesi non abbiamo riscontrato differenze tra l'uso di provette Vacumed FL e/o S-PRF nella correlazione PDW/MPV.

La PDW è significativamente e negativamente correlata con MPV ($\rho=-0,815$, $P<0,01$) nella produzione di fibrinogeno L H e di A-PRF H ($\rho=-0,945$, $P<0,01$) con l'uso di una provetta S-PRF. La PDW è risultata significativamente e positivamente correlata con MPV ($\rho=0,917$, $P<0,01$) nella produzione con centrifuga fissa di i-PRF 700 rpm x 5 minuti e tra MPV e Plt ($\rho=0,730$, $P<0,01$) e in C-PRF ($\rho=0,853$, $P<0,01$) (Tabella IV) i valori di P sono stati corretti col metodo Bonferroni.

I valori ottenuti sui prelievi con PRP dei 20 pazienti sono: Plt: $323\pm 57,51$ K/ μ L; MPV: $6,52\pm 2,68$ fL; Pct: $0,027\pm 0,051\%$; PDW: $7,93\pm 5,32\%$, tutti valori notevolmente inferiori a quelli ottenuti in tutti i tipi di PRF liquida (Tabella I).

Il coefficiente di correlazione di Spearman per il PRP tra Plt e MPV è $\rho=0,635$, $P=0,001$ e tra Plt e PDW è $\rho=0,628$ $P=0,001$, correlazione fortemente positiva.

Abbiamo provveduto a verificare la significatività attraverso i tests di Wilcoxon dei valori con scarsa correlazione riportati nelle Tabella III, IV tra Plt, MPV e PDW.

La significatività tra Plt e MPV risultati nella produzione di A-PRF con centrifuga fissa e provetta Vacumed FL sono $p<0,022$ al test di Wilcoxon; la significatività tra Plt e PDW nella produzione di A-PRF e fibrinogeno liquido con centrifuga fissa e provetta Vacumed FL sono $P<0,022$, di C-PRF è $P<0,020$ con centrifuga oscillante, rispettivamente ai Test di Wilcoxon.

Tra Plt e PDW nella produzione di fibrinogeno liquido e i-PRF (3300 x 3 minuti) con centrifuga fissa e provetta S-PRF sono $P<0,020$; è $P<0,018$ ai Test di Wilcoxon; tra Plt e MPV nella produzione di A-PRF e fibrinogeno liquido con centrifuga oscillante e provetta S-PRF è $P<0,020$; e $P<0,020$; e i-PRF (3300 x 3 minuti) sono $P<0,020$ con centrifuga oscillante.

Discussione

Le piastrine concentrate presenti nella PRF liquida sono responsabili, dopo la loro attivazione, della secrezione attiva dei fattori di crescita e dell'induzione del fabbisogno, della proliferazione e della differenziazione di varie cellule coinvolte nel processo di rigenerazione tissutale. Un nostro studio recente ha dimostrato che la riduzione

della forza centrifuga relativa porta ad un aumento significativo del numero totale di piastrine e leucociti e della quantità di fattori di crescita, indicando che il concetto di centrifugazione a bassa velocità si traduce in un aumento del potenziale di rigenerazione della PRF liquida.⁵ MPV e PDW sono indici piastrinici facilmente misurabili nelle formulazioni liquide di PRF, che aumentano durante l'attivazione piastrinica. Infatti per ottenere una superficie più ampia le piastrine cambiano forma durante l'attivazione. La loro forma cambia da discoidale a sferica, si formano anche pseudopodi. Gli analizzatori ematologici basati sulla tecnologia dell'impedenza misurano il volume delle piastrine mediante la deformazione del campo elettrico, che dipende dal diametro verticale delle piastrine, mentre gli analizzatori con tecnologia ottica laser determinano il volume delle cellule in base al diametro trasversale delle stesse. Pertanto le piastrine attivate sembrano più grandi indipendentemente dal metodo di misurazione. Tuttavia si ritiene che il loro contributo come indice di attivazione piastrinica possa essere meglio dimostrato da ulteriori e più ampi studi clinici. Le osservazioni in questo lavoro devono ovviamente essere confermate in studi su larga scala, preferibilmente con un disegno RCT.

La PDW è un indicatore di eterogeneità nella dimensione delle piastrine. Valori di PDW più elevati riflettono un intervallo più ampio della dimensione delle piastrine, che può derivare da una maggiore attivazione, distruzione e consumo delle piastrine. Un altro possibile meccanismo fisiopatologico responsabile di una maggiore variabilità delle dimensioni delle piastrine è l'ipercoagulabilità.

Abbiamo anche osservato che la PDW è diversa nei cinque gruppi di studio (Tabelle I, II) ed è ipoteticamente dovuta ad una variabile attivazione piastrinica. Abbiamo attribuito l'aumento della PDW all'anisocitosi piastrinica, che deriva dalla formazione di pseudopodi. In generale gli indici piastrinici non dovrebbero essere utilizzati singolarmente come indicatori diretti dell'attivazione piastrinica, ma l'aumento simultaneo di MPV e PDW potrebbe rivelare un'attivazione piastrinica, come illustrato nelle nostre osservazioni.

PDW e MPV derivano entrambi dallo stesso istogramma di distribuzione del volume piastrinico; teoricamente, misurano rispettivamente la distribuzione dimensionale e la dimensione media delle piastrine. La nostra attuale analisi, tuttavia, mostra che PDW e MPV sono ampiamente convergenti nella loro relazione con i livelli di concentrazione piastrinica. L'MPV, misurato nel presente studio, ha mostrato di essere un valido test di funzionalità piastrinica. Questa interpretazione dei nostri risultati è supportata

ta dalla presenza di correlazioni significative tra PDW e MPV, qualunque sia il tipo di provetta usata e di centrifuga adottata. Il nostro studio rappresenta un primo tentativo di chiarire il possibile significato funzionale piastrinico di questo indice sulla base di un approccio osservazionale in laboratorio.

Conclusioni

L'MPV e soprattutto il PDW aumentano durante l'attivazione piastrinica, come evidenziato dagli analizzatori ematologici automatizzati. Anche se il nostro campione (piccolo) di studio è sufficiente per rivelare differenze significative, le differenze più piccole e minori potrebbero essere state omesse. Il PDW sembra essere un indicatore più specifico dell'attivazione piastrinica rispetto all'MPV, poiché non è risultato elevato durante la distensione piastrinica singola causata dal rigonfiamento piastrinico. L'uso combinato e simultaneo di MPV e PDW analizzato nel presente studio potrebbe prevedere l'attivazione delle piastrine in modo efficiente. In conclusione, il tipo di PRF liquida, in una gerarchia, in cui si è evidenziata un'attivazione piastrinica più evidente, analizzando i valori di MPV e PDW, è risultato essere A-PRF liquido. Al seguito, alla pari dal fibrinogeno liquido e da i-PRF (3300 × 3 minuti) poi da C-PRF e i-PRF (700 × 5 minuti), alla fine nella graduatoria risulta il PRP. In particolare sia il MPV che PDW, con l'uso di provette Verdi S-PRF usate con centrifuga ad angolo fisso, risultano gli indici di maggiore attivazione piastrinica con la produzione di A-PRF liquido, nonostante un ultimo lavoro del nostro gruppo su cavalli abbia dimostrato scarsa correlazione tra MPV, rapporto MPV/Pc e dimensioni della membrana di A-PRF+.¹⁸

Questo studio mai eseguito sulla PRF liquida ci consentirà di applicare la terapia di rigenerazione guidata naturalmente (NGR-T) in modo più ampio e sicuro in contesti clinici. Il lavoro è innovativo e la capacità degli autori di correlare i cambiamenti della morfologia piastrinica con gli indici funzionali apre nuove strade per la ricerca futura sulle terapie basate su PRF liquida.

Tuttavia si ritiene che il loro contributo possa essere meglio dimostrato da ulteriori e più ampi studi clinici. Le osservazioni in questo lavoro devono ovviamente essere confermate in studi su larga scala, preferibilmente con un disegno RCT che mette in correlazione Plt MPV, PDW e i vari fattori di crescita di derivazione piastrinica (FGF- β , PGDF, IGF, EGF, VEGF, TGF- β) poiché l'attivazione piastrinica può essere presente anche in soggetti in apparente benessere.

Bibliografia

1. Khalifa M, Helmy M, Goda A, Hasanein K. Platelet-rich Fibrin for Chronic Wounds Management. *Egypt J Hosp Med* 2021;85:3878–82.
2. Choukroun J. Advanced PRF & i-PRF: Platelet Concentrates or Blood Concentrates? *J Periodontol Med Clin Pract* 2014;1–3.
3. Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Del Corso M, Dohan Ehrenfest D. Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to reconstructive surgery milieu. *J I A C D* 2009;6:21–32.
4. Crisci A. La rigenerazione dei tessuti con Fibrina Ricca di Piastrine. I Nuovi Concentrati Piastrinici. Roma: Ed. Aracne; 2021.
5. Crisci M, Lepore G, Feleppa F, Crisci A, Flagiello F. Cytomorphological Analysis of Liquid PRF Produced with DUO Fixed Angle Centrifuge (Process, France). *Eur J Biomed Res* 2024;3.
6. Vagdatli E, Gounari E, Lazaridou E, Katsibourlia E, Tsikopoulou F, Labrianou I. Platelet distribution width: a simple, practical and specific marker of activation of coagulation. *Hippokratia* 2010;14:28–32.
7. Khan H, Masood A, Bari F, Tabassum N, Ameerzullah. Role of mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW) and platelet large cell ratio (PLCR) in diagnosis of hyperdestructive thrombocytopenia. *Prof Med J* 2019;26:1266–71.
8. Zhang Y, Chen Y, Lv J, Xiang X, Wang P, Feng W, *et al.* The Potential Value of Mean Platelet Volume and Platelet Distribution Width as Inflammatory Indicators in Surgical Necrotizing Enterocolitis. *J Inflamm Res* 2024;17:4117–27.
9. Izzì B, Gialluisi A, Gianfagna F, Orlandi S, De Curtis A, Magnacca S, *et al.*; On Behalf Of The Moli-Family Study Investigators. Platelet distribution width is associated with P-Selectin dependent platelet function: results from the Moli-family cohort study. *Cells* 2021;10:2737.
10. Tzur I, Barchel D, Izhakian S, Swarka M, Garach-Jehoshua O, Krutkina E, *et al.* Platelet distribution width: a novel prognostic marker in an internal medicine ward. *J Community Hosp Intern Med Perspect* 2019;9:464–70.
11. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, *et al.* Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clin Oral Investig* 2017;21:2619–27.
12. Crisci A. La fibrina ricca di piastrine ottimizzata con il concetto di bassa velocità di centrifugazione (LSCC): rilascio dei fattori di crescita, biocompatibilità e risposta cellulare, in: La rigenerazione dei tessuti con fibrina ricca di piastrine: i nuovi concentrati piastrinici. Roma: Ed. Aracne; 2021. p. 77-91.
13. Miron RJ, Chai J, Zhang P, Li Y, Wang Y, Mourão CF, *et al.* A novel method for harvesting concentrated platelet-rich fibrin (C-PRF) with a 10-fold increase in platelet and leukocyte yields. *Clin Oral Investig* 2020;24:2819–28.
14. Kargarpour Z, Panahipour L, Miron RJ, Gruber R. Fibrinogen Concentrations in Liquid PRF Using Various Centrifugation Protocols. *Molecules* 2022;27:2043.
15. Serafini G, Lopreiato M, Lollobrigida M, Lamazza L, Mazzucchi G, Fortunato L, *et al.* Platelet rich fibrin (PRF) and its related products: biomolecular characterization of the liquid fibrinogen. *J Clin Med* 2020;9:1099.
16. Rattanasuwan K, Rassameemasmaung S, Kiattavorncharoen S, Sirikulsathean A, Thorsuwan J, Wongsankakorn W. Platelet-rich plasma stimulated proliferation, migration, and attachment of cultured periodontal ligament cells. *Eur J Dent* 2018;12:469–74.
17. Crisci M, Lepore G, Feleppa F, Crisci A, Flagiello F. Analisi citomorfologica di fibrina ricca di piastrine liquida prodotta con centrifuga ad angolo fisso DUO (Process, Francia) per l'uso nella terapia rigenerativa delle ulcere cutanee. *Italian Journal of Wound Care* 2023;7.
18. Chiara M, Mariaelena C, Alessandro C, Davide B, Lavinia C, Paola MM, *et al.* Influence of haematological parameters on size of the advanced platelet-rich fibrin+ (A-PRF+) in the horse. *Res Vet Sci* 2024;177:105367.

Conflitti di interesse

Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse con alcuna ditta legata al contenuto del manoscritto.

Studi condotti su esseri umani e animali

Tutte le procedure descritte nello studio e che hanno coinvolto esseri umani sono state attuate in conformità alle norme etiche stabilite dalla dichiarazione di Helsinki del 1964 e successive modifiche.

Consenso informato

Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i pazienti inclusi nello studio.

Cronologia

Pubblicato online: 19 giugno 2025. - Accettato: 14 maggio 2025. - Ricevuto: 7 marzo 2025.