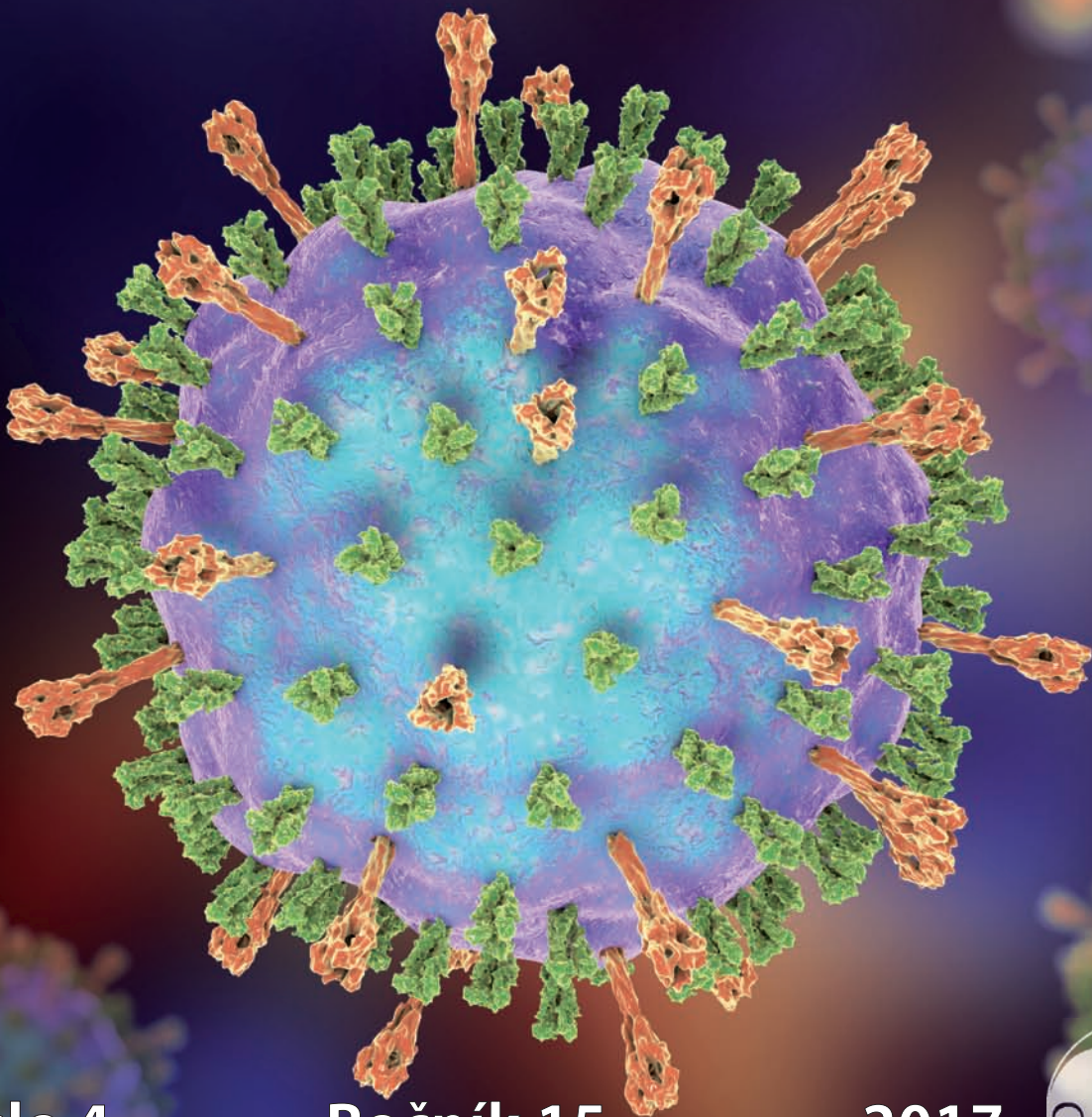


KAZUISTIKY V DIABETOLOGII

české a slovenské vydání



Číslo 4

Ročník 15

2017



Nová cesta pro efektivní využití destičkových faktorů v léčbě ran



Barbara Kubešová¹, Lucie Hlávková², Václav Kubeš³

¹VA-BIOS, s.r.o., Brno

²Future Medicine, s.r.o.

³Ústav patologické anatomie, FN Brno

Souhrn

Trombocytární růstové faktory jsou převážně glykoproteiny, které se nacházejí v alfa granulích krevních destiček. Zkušenosti vypovídají o tom, že každé lokální zvýšení destičkových faktorů vede k lokálnímu posílení hojivých a regeneračních procesů. K posílení hojivých procesů lze využít autologní, allogenní i xenogenní faktory. Možnosti využití jsou limitované infekčními riziky a legislativou.

Summary

A new way for effective use of platelet's factors in healings of wounds

Thrombocyte growth factors are mostly glycoproteins that are located in alfa granules of platelets. As the experience tells us, every local elevation of platelet's factors leads to on-site empowerment of healing and regeneration processes. The autologous, allogenic and xenogenic factors may be used for empowerment of healing processes. Possibilities of use of platelet factors are limited by the risk of infection and legislation.

Kubešová, B., Hlávková, L., Kubeš, V. Nová cesta pro efektivní využití destičkových faktorů v léčbě ran. Kazuistiky v diabetologii 15, 4: 15-18, 2017.

Klíčová slova

- destičkový faktor
- růstové faktory
- destičkový lyzát
- plazma bohatá na destičky

Keywords

- platelet factor
- growth factors
- platelet lysate
- platelet rich plasma

Složení

Trombocytární růstové faktory jsou z chemického hlediska proteiny a glykoproteiny, které jsou uloženy v alfa granulích krevních destiček. a granula obsahují množství proteinů, které mají silný účinek na hojení ran. V současné době je známo přibližně jedenáct destičkových růstových faktorů, avšak ukazuje se, že se nejedná o konečný počet. Mezi nejznámější patří PDGF (platelet derived growth factor), TGF- β (transforming growth factor), VEGF (vascular endothelial growth factor), EGF (epidermal growth factor), PDEGF (platelet derived endothelial growth factor), ECGF (epithelial cell growth factor), IGF (inzuline-like growth factor), Interleukin 8, FGF (fibroblast growth factor), CTGF (connective tissue growth factor), HGF (hepatocyte growth factor), keratinocyte growth factor, osteocalcin, osteonectin, fibrinogen, vitronectin, fibronectin, trombospondin-1 a další.

Růstové faktory se po uvolnění ihned váží na transmembránové receptory buněk přítomných v místě defektu. K buňkám, které obsahují receptory pro trombocytární růstové faktory, patří mezenchymální kmenové buňky (MSC), osteoblasty, fibroblasty, endoteliální buňky a buňky epidermis. Tyto buňky se aktivují a začínají proliferovat. Destičkové faktory po navázání na příslušné receptory stimulují kožní buňky k novotvorbě kolagenu a fibronektinu, čímž prokazatelně urychlují hojení

tkáň. Destičkové faktory významně působí na mezenchymální kmenové buňky, které chemotakticky přitahují, aktivují a podporují jejich diferenciaci i sebeobnovu. Důležitou vlastností mezenchymálních kmenových buněk je také to, že se v ischemické tkáni predilekčně diferencují do cévních buněk (angiogeneze), přičemž je tato vlastnost vysoce ceněná především v oblasti hojení ran.

Růstové faktory destiček se v humánní i veterinární medicíně využívají nejčastěji ve formě PRP (platelet rich plasma), méně často ve formě lyzátu.

PRP je definována hodně obecně. Uvádí se, že obsahuje minimálně dvojnásobek a více trombocytů, než je obsah v plné krvi. Destičkový lyzát (DL) je jednoduše řečeno koncentrátem PRP, při jehož technologickém postupu přípravy byly destručovány membrány a granulé a byl několikanásobně zvýšen počet destičkových faktorů oproti PRP.

Příprava

PRP se nejčastěji získává separační centrifugací. V současné době lze využít i přístrojové zařízení komerčních firem. Lékař by však měl znát vstupní hodnoty trombocytů, aby věděl, jakou hodnotu v PRP může očekávat, a tu by si měl opět ověřit laboratorním vyšetřením. Toto vyšetření bývá někdy opomíjeno a v praxi pak dochází k aplikacím různě koncentrovaného ne-

standardizovaně připraveného PRP. To často vede k odlišným klinickým výsledkům při aplikacích PRP na různých pracovištích.

PRP se vyrábí buďto v nesrážlivé krvi (citrát, EDTA) nebo jako tzv. PRF za vzniku plazmatického koagula, do kterého se trombocyty vychytají. V některých indikacích, zejména ve stomatologické chirurgii, je tento způsob přípravy výhodný a preferovaný.

Pro přípravu destičkového lyzátu se využívá PRP, ve kterém se následně destrukují buňky i alfa granula. Děje se to buďto opakovaným mrazením, anebo pomocí ultrazvuku. Využití destičkového lyzátu získává v současnosti na popularitě, protože navzdory složitější přípravě má lékař k dispozici 4 až 6krát více destičkových faktorů. Při tvrdé centrifugaci lze odstranit i zbytky destičkových membrán a aplikovaný destičkový lyzát pak nevytváří reaktivní zánět, což je naopak v případě aplikace PRP celkem běžné a někdy i žádoucí (estetická dermatologie), v jiných případech to však může působit problém. Bylo zjištěno, že destičky obsažené v PRP mohou interagovat s některými typy léčiv, jako jsou ASA, NSAID, některé typy antihypertenziv a antikoagulantů. Proto je nutné při aplikaci PRP tyto informace od pacientů cíleně zjišťovat a na základě toho upravit léčbu, aby zbytečně nedocházelo k vyblokování účinku PRP léčivy. Nespornou výhodou DL je tedy i to, že tyto nežádoucí interakce není nutno při a po aplikaci řešit.

Využití

PRP se používá v ortopedii, kde je aplikována do kloubů pro zmírnění projevů artrózy, nebo k poškozeným šlachám, kde urychluje jejich hojení. Toto využití je shodné v humánní i veterinární medicíně.

PRP nebo destičkový lyzát se s úspěchem používá v oblasti hojení ran, a to zejména ran chronických a těžko hojitelných, jako jsou bérkové vředy, anální fisury, píštěle, diabetické rány a dekubity.

Chirurgové používají PRP i při operacích, protože PRP pomáhá stavět krvácení a současně startuje v organismu žádoucí hojivé procesy. Zejména ve stomatologii, při těžších ortodontických zákrocích, se PRP používá již vcelku běžně.

Velký prostor pro využití destičkových faktorů se objevil v oblasti plastické a estetické chirurgie, kde aplikace PRP do podkoží má zřetelný omlazující účinek. V kombinaci s kyselou hyaluronovou se daří vyplňovat nejen vrásky, ale i prohluběnky v kůži nejrůznějšího původu. Zajímavé je, že v naší republice je právě tato oblast využití PRP nejčastější, zatímco například v Německu se více než dvě třetiny přístrojů k separaci PRP používají pro oblast hojení ran.

Destičkový lyzát je oproti tomu více využíván v oftalmologii, zejména v indikaci syndromu suchého oka, a je účinný i tam, kde jiné typy léčby selhávají. Nejčistší forma DL se používá jako suplement do média, zejména při kultivaci mezenchymálních kmenových buněk.

V neposlední řadě je DL stále více využíván i v oblasti hojení ran, a to právě pro rychlý nástup hojivého účinku. Z praktického hlediska by měl být destičkový lyzát, který je po zpracování ve formě mírně viskózního fluidního roztoku, navázán na jednoduchý gelový nosič, aby nebyl z rány předčasně

vyplaven. Následně je možné, po předchozím vyčištění, tuto heterogenní směs topicky aplikovat na předem připravenou ránu, která by měla být zbavena nejen nežádoucích bakterií, ale především biofilmů a nekrózy. V této souvislosti bychom rádi upozornili na skutečnost, že pokud se použijí dezinficencia na bázi jódu či alkoholu, může dojít k nechtěné denaturaci proteinových molekul destičkových faktorů. Na trhu již skutečně takový produkt existuje. Byl vyvinutý týmem lékařů v České republice a zdá se, že doposud nemá ani v členských zemích EU podobnou substituci. Tento, co se týče obsahu, standardizovaný produkt je možné získat v lékárnách pod názvem Healer gel. Jedná se o xenogenní (zvířecí) lyzát v jednoduchém karbopolymerním (vodném) gelu, který má kyselý pH (5,5), čímž se ještě zvýší prohojivý účinek v ráně. Z bovinní krve, odkud je DL získáván, se centrifugují, separují a likvidují veškeré jiné zbytky krve, mimo plazmu a krevní destičky. Odstraňují se především leukocyty, zodpovědné za imunopatologickou odpověď, proto nemohou vyvinout žádnou alergickou či imunologickou reakci.

Healer gel s obsahem DL byl již s úspěchem použit na regeneraci a podporu hojení jak v dermatologických indikacích (opary, afty, akné, poradiační dermatitidy, vlhké zapárky, fisury, ragády, některé typy ekzémů, psoriáza, na iritované pokožce po přístrojových zákrocích typu plazma, laser aj.), tak i jako podpůrné ošetření pro posílení regenerace v rámci hojení akutních i chronických ran (diabetická noha, pooperační rány bez sutur, bérkové vředy, proleženiny, otlaky, popáleniny aj.).

Z farmakologického hlediska je nespornou výhodou takového preparátu, že nemají žádné systémové a lokální vedlejší účinky (pouze je možná prchavá lokální iritace daná kyselým pH citrátové formy gelu). **Hlavní efekt topického přípravku s DL pak spočívá v posílení přirozeného hojení vlastního organismu.** Využití je mohou jak těhotné a kojící, tak i děti, dospělí a senioři. Po jednoduché aplikaci dochází k rychlému vstřebání a velmi rychlé odezvě organismu v podobě urychlení celého procesu hojení.

Bylo zjištěno, že destičkové faktory působí i mezidruhově. Byl vyvinut také veterinární přípravek Healer ANIMAL gel, který s úspěchem hojí rány jak savců (zejména psi, kočky, koně), tak i u exotických zvířat, například plazů a ptáků.

Kazuistiky

Neuroischemická rána diabetika 2. typu

Muž, 62 let, diabetik 2. typu s dlouhodobě se nehojící neuroischemickou ránou, po amputaci pravého palce, vlhká gangréna situovaná v plantární části defektu. Uzávěr ATA i ATP a ADP bilaterální, nevhodné k chirurgickému ani endovaskulárnímu řešení, sekundárně diagnostikována jaterní cirhóza toxonutriční etiologie. Po amputaci palce se defekt nehojil, plánována byla ještě následná transmetatarsální amputace, pacient však nebyl rozhodnut. Přišel do podiatrické ambulance k vyšetření s žádostí o druhý názor stran nutnosti amputace pro nehojící se diabetický defekt.

Léčba: Komplexní terapie (sulodexid, lokální, infuzní ozonoterapie, hepatoprotektivní podávání HepaDrinku, celková antibiotická terapie, probiotická suplementace preparátem Lyo-



Obr. 1



Obr. 2



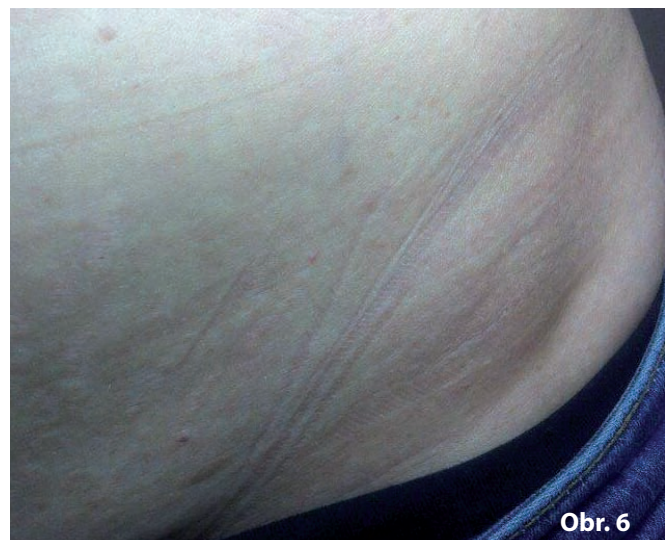
Obr. 3



Obr. 4



Obr. 5



Obr. 6

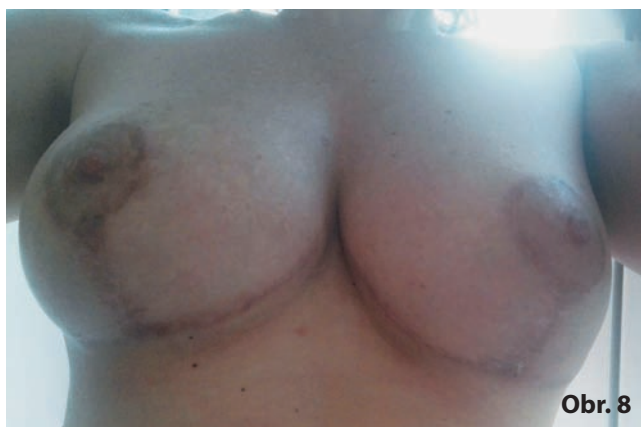
vis), odlehčení defektu. Obr. 1 a obr. 2 ukazují stav po příchodu pacienta na podiatrické pracoviště. Pro nepostupující stav (žádný posun v hojení ani tři měsíce po zahájení terapie) aplikován lokálně gel s xenogenními destičkovými faktory (Healer), následně došlo k oživení spodiny rány, objevily se živé granulace a výrazný pokrok v hojení. Lze konstatovat, že po změně lokálního krytí za Healer gel, došlo již po šesti týdnech k významnému urychlení hojení rány (obr. 3 a obr. 4). Další vyšší amputaci na chirurgii bylo možno zrušit.

Strie

Žena, 46 let, více než 20 let staré striae lokalizované na břicho. Během měsíce jí byla provedena třikrát neinvazivní plazmatapie za pomoci zařízení pro kosmetickou mezoterapii (PUREBEAU LADY LINER) a kosmetického gelu s xenogenními destičkovými faktory (Healer gel). Obr. 5 ukazuje část břicha před zákrokem a obr. 6 stejnou část břicha po ukončení procedury.



Obr. 7



Obr. 8

Nehojící se jizvy na prsou

Žena, 39 let, rekonstrukce prsů šest měsíců po operaci pro malignitu a následně po dvoutýdenní aplikaci xenogenního destičkového lyzátu Healer. Obr. 7 – jizva před aplikováním gelu s DL, obr. 8 – jizva po dvoutýdenní aplikaci gelu s DL.

Závěr

Vedle mnoha osvědčených postupů, které pomáhají nejen lékařům v jejich snaze posunout hojení ran, ale především pacientům v jejich samotném procesu uzdravování, se jeví být minimálně zajímavé využití také plazmy bohaté na destičky (PRP) nebo samotného DL. Využívá se u chronických i akutních poškození. V odborné literatuře se neřídka popisuje významný pozitivní účinek na chronické, nehojící se povrchové i hluboké kožní rány a bércové vředy. Dochází k poklesu pooperačních infekcí, snížení bolestí a k zmenšení pooperačního krvácení. Některá pracoviště již standardně využívají autologní PRP při těžkých rekonstrukčních operacích, a to zejména v oblasti ústní a čelistní chirurgie. Stále více se PRP i DL využívá v estetické a plastické chirurgii. Již poměrně běžně se vlastní plazma obohacená krevními destičkami aplikuje do podkoží k efektu omlazení pleti, při mezoterapii, plazmaterapii nebo k podpoře hojení jizev. Na několika krátkých kazuistikách jsme ukázali možnosti použití regeneračního kosmetického gelu Healer s xenogenními destičkovými faktory a plazmou a poukázali jsme na univerzální a bezpečnou možnost využití tohoto produktu v podpoře regenerace a hojení ran. Především pak v péči o nemocné diabetiky s neuroischemickými ranami lze dopo-

ručit aplikovat lokálně gel s DL na neochotně granulující a epitelizující rány a tam, kde je problematický přechod do dalšího, respektive vyššího stadia hojení.

Literatura

- Schmitz, J. P., Hollinger, J. O. The biology of platelet-rich plasma (letter to the editor). *J Oral Maxillofac Surg* 59, 9: 1119–1120, 2001.
- Carlson, N. E., Roach, R. B. Jr. Platelet-rich plasma: clinical applications in dentistry. *J Am Dent Assoc* 133, 10: 1383–1386, 2002.
- Schilephake, H. Bone growth factors in maxillofacial reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 31, 5: 469–484, 2002.
- Pietramaggiore, G., Kaipainen, A., Czacuga J. M. et al. Freeze-dried platelet-rich plasma shows beneficial healing properties in chronic wounds. *Wound Repair and Regen* 14, 5: 573–580, 2006.
- Marx, R. E. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 62, 4: 489–496, 2004.
- Hom, D. B., Linzie, B. M., Huang, T. C. The healing effects of autologous platelet gel on acute human skin wounds. *Arch Facial Plast Surg* 9, 3: 174–183, 2007.
- Alio, J. L., Abad, M., Artola, A. et al. Use of autologous platelet-rich plasma in the treatment of dormant corneal ulcers. *Ophthalmology* 114, 7: 1286–1293, 2007.
- Marx, R. E., Carlson, E. R., Eichstaedt, R. M. et al. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 85, 6: 638–646, 1998.
- Bates, D. O., Lodwick, D., Williams, B. Vascular endothelial growth factor and microvascular permeability. *Microcirculation* 6, 2: 83–96, 1999.
- Yancopoulos, G. D., Davis, S., Gale, N. W. et al. Vascular-specific growth factors and blood vessel formation. *Nature* 407, 6801: 242–248, 2000.
- Bowen-Pope, D. F., Vogel, A., Ross, R. Production of platelet-derived growth factor-like molecules and reduced expression of platelet-derived growth factor receptors accompany transformation by a wide spectrum of agents. *Proc Natl Acad Sci U S A* 81, 8: 2396–2400, 1984.
- Singh, J. P., Chaikin, M. A., Stiles, C. D. Phylogenetic analysis of platelet-derived growth factor by radio-receptor assay. *J Cell Biol* 95, 2 Pt 1: 667–671, 1982.
- Cicha, I., Garlich, C. D., Daniel, W. G., Goppelt-Struebe, M. Activated human platelets release connective tissue growth factor. *Thromb Haemost* 91, 4: 755–760, 2004.
- Mirabet, V., Solves, P., Miñana, M. D. et al. Human platelet lysate enhances the proliferative activity of cultured human fibroblast-like cells from different tissues. *Cell Tissue Bank* 9, 1: 1–10, 2008.
- Kurtz, C. A., Loebig, T.G., Anderson, D. D. et al. Insulin-like growth factor I accelerates functional recovery from Achilles tendon injury in a rat model. *Am J Sports Med* 27, 3: 363–369, 1999.
- Aspenberg, P., Virchenko, O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand* 75, 1: 93–99, 2004.
- Caloprisco, G., Borean, A., Chronic skin ulcers: a regenerative simulation by topical hemotherapy. *Int J Artif Organs* 27, 9: 816–817, 2004.
- Fassmann, A., Izakovičová-Hollá, L., Slapničková, J. Kostní tkáňové inženýrství v orofaciální oblasti. Hradec Králové: Nucleus HK, 2006.
- Man, D., Plosker, H., Winland-Brown, J. E. The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg* 107, 1: 229–237, 2001.
- Noble, B. A., Loh, R. S., MacLennan, S. et al. Comparison of autologous serum eye drops with conventional therapy in a randomised controlled crossover trial for ocular surface disease. *Br J Ophthalmol* 88, 5: 647–652, 2004.
- Kubešová, B. Vliv zpracování destičkového lyzátu na hladinu vybraných destičkových faktorů. *Transfuzie Hematol Dnes* 19, 4: 223–228, 2013.

MUDr. Barbara Kubešová