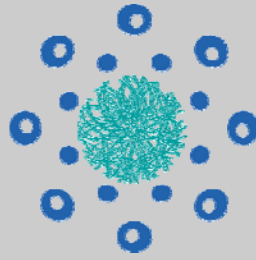
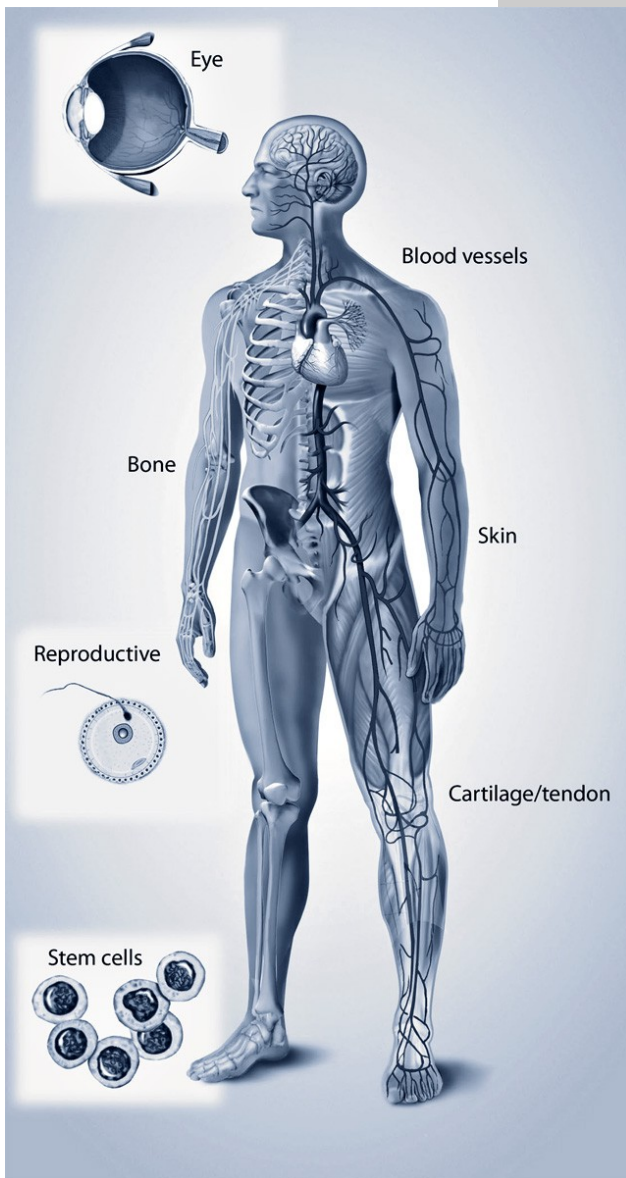


RegenLab



Linee Guida in

MEDICINA RIGENERATIVA



ISO 9001-2000
ISO 13485-2003
ISO 14644 (GLP)



SWISSmedic

L'Azienda

ReGenLab è stata fondata nel 2003 dall'esperienza maturata negli anni nel settore ospedaliero. Lo staff dirigenziale ha una solida conoscenza nell'ambito dei medical devices e dell'industria farmaceutica.

1. CERTIFICAZIONI

L'azienda è certificata **ISO 9001** e **ISO 13485** e segue tutti gli standard qualitativi nella produzione di sistemi per la rigenerazione biologica dei tessuti.

Patent: International publication number WO 2008/022651A1

New Platelet Rich Plasma for extemporaneous use and combination thereof with skin and bone cells P-47-616-PCT.

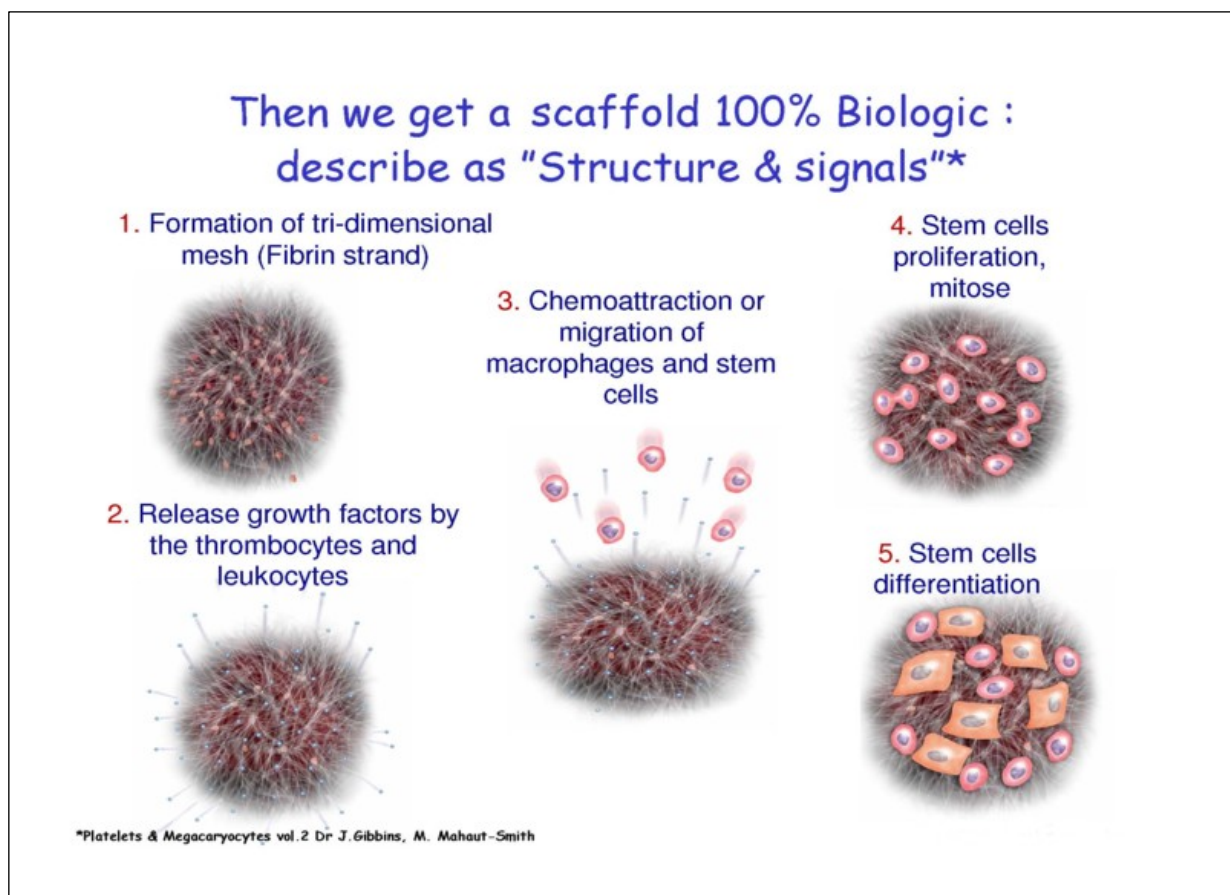
2. MISSION

La mission dell'azienda e' quella di fornire un valido supporto nell'ambito dell'utilizzo delle cellule del paziente quali prodotto terapeutico nella medicina rigenerativa garantendo sicurezza e qualità. Lo staff è in continuo aggiornamento tecnico e scientifico.



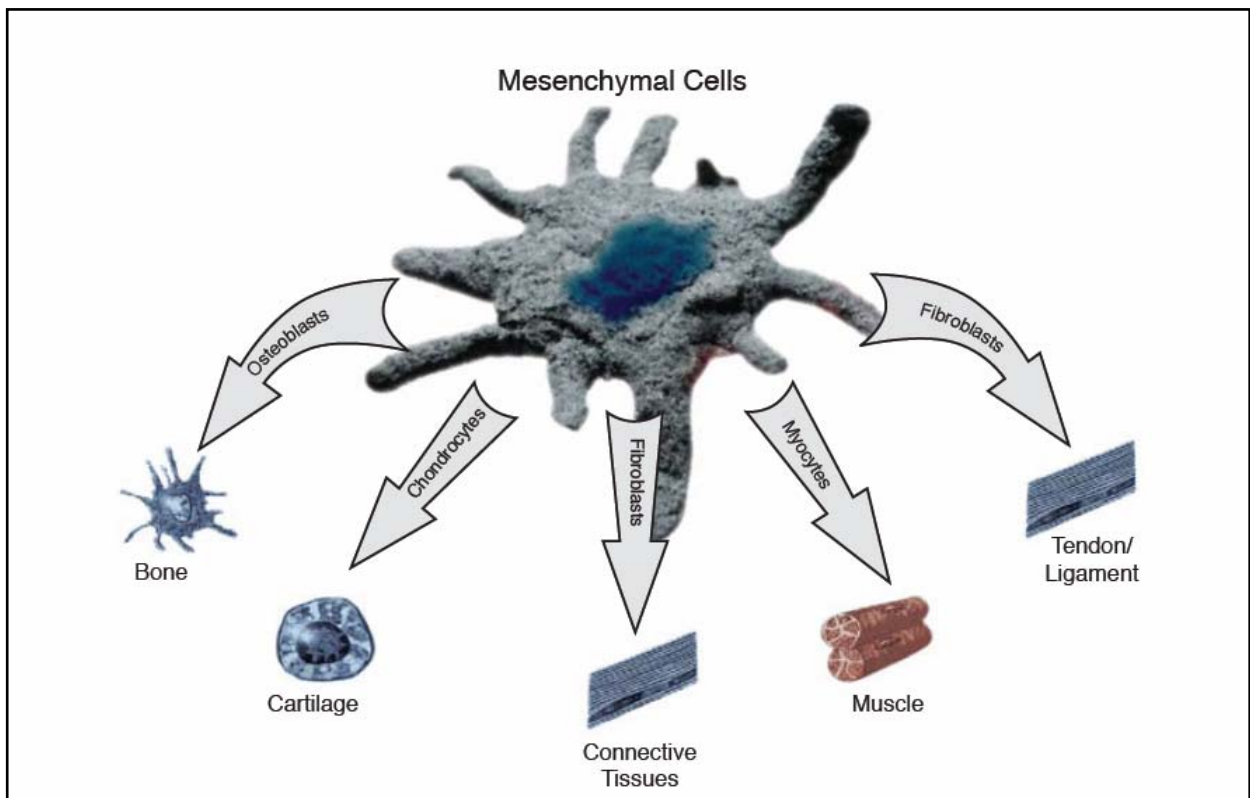
Tecnologie per la preparazione di Concentrati Cellulari Autologhi nelle Terapie Rigenerative

1. Meccanismo fisiologico dei processi di rigenerazione e guarigione



Tecnologie per la preparazione di Concentrati Cellulari Autologhi nelle Terapie Rigenerative

2. Meccanismo fisiologico dei processi di rigenerazione e guarigione: differenziazione delle Cellule Mesenchimali



REGENLAB: Soluzione completa per la Medicina Rigenerativa

Le caratteristiche dei sistemi sono:

- ❖ Presidi medico-chirurgici in classe IIb
- ❖ Valicati per uso clinico sul paziente
- ❖ Procedura a circuito chiuso
- ❖ Elevata semplicità d'uso
- ❖ Processo di volumi di concentrati cellulari adeguati alle diverse esigenze chirurgiche
- ❖ Alta concentrazione cellulare
- ❖ Performances riproducibili
- ❖ Versatilità nella consistenza del prodotto

RegenCentrigel

La metodica si avvale di un sistema hardware costituito da una centrifuga le cui caratteristiche peculiari sono:

- Rotore con alloggiamenti dedicati per i kit monouso RegenLab
- Possibilità di inserimento di appositi alloggiamenti per la produzione di membrane cellulari
- Angolazione di centrifugazione calibrata per l'ottimizzazione del processo di separazione e di concentrazione cellulare nel prodotto finito

RegenKit

La metodica si avvale inoltre di presidi medico chirurgici monouso sterili dedicati alla raccolta e concentrazione di specifiche cellule dedicate alle terapie rigenerative

1.

RegenPRP

Gamma di Kit dedicati alla raccolta e al processo di sangue intero periferico per la preparazione di concentrati di Fattori di Crescita Piastrinici (PDGF)

I fattori di crescita vengono utilizzati a scopo di bio stimolazione in tutte quelle patologie di perdita di sostanza. La loro applicazione crea un effetto bio riparatore determinata da una accelerazione della proliferazione cellulare del paziente

2.

RegenKit Membranes

Kit dedicato alla raccolta e al processo di sangue intero periferico per la preparazione di membrane di Fibrina arricchite di Fattori di Crescita Piastrinici (PDGF)

Le membrane di fibrina vengono utilizzate laddove e' necessario ottenere un effetto emostatico-contenitivo oppure come supporto per la migrazione cellulare.

3.

RegenExtracell

Kit dedicato alla raccolta e al processo di aspirato midollare per la preparazione di concentrati di cellule staminali da bone marrow (BMSC)

Le cellule staminali permettono una accelerazione nella proliferazione cellulare ed una differenziazione delle stesse.

4.

RegenATS

Kit dedicato al processo di plasma povero di piastrine per la preparazione di siero di trombina autologa. La trombina viene utilizzata quale attivatore dei concentrati cellulari e permette la gelificazione del prodotto finito per ottimizzare il suo posizionamento "in situ".

I kit sono marchiati CE

LA MEDICINA RIGENERATIVA

1. DEFINIZIONE

La medicina rigenerativa rappresenta un nuovo approccio terapeutico finalizzato alla rigenerazione biologica del tessuto anziché alla sua sostituzione.

2. I CONCENTRATI CELLULATI

I concentrati cellulari, contengono numerosi e importanti fattori di crescita capaci di stimolare diversi meccanismi cellulari inerenti la crescita tissutale tra cui: l'angiogenesi, la chemiotassi dei macrofagi, la proliferazione e la migrazione dei fibroblasti e la sintesi del collagene.

3. LE CELLULE STAMINALI

Le cellule staminali, sono cellule non specializzate che si rinnovano attraverso la divisione cellulare per un periodo indefinito di tempo e che possono trasformarsi in cellule specializzate di vari tessuti dell'organismo. Grazie a questa proprietà le cellule staminali hanno la capacità di riparare organi danneggiati rimpiazzando cellule morte o non più funzionanti. Le cellule staminali si trovano nell'embrione, in alcuni tessuti dell'adulto (ad esempio nel midollo osseo), e nel cordone ombelicale. A seconda della loro provenienze, le cellule staminali sono totipotenti se possono dare origine a qualsiasi tipo di tessuto multipotenti se possono trasformarsi solo in alcuni tessuti.

4. LE PIASTRINE

Le piastrine esplicano, soprattutto durante il processo riparativo del danno tissutale, tutte le loro funzioni e, in particolare: l'emostasi, il mantenimento dell'integrità capillare, la fagocitosi, il trasporto attivo, la riparazione, la cicatrizzazione e la secrezione.

5. I FATTORI DI CRESCITA

Lo stimolo riparativo e rigenerativo tissutale è indotto dai fattori di crescita GFs contenuti negli alfa granuli delle piastrine e liberati durante il processo di formazione del coagulo.

Questi ultimi stimolano la replicazione delle cellule mesenchimali ed esplicano azione chemiotattica verso polimorfonucleati, monociti e macrofagi.

Sappiamo inoltre che i fattori di crescita (GF) sono piccoli frammenti di proteine biologicamente attive appartenenti al gruppo di citochine, e che i citochine si legano ai recettori di membrana per attivare (o inibire, se è il caso) la funzione cellulare, determinando una specifica rigenerazione delle cellule e lo sviluppo di tessuto in cui è collocato

I GFs degli alfa granuli sono numerosi e ognuno esplica una sua funzione specifica.

Tra di essi si ricorda:

- ▶ **PDGF:** (Platelet Derived Growth Factor) è il primo ad essere rilasciato in caso di lesione. Il suo compito è stimolare la replicazione cellulare (mitogenesi), la differenziazione premitotica degli osteoprogenitori ed inoltre stimola la replicazione delle cellule endoteliali e promuove l'angiogenesi.
- ▶ **EGF:** (Epidermal Growth Factor) è responsabile della differenziazione cellulare e stimola la re-epitelizzazione, l'angiogenesi e l'attività del collagene.
- ▶ **IGF:** (Insulin Growth Factor) importante nella guarigione delle ferite ed inoltre stimola la proliferazione e le diverse funzioni degli osteoblasti.
- ▶ **VEGF:** (Vascular Endotelium Growth Factor) è implicato in processi come infiammazione, angiogenesi delle cellule ischemiche. Induce un aumento della permeabilità dei capillari sanguigni, comportando la formazione di edema.
- ▶ **FGF:** (Fibroblast Growth Factor) fattore di crescita dei fibroblasti.

Tra i fattori di crescita di trasformazione **TGF:** (Transforming Growth Factor) che regolano la proliferazione e la differenziazione di numerose specie cellulari tra cui: osteoblasti, fibroblasti, cellule endoteliali, condroprogenitori e cellule staminali mesenchimali si ricordano:

- ▶ **TGF alfa:** fattori positivi che trasformano la crescita cellulare, aumentandola.
- ▶ **TGF beta:** fattori negativi che trasformano la crescita cellulare, inibendola.

6. VANTAGGI CLINICI

L'utilizzo delle cellule autologhe per la medicina rigenerativa presenta importanti vantaggi clinici

- ▶ È una "sostanza" naturale e di derivazione umana
- ▶ Non esistono effetti collaterali quali possibili allergie o intolleranze
- ▶ È privo di tossicità per i tessuti su cui è applicato
- ▶ Promuove la formazione in pochi secondi di un coagulo ben aderente ai tessuti
- ▶ È completamente riassorbibile nell'arco di pochi giorni
- ▶ Stimola i processi riparativi e la crescita dei tessuti lesi su cui è applicato

7. EFFETTI CLINICI

- ▶ Stimolazione della proliferazione cellulare
- ▶ Stimolazione dei processi bioriparativi e rigenerativi
- ▶ Stimola l'angiogenesi e la rivascolarizzazione dei tessuti
- ▶ Stimolazione della proliferazione delle cellule mesenchimali

TESSUTI MOLLI, EPIDERMIDE, DERMA

- ▶ Stimolazione alla guarigione delle ferite
- ▶ Stimolazione alla produzione di fibroblasti
- ▶ Accelerazione della cicatrizzazione
- ▶ Biostimolazione alla produzione di collagene

OSSO, MUSCOLO CARDIACO

- ▶ Accelerazione dello sviluppo dei tessuti ossei
- ▶ Capacità osteoinduttiva
- ▶ Stimolazione alla produzione di osteoblasti
- ▶ Stimolazione alla produzione di miociti

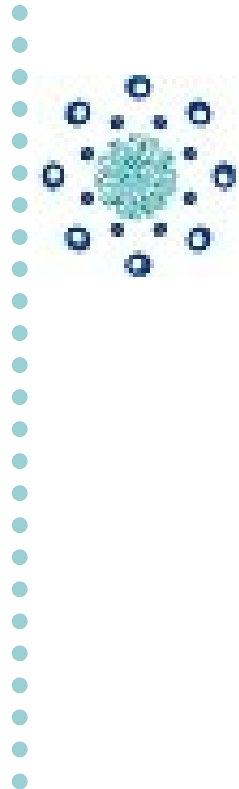
8. EFFETTI CLINICI SECONDARI

- ▶ Riduzione del dolore post operatorio
- ▶ Riduzione delle infezioni post operatorie
- ▶ Riduzione del sanguinamento post operatorio

9. APPLICAZIONI

- ▶ **CHIRURGIA ORTOPEDICA:** accelera la mineralizzazione ossea, aumenta la densità trasecolare dell'osso e favorisce l'osteconduzione. È usato negli interventi di osteosintesi, nelle resezioni ossee dove possono crearsi ampie cavità e nelle artroprotesi;
- ▶ **CHIRURGIA SPINALE:** si è notato che il PLT gel riduce il ricorso all'utilizzo di emocomponenti nel trattamento della scoliosi nei pazienti giovani.
- ▶ **CHIRURGIA MAXILLO-FACCIALE:** è usato durante la fase ricostruttiva negli interventi di resezione, nel trattamento di fistole oro-nasali, nella ricostruzione mandibolare anche in associazione al trapianto allo genico o alloplastico, negli interventi di rialzo del seno mascellare
- ▶ **CHIRURGIA ODONTOSTOMATOLOGICA:** è usato in implantologia per la sua attitudine osteogenetica, da solo o in associazione a materiali allogenici o artificiali, nelle resezioni delle cisti del mascellare e negli esiti di apicectomia, in chirurgia parodontale in soggetti con difetto di cicatrizzazione ed emostasi;
- ▶ **CARDIOCHIRURGIA:** oltre al consolidato trattamento delle deescenze sternali è stato dimostrato che l'elevata concentrazione di GFs nelle aree di danno cardiaco dopo infarto nelle infezioni virali e nei casi di ipertrofia stimola la rigenerazione dei miocardiociti, l'angiogenesi ed il ripristino della composizione fisiologica della matrice cellulare.
- ▶ **CHIRURGIA OCULISTICA:** negli interventi del foro maculare in cui si usano piastrine iper-concentrate senza attivazione per indurre uno stimolo fibroblastico-rigenerativo nella sede della lesione.
- ▶ **CURA DELLE ULCERE CUTANEE CRONICHE:** rappresentano una delle patologie più costose per la sanità e di grosso impatto sulla qualità di vita il gel piastrinico ha da sempre un vasto utilizzo, infatti si inserisce nella vasta gamma dei nuovi presidi terapeutici nel trattamento di questa patologia.
- ▶ **CHIRURGIA ESTETICA:** negli interventi di lipofilling associato al grasso permette che questo attecchisca nella zona dove viene iniettato in una percentuale più alta che se si introducesse isolatamente.
- ▶ **MEDICINA ESTETICA:** nei trattamenti di bio stimolazione si è notata una maggior proliferazione dei fibroblasti, la produzione di collagene di tipo III, elastina e acido ialuronico dai loro precursori, prolina, lisina e glucosamina; i fattori di crescita determinano una specifica rigenerazione delle cellule e lo sviluppo del tessuto trattato.

CHIRURGIA ORTOPEDICA



ABSTRACT

HOME STUDY PROGRAM.

INTRAOPERATIVE USE OF AUTOLOGOUS PLATELET-RICH AND PLATELET-POOR PLASMA FOR ORTHOPEDIC SURGERY PATIENTS.

Kathleen M. Floryan, RN; William J. Berghoff, MD.

AORN JOURNAL (October 2004) 668-674

INTRODUZIONE:

Il gel di piastrine autologo, che viene ricavato dal plasma ricco in piastrine (PRP), presenta da due a quattro volte la concentrazione piastrinica basale; i range normali di quest'ultima sono compresi tra circa 150.000 e 350.000 piastrine per millimetro cubo. La concentrazione piastrinica misurata nel PRP è di 1.000.000 di piastrine per mm³.

MATERIALI E METODI:

Un trial clinico è stato condotto applicando gel di piastrine autologo e plasma povero di piastrine (PPP) in un gruppo di pazienti sottoposti a TKA (artroplastica totale del ginocchio); il gruppo di studio comprendeva 27 pazienti mentre il gruppo di controllo 13. (Table 1)

	Control Group	Platelet concentrate Group
Gender		
Male.	3	11
Female.	10	16
Weight (kg)		
Mean weight	93	87
Range	64 to 127	42 to 115
Age		
Mean age	65	66
Range	51 to 84	44 to 83

(Table 1)

RISULTATI:

Nel gruppo di studio, l'utilizzo del gel di piastrine ha portato importanti benefici per i pazienti: **diminuzione dei drenaggi** nel postoperatorio, riduzione del bisogno di somministrare **farmaci** per via orale e/o endovenosa ed inoltre un facile ritorno alla **normale mobilità** con una conseguente **riduzione dei giorni di ricovero** nel postoperatorio; alcuni reports hanno riportato che il tempo di ricovero si riduca dal 25% al 40% .

ABSTRACT

CLOSED SURGERY: AUTOLOGOUS PLATELET GEL FOR THE TREATMENT OF PSEUDOARTHROSIS.

Anna Rughetti, Stefano Flamini, Olivo Colafarina, Luigi Dell'Orso, Alessandra Filoni, Rita Gallo, Rosangela Costantini, Giuseppina De Michelis, Albina Lupo.

Blood Trasfusion 2004; 2: 37-43.

INTRODUZIONE:

La litotripsia extracorporea a onde d'urto (ESWL) già da alcuni anni si propone come terapia innovativa, non invasiva, scevra da complicanze e ben tollerata dal paziente nel trattamento delle pseudoartrosi.

Scopo dello studio è stato quello di valutare l'efficacia delle onde d'urto elettromagnetiche nelle pseudoartrosi dei piccoli e grandi segmenti ossei in associazione con la tecnica di infiltrazione con il gel piastrinico (PG) autologo; a tal fine è stato selezionato un gruppo di pazienti in cui il solo trattamento con un ciclo di tre sedute di onde d'urto non si è rivelato efficace per la guarigione.

MATERIALI E METODI:

Da febbraio 2002 a settembre 2003 sono stati arruolati allo studio 16 pazienti, 11 maschi e 5 femmine, con pseudoartrosi alle ossa lunghe.

Il protocollo terapeutico proposto ha previsto in media un ciclo di tre applicazioni di PG autologo ad intervalli di 3-4 settimane. Il follow-up ha previsto un controllo radiologico mediamente a 2, a 4 e a 6 mesi dalla prima applicazione.

RISULTATI:

I controlli di qualità eseguiti sul prodotto finale fresco hanno evidenziato una grande variabilità sia nel numero di piastrine sia, soprattutto, nel conteggio dei globuli bianchi, nonché nella concentrazione di fibrinogeno attribuibile, probabilmente, alla preparazione manuale del CP e del CRIO. (Table 1)

Baseline platelet count x 10 ³ /microlitre (patient's blood count)	295+/- 91
Platelet count x 10 ³ /microlitre of the final product (PC+CRIO)	3.218 +/- 498
Total platelet count of the final product (platelet x 10 ⁹)	80.20+/- 21
Baseline white cell count/ microlitre x 10 ³ /microlitre of final product (PC+CRIO)	21.38+/-17.3
Fibrinogen content (mg) of final product (PC+CRIO)	406 +/- 204

(Table 1)

Per quanto riguarda i risultati clinici (Tab 2) una paziente si è sottoposta a reintervento dopo solo un mese dalla fine del trattamento ed è stata quindi esclusa dallo studio. In tutti gli altri il follow-up ha previsto un controllo radiologico a 2, 4, 6 mesi dalla prima applicazione. Tutti hanno riferito un miglioramento della sintomatologia dolorosa, quindi della funzionalità dell'arto, già dopo qualche giorno dalla prima infiltrazione. La valutazione dei risultati ha mostrato una consolidazione completa del focolaio di pseudoartrosi a circa 4-6 mesi in 12 casi e parziale in 2; un caso non ha risposto al trattamento dopo un ciclo di 3 sedute.

In un paziente di 44anni, con pseudoartrosi per pregressa frattura di tibia, è stata sufficiente una singola applicazione.

Patient n°	Age (years)	Sex (m/f)	Site of fracture	N° of session with PG	Time of consolidation (days)
1	36	M	Humerus	5	180
2	68	M	Femur	2	45
3	46	M	Tibia	2	90
4	52	M	Humerus	3	90
5	83	F	Humerus	3	No consolidation
6	56	M	Tibia	3	180
7	44	M	Tibia	1	60
8	39	F	Femur	2	90
9	49	F	Humerus	3	Out of follow-up
10	37	M	Tibia	2	60
11	21	M	Ulna	4	120
12	31	F	Femur	2	60
13	41	M	Radius	3	120
14	59	F	Femur	4	180
15	61	M	Radius	5	180
16	42	M	Femur	3	180

(Table 2)

CONCLUSIONI:

L'applicazione del PG nel trattamento coadiuvante della rigenerazione di tessuto osseo, sta dimostrando un evidente efficacia.

Si è constatato una risposta decisamente più rapida nonché una percentuale di guarigione di gran lunga superiore rispetto ai casi trattati precedentemente solo con terapia ad onde d'urto.

I tempi brevi di guarigione e i buoni risultati ottenuti ci inducono a considerare questa nuova metodica come una tra le più efficaci e promettenti, nonché semplici ed economiche, nel trattamento di patologie così imprevedibili quali le pseudoartrosi.

ABSTRACT

SHOULDER SURGEON AND AUTOLOGOUS CELLULAR REGENERATION (ACR)- FROM BENCH TO BED: PART ONE- THE LINK BETWEEN THE HUMAN FIBROBLAST, CONNECTIVE TISSUE DISORDERS AND SHOULDER.

PHD. DPHIL (OXON), FCS., FRCS.

*¹RESEARCH FELLOW, DIVISION OF ANATOMY AND HISTOLOGY,
ACADEMIC DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES,
FACULTY OF HEALTH SCIENCES,
UNIVERSITY OF STELLENBOSCH, SOUTH AFRICA.*

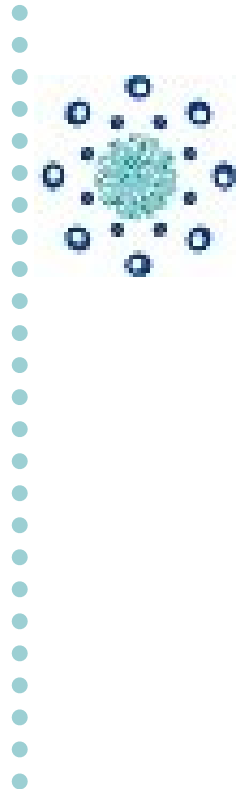
*¹DIABETES MELLITUS DISCOVERY RESEARCH PLATFORM, MEDICAL RESEARCH COUNCIL, PAROW, SOUTH AFRICA
et al.*

DATE: 29 July 2007(version 1)

The process of autologous cell regeneration (ACR) is a facet of cell therapy and regenerative medicine. It is initiated when activated autologous platelet rich plasma alone (PRP), containing cytokines or growth factors, is injected into the dermis or other structure in order to initiate a regenerative or antiaging process. The recipients resident cells at the target zone are activated by biologically active growth factors, derived from the activated platelets in the PRP through a paracrine effect. The platelet gel that contains the fibrin and clumped platelets, releases growth factors that influences activation of macrophages, and stem cells in the recipient site. Tissue regeneration is facilitated by stem cell proliferation and differentiation. The PRP that has sealant and wound healing properties, may shift the wound healing cascade to the left, thereby speeding up tissue regeneration and remodelling by the use of the recipients own plasma.

Both the fibroblast and myofibroblast play key roles in the wound healing cascade. The fibroblast, of mesenchymal origin, plays a pivotal role in the formation of the extracellular matrix and deposition of collagen. A failure of organised fibroblast function results in important and disabling disease processes and conditions such as chronic ischaemic heart disease and remodelling of the heart, lung fibrosis, fibromatosis, solar aged-face, keloids, hypertrophic scar formation, nodular fasciitis, inguinal hernia, Dupuytren's disease and scleroderma .More recent additions include frozen shoulder and the captured shoulder. In aesthetic medicine, one of the prime functions of fractional photothermolysis with lasers, intense pulsed light and radiofrequency devices, is to stimulate dermal fibroblast proliferation, by thermal energy thereby increasing collagen deposition which enhances facial rejuvenation. Platelet –rich plasma (REGENLAB PRP, REGENLAB-ACR) possesses unique growth factors that stimulate, fibroblast, keratinocyte and myoblasts ex vivo in tissue culture, allowing 3 dimensional cell proliferation within the fibrin gel. PRP can be used as a cell carrier (ie keratinocytes, fibroblasts), may enhance cell retention at the point of treatment. REGENKIT is authorized for human use, ISO and CE marked. In this overview fibroblast morphology, tissue culture and cell biology relevant to the shoulder surgeon is reviewed.

WOUND HEALING



ABSTRACT

CAN WE INCREASE THE RATE OF WOUND HEALING BY USING AUTOLOGOUS PLASMA SOLUTION OBTAINED WITH THE REGEN PRP KIT?

PD Dr med. Wassim Raffoul, et al.

The aim of this clinical research was to evaluate the potential for wound healing of autologous plasma preparation enriched with thrombocytes obtained with the Regen PRP (platelet rich plasma) kit. The Regen PRP kit was evaluated for its simplicity and rapidity of use in real situations such as « point of care » pre- or perioperative procedures related to plastic surgery. The kit allows the preparation of an autologous solution of plasma enriched with thrombocytes, having a minimal amount of erythrocytes, in order to obtain a « white clot » in the wound bed. This PRP preparation, derived from the blood of the patient, can be used in the field of surgery, for treatment of severe burns and for the transplantation of cells and tissues.

It is well known that leukocytes and thrombocytes, imbedded in the fibrin mesh surrounding a wound, synthesise and release all molecules required for the healing process following a specific time sequence. Using a solution of plasma enriched with thrombocytes prepared with Regen PRP kit, an high concentration of thrombocytes is obtained which results in an increase of amount of growth factors and signal molecules available for an optimal and faster healing process. Also, the PRP preparation contains all the supplementary factors (vitamins, essential elements etc.) Because all constituents retrieved in the PRP are from autologous origin, the risk of a local immunological reaction is ruled out.

ABSTRACT

INNOVATION IN DERMATOLOGY : The use of autologous platelet-enriched plasma in three cases

M. Rave¹, C.H. BraccoNolin CH¹, J. Berthou¹, M.H. Choulet¹, A. Grumblat¹, S. Cairey-Remonnay

Pharmacy Department, 2Dermatology Department, Besançon University Hospital, France

BACKGROUND

Emerging cellular therapies such as platelet-rich plasma (PRP) provides wound management options. Local application of a solution of plasma enriched with thrombocytes derived from the patient's blood intends to increase the wound repair rate and reduce pain. The efficacy of the treatment has been proven in surgical applications, in the treatment of severe burns and in transplantation of cells and tissues. Our study deals with leg ulcers. Protocol was performed with ReGen Lab product : ReGenPRP-Kit.

METHODS

The treatment involved one application of autologous PRP to the wound every 15 days. Dressings were changed every 2 days using Jelonet® or Melolin® according to local protocol. The total wound surface area was measured before the first treatment (T0), after two treatments (T2) and after five treatments (T5).

RESULTS

Three patients were treated : 2 for chronic ulcer and 1 for perforated ulcer of the foot (table). In each case, there was rapid epidermisation after the first application of ReGenPRP.

	Age (years)	Sex	Risk factors	Location of lesion and pathology	No. of lesions	No. of treatments	Total surface area of lesion (cm ²)		
							T0	T2	T5
Patient 1	83	Female	Lower limb obstructive arteriopathy Rheumatoid arthritis Knee prosthesis	Mixed chronic ulcers on the two lower limbs, with tendons exposed	5	8	97.6	72.2	20.7
Patient 2	80	Female	Post-phlebitis venous insufficiency Knee and hip prosthesis Allergy	Chronic venous ulcer	2	8	109.6	56.3	42.8
Patient 3	58	Male	Underlying chronic osteitis Diabetes Chronic alcoholism	Perforated ulcers of the foot	1	9	12.3	8.7	7.4

CONCLUSION

This new strategy provides varied results in patients ; some of whom with encouraging results were hospitalised for several months after failing to respond to conventional treatments.

ABSTRACT

IMPACT OF PLATELETS CONCENTRATE AND KERATINOCYTE SUSPENSION ON WOUND HEALING – A PROSPECTIVE RANDOMIZED TRIAL

W. Raffoul, MD¹, S. Guerid, MD¹, D. Hayoz, MD², M. Benathan, PhD³

¹Plastic and Reconstructive Surgery Service, CHUV, Rue du Bugnon 46, 1011 Lausanne, Vaud, Switzerland

²Internal Medicine Department, CHUV, Rue du Bugnon 46, 1011 Lausanne, Vaud, Switzerland

³Skin graft laboratory, Av. de Beaumont 29, 1011 Lausanne, Vaud, Switzerland

BACKGROUND:

Despite the progress achieved in the last decade, wound healing remains a difficult subject to which modern medicine does not always have an efficient answer. Currently, it has been well established that platelets play a fundamental role in wound healing, primarily through the formation of platelet clots and the release of many growth factors and cytokines.

DESIGN:

Prospective randomized trial

METHODS:

- I) The platelet concentrate collected from 10 volunteers using the RegenKit[®] filter system (Regen Lab, Switzerland) was, at first, qualitatively evaluated in vitro.
- II) The study included thin skin graft samples collected from 45 patients between June 2005 and March 2006 at CHUV, Vaud, Switzerland. After randomization, patients were treated either with a standard dressing or using platelet concentrate with or without a suspension of keratinocytes. Healing of the region where the skin graft was first collected was compared across the 3 groups, looking at the duration and quality of the healing process as well as the inflicted pain.

RESULTS:

- I) Blood centrifugation using the RegenKit[®] system (Regen Lab, Switzerland) yielded four times the concentration of platelets compared to standard methods of platelet collection, stability over time and neutrality with regards to coagulation parameters.
- II) Reduction of healing time from 12 days for the control group to 7 days for the APG group and down to 5 days for the APG+K group with significant decrease of inflicted pain.

Fig 1: Duration in days until complete cicatrisation

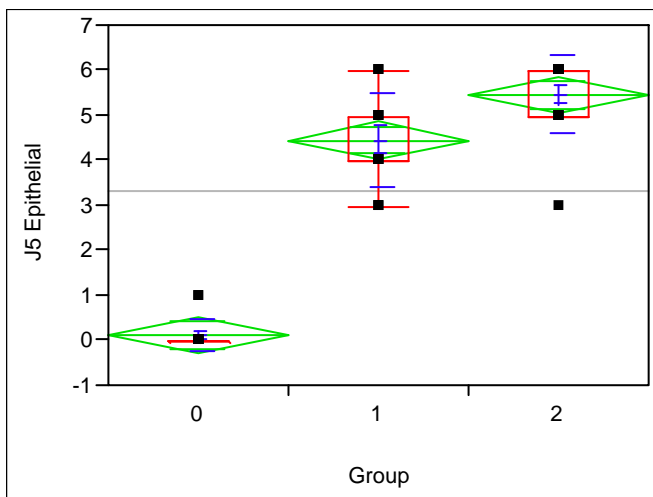
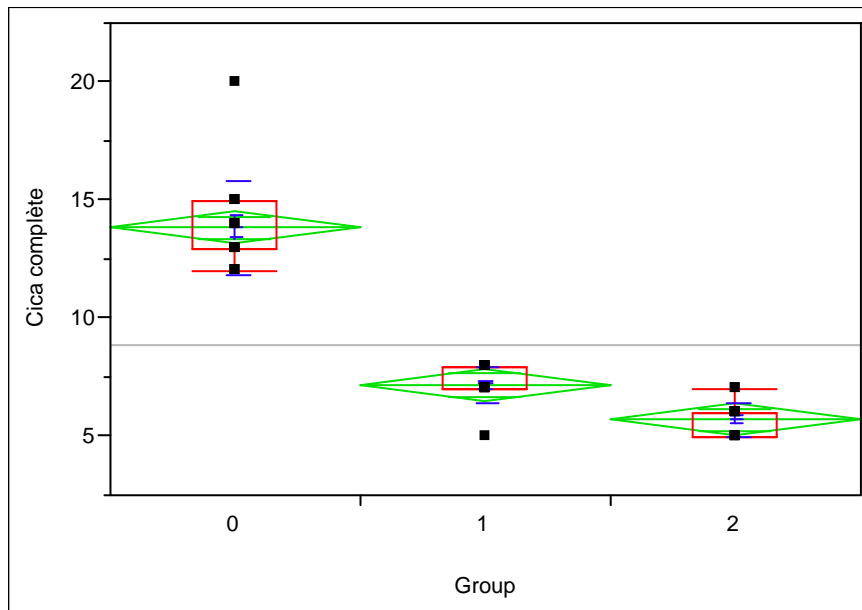


Fig 2: Epithelialization quality at day 5

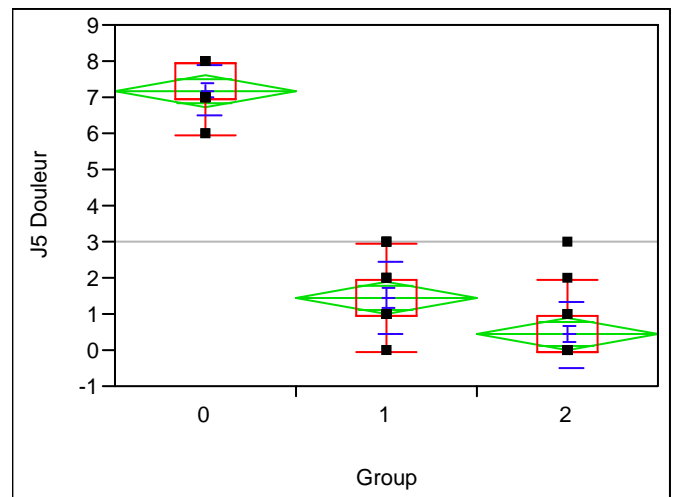


Fig 3: Pain evaluation at day 5

CONCLUSIONS:

The results of this study confirm our speculations on the major role of the enriched platelet clot in stimulating wound healing. This also supports the possibility of using this concentrate to carry a suspension of autologous keratinocytes. This latter combination proves to be the most effective way to heal a wound.

This study has also revealed the beneficial effects this product has on pain, inflammatory reactions and the final appearance of the scar. It is interesting to note that the procedure used opens the path towards a more efficient treatment of chronic wounds such as ulcers, eschars, diabetic neuropathies or necrotic angiodermatitis.

PUBBLICAZIONE

ECONOMIE : Regenlab réduit le temps de cicatrisation des plaies

Auteur: Ghislaine Bloch

Le Temps - ECONOMIE Page 1 of 1

<http://www.letemps.ch/template/print.asp?article=190081> 27.09.2006

MEDECINE

La société vaudoise développe du matériel médical vendu aux hôpitaux.

Au pied du Jura vaudois, dans le petit village de Mollens, la société Regenlab développe une nouvelle génération de matériel médical, qui vise à accélérer la cicatrisation des plaies.

Le produit ressemble à un simple tube en plastique dans lequel se trouve un gel. On y met le sang du patient, préalablement prélevé. Le tout est centrifugé pendant quelques minutes. Les globules rouges sont alors séparés des globules blancs. «Nous récupérons presque 100% des cellules qui nous intéressent. On obtient du plasma riche en plaquettes, explique Jean-Marc Le Doussal, directeur marketing de la société. C'est une sorte de colle biologique provenant du patient lui-même. Elle sera appliquée sur la plaie et stoppera l'hémorragie. Elle prévient également une contamination par des agents pathogènes.»

Chirurgie osseuse

Ce matériel vise à soigner les plaies de certains patients brûlés mais également les ulcères. D'autres applications sont envisagées pour soigner les blessures de personnes âgées qui cicatrisent difficilement. En outre, le procédé peut également être utilisé dans le domaine de la chirurgie osseuse. «Notre produit permet d'augmenter par exemple la masse osseuse avant la mise en place d'un implant dentaire», explique Antoine Turzi, fondateur et CEO de la société.

Regenlab a octroyé une licence exclusive à une société japonaise dans le domaine de la chirurgie esthétique.

Elle utilise le procédé pour combler les rides et autres imperfections des patients.

Dix collaborateurs Créé en 2003 par Antoine Turzi, un juriste de formation, Regenlab a obtenu le label CTI et une autorisation de commercialisation. Plusieurs hôpitaux utilisent les kits de l'entreprise, à l'exemple du Centre hospitalier universitaire de Lausanne (CHUV) ou des Hôpitaux universitaires de Genève (HUG). «Notre système a l'avantage d'être simple d'utilisation et bon marché. Le procédé permet surtout de réduire le temps de cicatrisation de quatorze à sept jours», souligne Antoine Turzi.

Dix personnes travaillent pour Regenlab. Aujourd'hui, la start-up commence à vendre son produit dans plusieurs pays d'Europe ainsi qu'au Japon. Des contacts en Chine sont également en cours.

Toutefois, les dirigeants de Regenlab préfèrent rester discrets en matière de ventes.

ABSTRACT

PLATELET GEL FOR HEALING CUTANEOUS CHRONIC WOUNDS.

Giovanni Crovetto et Al.

*Trasfusion and Apheresis Science 30 (2004)
145-151.*

INTRODUZIONE:

Le ulcere cutanee sono caratterizzate da una perdita tissutale che coinvolge l'epidermide, il derma e a volte anche il tessuto adiposo e muscolare; inoltre non è presente un processo di riparazione spontaneo e spesso il tessuto distrutto si risolve in una cicatrice fibrotica. L'eziologia delle ulcere è varia: vascolare, infettiva, neoplastica, da disordini metabolici e ferite di origine iatrogena. I fattori di crescita (GF) risultano essere molto importanti nei processi di guarigione delle ferite, infatti stimolano e modulano molte attività cellulari che partecipano a questi processi. Il gel di piastrine è un emocomponente ottenuto dalla miscelazione di piastrine iper-concentrate e di crioprecipitato nel quale i fattori di crescita sono rilasciati dagli alfa-granuli dopo l'attivazione piastrinica.

MATERIALI E METODI:

Le piastrine sono state ottenute mediante una plasmapiastrinoferesi anicoagulando il sangue con ACD in rapporto di 1:9, ottenendo così una concentrazione piastrinica $\geq 3 \times 10^{11}$ e un volume di plasma di 400ml. La preparazione a base di piastrine è stata mantenuta per 24 ore a 20°C in agitazione continua e divisa in aliquote di 20, 10, 5 e 3 ml a seconda delle dimensioni delle ulcere, ogni aliquota è stata poi conservata a -40°C, come lisato piastrinico.

Il PRP ottenuto attivato con trombina è stato miscelato per l'ottenimento di gel di piastrine e messo in una capsula di Petri o sopra di una garza sterile per l'applicazione sull'ulcera.

Tutti i pazienti sono stati sottoposti ad una visita iniziale che consisteva in un esame fisico completo e nella raccolta dei dati clinici. Il trattamento prevedeva un'applicazione settimanale del gel piastrinico e di un test batteriologico della ferita. Gli antibiotici orali/locali sono stati somministrati solo nel caso di una sintomatologia infettiva evidente.

L'applicazione del gel piastrinico è stata sempre preceduta dalla pulizia dell'ulcera attraverso irrigazioni con una soluzione isotonica.

Da marzo 2002, sono stati reclutati 24 pazienti con ulcere cutanee: 22 di questi non hanno avuto nessun tipo di risposta con le terapie convenzionali e 2 avevano la ferita ad uno stato iniziale. Il gruppo era rappresentato da 9 maschi e 15 donne con un'età media di 73 anni (range 46-88). L'eziologia dell'ulcera era di diversa natura: 9 ulcere diabetiche, 9 vascolari, 3 post-traumatiche, 2 neuropatiche, 1 vascolare. La grandezza iniziale media della ferita era di 67.4 cm² (range 0.2-3 cm²).

RISULTATI:

In 9 casi la guarigione completa dell'ulcera è stata ottenuta dopo 10 applicazioni di gel piastrinico (range 1-33), in 8 di questi casi la guarigione è stata completa mentre in un paziente l'ulcera durante i 4 mesi di follow-up si è riaperta.

Nove pazienti sono ancora sotto trattamento e 7 di questi presentano una diminuzione dell'area dell'ulcera > 50% e 2 pazienti <50% dall'inizio del trattamento con il gel piastrinico.

In 4 casi, infine il trattamento è stato sospeso a causa di: richiesta del paziente, comparsa di osteomielite e di cellulite. In totale sono state effettuate 323 applicazioni di gel piastrinico.

Durante il trattamento si è osservato la comparsa d'infezione in soli 2 casi, curata in entrambi i casi con terapia antibiotica. In nessun caso si sono avuti effetti avversi, in tutti i casi si è notato che la formazione di tessuto granulare è più veloce dopo la prima applicazione e che la completa re-epitelizzazione ha bisogno di tempi lunghi, a seconda della differente grandezza e durata dell'ulcera.

ABSTRACT

THE ROLE OF THE AUTOLOGOUS PLATELET-DERIVED GROWTH FACTOR IN THE MANAGEMENT OF DECUBITUS ULCER.

B. Aminiam MD et Al.

INTRODUZIONE:

Le ulcere da decubito rappresentano un importante problema medico-chirurgico. Molte terapie mediche spesso falliscono e i pazienti devono così ricorrere a interventi di chirurgia plastica ricostruttiva. L'obiettivo di questo studio è stato quello di valutare l'efficacia dei fattori di crescita derivati dalle piastrine (PDGF) nella cura delle ulcere, in confronto alle terapie convenzionali.

MATERIALI E METODI:

Lo studio ha incluso 50 pazienti che sono stati assegnati in modo random ai due gruppi: di studio e di controllo.

11 ulcere sono state trattate con PDGF, mentre 9 ulcere sono state trattate con terapie convenzionali l'età e il sesso dei pazienti non sono stati considerati importanti per la selezione del paziente.

RISULTATI:

Nel gruppo di studio, 4 pazienti sono guariti completamente mentre negli altri c'è stata una riduzione nella grandezza dell'ulcera

ABSTRACT

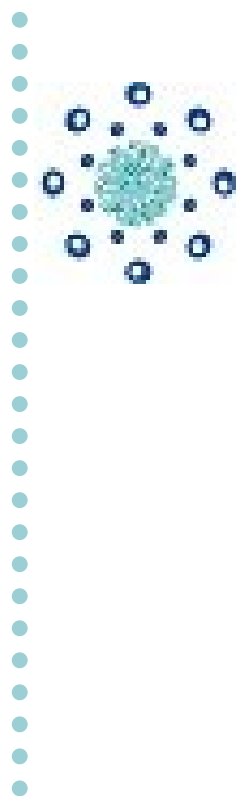
RegenPRP ENHANCES PROLIFERATION OF HUMAN EPIDERMAL, MESODERMAL AND DERMAL CELLS EX VIVO.

D.F. du Toit¹, W.J. Kleintjes., E.J Mazyala, L du Toit, B.J. Page.

*Division of Anatomy and Histology, Faculty of Health Sciences, University of Stellenbosch.¹
Diabetes Discovery Platform., MRC, South Africa.*

The regenerative outcomes of autologous fibroblast, keratinocyte and skeletal myoblasts and use of GF, have been reported in open ended phase-1 trials. Tissue culture (TC) studies, show that Platelet-Rich Plasma (PRP) can enhance gene expression of matrix molecules such as collagen. PRP is capable of stimulating fibroblast-generated collagen in vitro, due to the trophic platelet growth factor releasate (containing cytokines). Our study was aimed at ex vivo human epidermal, dermal, and mesodermal cell proliferation by RegenPRP, standard and serum free mediums (DMEM). TC were set up by explant technology and static, air-lifting, initially on adhesion molecule covered Petri-dishes, cultured at 37 degrees, 5% CO₂ and 95% air. TC between 7 and 14 days (fibroblasts, keratinocytes, and myoblasts) were replated on RegenPRP or collagen coated plates and exposed to RegenPRP (10,20,40%) and FCS (10,20%) and serum free medium. 100 specimens were equally divided into 415 explants, 3D culturing in fibrin. Results showed that RegenPRP added to DMEM was a far more potent mitogen for the cell line studies, compared to the proliferative capacity of conventional mediums. Also more potent than our historical controls with bFGF. RegenPRP strongly stimulated cell proliferation in the presence of monolayers (keratinocytes, fibroblasts and skeletal myoblasts). Further studies are in progress to study PRP affect on cell line differentiation and phenotype. In conclusion, RegenPRP provides potent trophic mitogens in vitro, devoid in conventional

CARDIO CHIRURGIA



ABSTRACT

THE USE OF AUTOLOGOUS PLATELET GEL TO TREAT DIFFICULT-TO-HEAL WOUNDS: A PILOT STUDY.

Laura Mazzucco et Al.

*Transfusion
Vol. 44, July 2004.*

INTRODUZIONE:

Le ulcere croniche possono beneficiare di trattamenti che prevedono l'utilizzo dei fattori di crescita (GFs), il gel di piastrine promuove la rigenerazione tissutale grazie proprio ai GFs.

MATERIALI E METODI:

Nello studio sono stati arruolati pazienti che presentavano ferite sternali e ulcere necrotiche, poiché questo tipo di lesioni, molto spesso guarisce con difficoltà a causa di malattie coesistenti. I pazienti sono stati divisi in due gruppi distinti: al primo gruppo appartenevano i pazienti che presentavano una ferita sternale come conseguenza di un intervento cardiocirurgico, mentre al secondo gruppo sono stati assegnati i pazienti affetti da un'ulcera necrotica severa. (Tab 1)

Entrambi i gruppi di studio sono stati messi a confronto con un gruppo di controllo che ha ricevuto trattamenti di cura convenzionali.

RISULTATI:

Nei pazienti affetti da deiscenza sternale trattati con il gel di piastrine (group 1) si è ottenuta una guarigione della ferita pari al 100%, in metà tempo rispetto ai pazienti trattati con le cure convenzionali.

La differenza per quanto riguarda i giorni di ricovero in ospedale è stata notevole: una media di 31,5 giorni versus 52,5. Durante il follow-up non è stato evidenziato nessun tipo di complicanza.

Nei pazienti affetti da ulcere necrotiche (group 2) trattati con gel di piastrine, il tempo richiesto per avere un intervento chirurgico era notevolmente più breve 15,0 settimane versus 35,5.

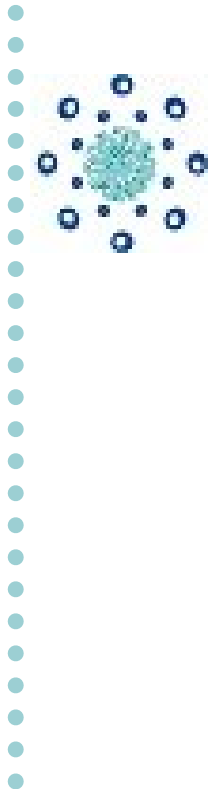
CONCLUSIONI:

I pazienti affetti da ferite croniche dimostrano di ottenere notevoli benefici quando vengono trattati con il gel di piastrine.

Tab 1

	treated	control
Group 1: Dehiscent sternal wounds		
Number	10	12
Mean age +/- SD, years	64+/-8	66+/- 5
Male/Female ratio	6/4	8/4
Primary disease, number (%)		
Ischemic disease	8 (80)	9 (75)
Valvular defect	2 (20)	3 (25)
Coexisting disease, number (%)		
Diabetes	5 (50)	7 (58)
Endocarditis	1 (10)	NA
Mediastinitis	1 (10)	NA
None	3 (30)	5 (41)
Group 2: Skin necrotic ulcers		
Number	17	14
Mean age +/- SD, years	61+/- 18	63 +/- 16
Male/Female ratio	8/9	5/9
Primary disease, number (%)		
Venous ulcers	3 (17)	5 (35)
Post-traumatic ulcers	5 (29)	3 (21)
Paraplegic ulcers	3 (17)	2 (14)
Arteriopathic ulcers	1 (6)	2 (14)
Leg- foot pressure ulcers	5 (29)	2 (14)
Coexisting disease, number (%)		
Diabetes	2 (11)	2 (14)
Lymphoma	1 (6)	NA
Haemolytic anemia	1 (6)	NA
Multiplemyeloma	NA	1 (7)
None	10 (59)	9 (64)

CHIRURGIA ODONTOSTOMATOLOGICA



ABSTRACT

BONE REGENERATION OF DENTAL IMPLANT DEHISCENCE DEFECTS USING A CULTURED PERIOSTEUM MEMBRANE

Daiki Mizuno, Hideaki Kagami, Hirokazu Mizuno, Junji Mase, Kazutada Usami, Minoru Ueda, et al.

Hideaki Kagami, DDS, PhD - Division of Stem Cell Engineering - The Institute of Medical Science - The University of Tokyo

OBJECTIVES:

This study aimed to demonstrate the feasibility of a cultured periosteum (CP) membrane for use in guided bone regeneration at sites of implant dehiscence.

Material and methods: Four healthy beagle dogs were used in this study. Implant dehiscence defects (4 × 4 × 3mm) were surgically created at mandibular premolar sites where premolars had been extracted 3 months back. Dental implants (3.75mm in diameter and 7mm in length) with machined surfaces were placed into the defect sites (14 implants in total). Each dehiscence defective implant was randomly assigned to one of the following two groups:

- (1) PRP gel without cells (control) or
- (2) a periosteum membrane cultured on PRP gel (experimental).

Dogs were killed 12 weeks after operation and nondecalcified histological sections were made for histomorphometric analyses including percent linear bone fill (LF) and bone-to-implant contact (BIC).

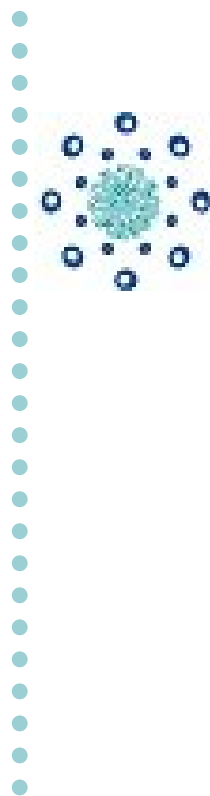
RESULTS:

Bone regeneration in the treatment group with a CP membrane was significantly greater than that in the control group and was confirmed by LF analysis. LF values in the experimental and the control groups were 72.36 ± 3.14% and 37.03 ± 4.63%, respectively (P<0.05). The BIC values in both groups were not significantly different from each other.

The BIC values in the experimental and the control groups were 40.76 ± 10.30% and 30.58 ± 9.69%, respectively (P=0.25) and were similar to native bone.

Conclusion: This study demonstrated the feasibility of a CP membrane to regenerate bone at implant dehiscence defect.

MEDICINA E CHIRURGIA ESTETICA



ABSTRACT

NEW INJECTION TECHNIQUE BASED ON PATIENT CELL BIOSTIMULATION FOR AUGMENTATION AND REGENERATION WITH REGENACR PROCESS.

Donald du Toit: Research Fellow , Photo-light Biology Laboratory , Faculty of Health Sciences ,University of Stellenbosch and Medical Research Council, Parow, South Africa.

INTRODUCTION:

For predicted outcome with facial rejuvenation techniques, it is imperative to perform prior advanced skin analysis , and understand histologic diagnostic characteristics before regeneration either by the biological or light-based routes. Most often underlying conditions, texture , colour and secretions are neglected by the therapist. This explains why non-ablative thermolysis , fractional laser and resurfacing by IPL or RF are associated with negative factors and outcomes. These include slow gradual repair, variability, need for repeated treatments, scarification, post inflammatory hyperpigmentation, hypopigmentation, non-response to ameliorate horizontal or vertical crepe wrinkles of the face and décolleté. Full-facial rejuvenation at one session, is now possible by the biologic route utilizing biostimulation and autologous platelet-derived growth factors, based on open ended phase-1 studies.

METHODS:

The process is as follows. Skin analysis of the client destined for facial rejuvenation by the biological route, is performed. Venapuncture is performed and 16 ml blood is collected in special anticoagulated tubes supplied by RegenLab, Mollen, Switzerland. Centrifugation follows and PRP and PPP is separated. Prior to rejuvenation the PRP and thrombocytes therein, are activated with calcium chloride. The enriched PRP is used for dermal regeneration by multiple cutaneous and dermal injections, alike mesotherapy, delivering the platelet derived growth factors such as PDGF, TFG, IGF, EGF and VEGF into the papillary dermis and hypodermis. A 30 gauge needle, mounted on a syringe supplied in the RegenKit, is used for autologous cellular regeneration (ACR). The growth factors stimulate resident stem cells and other supporting cells in the ECM. Rejuvenation of the epidermis, dermis with improvement in texture, colour and secretions is the end-point.

RESULTS:

Ex vivo cell biology studies and tissue culture, using Regenlab PRP demonstrate enhanced fibroblast and keratinocyte proliferation. Cell signalling and crawling is stimulated by PRP culture technologies. Clinical studies , and interim results in 10 persons, varying from 40-50 years, of both gender, show safety, with minimal down time of 12-24 hours. Localised swelling subsides, rapidly with the application of ice packs. Improvement of the skin texture, tone and colour is evident within 14 days and is ongoing without need for light-therapy. The response can be enhanced by the adjunct use of light emitting diodes. Subjective patient feedback is encouraging. Skin changes in the glabellar, forehead and nasolabial folds are visible within 14 days by serial photography. The longest follow –up is 18 months. A small percentage may need directed re-injection for deep lines.

CONCLUSION:

Autologous PRP, as utilised in the RegenlabACR biological process, contains potent trophic factors relevant to facial regeneration, demonstrable ex vivo in tissue culture and in the clinic, portraying minimal side effects.

Tratamiento del envejecimiento cutáneo mediante bioestimulación: utilización de factores de crecimiento autólogos

PARTE V

DR. J. VÍCTOR GARCÍA GIMÉNEZ
(España)

DR. J. ANTONIO GONZÁLEZ-NICOLÁS ALBANDEA
(España)

Recomendamos leer este artículo después de su parte IV (ver Volumen 9, Nº 1)

Del STBA al STBA-Fill

Partiendo del concepto del STBA, hemos desarrollado la posibilidad de combinar las proteínas plasmáticas con un biomaterial para disponer, ahora sí, de un material de relleno en la forma de un implante.

Biomateriales son un conjunto de materiales que se emplean dentro del cuerpo humano con alguna finalidad sanitaria (cirugía ortopédica, cirugía maxilofacial, odontología, etc.). La biocompatibilidad de un biomaterial es su capacidad para ser utilizado en una aplicación específica con respuesta adecuada del receptor, es decir compatible con el "ambiente" fisiológico que le rodea después de la implantación. La bioactividad es la característica de un material que le permite interaccionar con el tejido vivo.

Del conjunto de biomateriales que hemos estudiado y ensayado, nos quedamos con el beta-fosfato tricálcico y, fundamentalmente, con la hidroxiapatita cálcica.

Respecto de la hidroxiapatita cálcica:

- a) está presente en el cuerpo humano.
- b) se puede lograr su síntesis industrial en forma de micropartículas.
- c) la forma y tamaño de las micropartículas es determinable para lograr una distribución uniforme, un desplazamiento difícil y una fagocitosis controlada.
- d) la concentración es ajustable.
- e) la degradación es lenta y, en cualquier caso, para dar calcio y fósforo, elementos que, en un principio, no deben ocasionar ningún problema.
- f) carece de actividad inmunológica.
- g) en medio fisiológico, a $\text{pH} > 4.2$ y a la temperatura corporal la hidroxiapatita es estable (reabsorción lenta).
- h) en cambio, el beta-fosfato tricálcico es soluble, transformándose en hidroxiapatita; es pues biorreabsorbible, con una tasa de reabsorción del 20% anual.

A la combinación de STBA (soporte tisular biológico autólogo) y un biomaterial la denominamos STBA-Fill, y se trata de un verdadero implante o material de relleno tisular.

Como hemos dicho, resulta fundamental la forma y el tamaño de las partículas en suspensión (o que resulten en suspensión) porque ello guarda relación con:

1. El paso por uno u otro calibre de aguja.
2. La distribución más o menos homogénea tras la implantación.
3. La posibilidad de captación o no por los macrófagos.
4. La facilidad o dificultad para unirse entre sí.
5. La capacidad o incapacidad de inducir respuesta inflamatoria.



STBA-Fill **Figura 1**

Asegurando lo anterior (es decir, disponiendo de las especificaciones técnicas del producto que nos debe proporcionar el fabricante), asimismo resultaría muy importante poder controlar la dilución (en las presentaciones comercializadas, la hidroxiapatita cálcica suele estar diluida al 40-50% en suero fisiológico y otros agentes) porque permitiría disponer de un material más o menos concentrado (y, por lo tanto, más o menos viscoso) para diferentes utilizaciones.

Consideramos que la hidroxiapatita cálcica resulta un implante ideal, con una función inicial e inmediata de relleno ti-

Extracción + centrifugación > PRP (inyectable)
 Extracción + centrifugación + activación > PRGF (inyectable)
 > PRGF (spray)
 Extracción + centrifugación + activación - coagulación
 > Coágulo (posicionable) con fibrina | plaquetas | GF
 > Solución (spray) con trombina + GF
 Trombina | GF | PRP > fibrina + GF (spray)
 PRGF + adipocitos > lipotransferencia enriquecida (implantable)
 Extracción + centrifugación > PRP (¿?) - PP + PPP >
 desnaturalización > STBA (inyectable)
 Extracción | centrifugación > PRP (¿?) - PP + PPP
 + biomaterial > ¿desnaturalización? > STBA-Fill (implantable)
 Extracción + filtrado - centrifugación > PSP > STBA ó STBA-Fill

Figura 2

salas, y destinado a constituirse en una matriz para el depósito y desarrollo de los fibroblastos, estimulados por el PRGF; una especie de "andamio" tridimensional sobre el que la construcción de cualquier tejido va a resultar más efectiva.

La hidroxiapatita cálcica viene siendo usada desde hace más de 10 años en aplicaciones médicas. En nuestro contexto, en España disponemos de dos productos con marcado CE y comercializados como materiales de relleno tisular: Radisse® y Beautyfill®.

Concretamente sabemos que para Radisse® las indicaciones aprobadas por la FDA son:

1. Medialización de cuerdas vocales.
 2. Marcado radiográfico de tejidos.
 3. Defectos óseos dentales y maxilares.
- Y las aprobadas por la CE son:
1. Cirugía Plástica facial.
 2. Incontinencia urinaria por esfuerzo.
 3. Reflujo vesicoureteral.
 4. Medialización de cuerdas vocales.

Estamos evaluando la mezcla extemporánea de polvo de hidroxiapatita cálcica (con unas características perfectamente definidas y naturalmente estéril) con las proteínas plasmáticas. Después de la correcta dilución, puede (no es imprescindible) procederse a la desnaturalización proteica tal como ya la hemos explicado, para obtener un material todavía más consistente; en la seguridad de que la hidroxiapatita cálcica no resulta afectada por ese proceso.

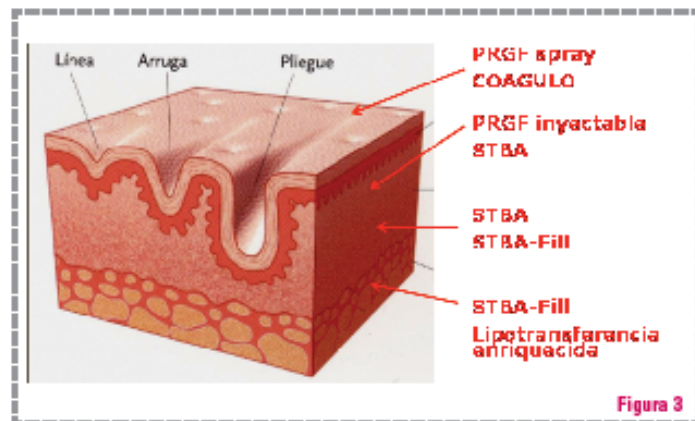


Figura 3

En cualquier caso, se trataría de un material de relleno ideal, de utilización inmediata, que podría prepararse a la concentración deseada, y que aunaría las ventajas de sus dos componentes: las proteínas plasmáticas autólogas y la hidroxiapatita cálcica.

Y el protocolo terapéutico sería análogo al de los productos citados:

1. No precisará test cutáneo de alergia.
2. La inyección se realizará en la dermis media o profunda, y en la hipodermis.
3. El producto se inyectará, preferiblemente, con técnica trazadora retrógrada; con agujas 25G, 27G o incluso 30G.
4. Inmediatamente después de la inyección se realizará un amasamiento digital suficiente para acomodar (incluida la distribución homogénea del

soluto) el producto en su emplazamiento.

5. Se realizará una normocorrección, y podrá suplementarse a los 3 ó 4 meses; los pequeños depósitos de producto permitirán una mejor y más rápida colonización por los fibroblastos.
6. Las indicaciones de elección serán:
 - a) surcos nasogenianos y arrugas de "marioneta".
 - b) entrecejo.
 - c) remodelación de pómulos y mentón.
 - d) remodelación del óvalo facial.
 - e) remodelación nasal: rinoplastia no quirúrgica.
 - f) defectos cutáneos post-quirúrgicos.

g) NO ES RECOMENDABLE para remodelación labial y nunca debe infiltrarse en labio blanco; la literatura científica consultada recoge la aparición de induraciones y nódulos en el 12% de los casos.

7. La degradación del producto será lenta. Las partículas de hidroxiapatita cálcica (las de las características que hemos establecido) se degradan en 12-18 meses; en menos tiempo, en las zonas de movimiento intenso (por un efecto físico-mecánico). Las micropartículas resultantes serán fagocitadas y degradadas por los macrófagos, resultando, como ya habíamos indicado, iones fósforo y calcio.
8. Se aconsejará repetir el tratamiento cada 12-18 meses.

Conclusión

Queremos concluir este artículo con dos gráficos a modo de resumen.

En el primero, intentamos resumir todas las posibilidades que nos ofrece la sangre, para la preparación de los distintos productos de los que hemos hablado. En el segundo, indicamos los niveles cutáneos para su utilización.

Es evidente que el manejo adecuado de todos estos conocimientos e ideas, y otros muchos que irán surgiendo en los próximos meses y años, abren un camino singular, probablemente muy exitoso, para el tratamiento del envejecimiento cutáneo y sus estigmas.

Todo cuanto aquí hemos explicado ha sido editado en un CD, que contiene muchísimas imágenes (fotografías y videos) y documentos, para hacer más comprensible el procedimiento. | IJCM&S

Dirigir correspondencia a:

→ DR. VÍCTOR GARCÍA GIMÉNEZ

E-mail:
director@cmadieuropa.com

Referencias bibliográficas

- Sanchez M, Azofra J, Arntua E, Andia I, Padilla S, Bantisteben J, Mujika I. Plasma Rich In Growth Factors To Treat An Articular Cartilage Avulsion: A Case Report. Arthroscopic Surgery Unit, USP-La Esperanza Clinic, Vitoria-Gasteiz, Basque Country, SPAIN. *Med Sci Sports Exerc* 2003;35(10):1648-1652
- Alex Dugrillon and Harald Küller. Topical Application Of Platelets For Improved Wound Healing. Institute of Translational Medicine and Immunology, Faculty of Clinical Medicine Mannheim, University of Heidelberg, German Red Cross Blood Services of Baden-Württemberg, Mannheim, Germany. *Blood Therapies in Medicine* 2002;3(1)
- Arntua E. The Use Of Plasma-Rich In Growth Factors (Prpf) In Oral Surgery. *Pract Proced Aesthet Dent*. 2001 Aug;13(8):487-93; quiz: 487-93/*Pract Proced Aesthet Dent* 2001;13:487-93
- Arntua E. Expansión De Cresta Con Osteotomías: Estado Actual. Utilización Del Plasma Rico En Factores De Crecimiento (PRGF). *Rev Esp Chirg Oral y Maxilofacial* 2001;23:1-5
- Arntua E. Factores De Crecimiento Plasmáticos. Una Revolución Terapéutica. *Ideas y Trabajos Odontostomatológicos* 2001;2(2):90-94
- Welsh, W.J. Platelet Gel Usage In Cosmetic Surgery. *American Academy of Cosmetic Surgery*, 2000;27
- Welsh, W.J. Autologous Platelet Gel. Clinical Function and Usage In Plastic Surgery. *Cosmetic Dermatology* 2000;13-18
- Croce MA, D'Yna K, Boraldi F, Guaglio D Jr, Cetta G, Tiozzo R and Pasquali Ronchetti I. Hyaluronan affects protein and collagen synthesis by in vitro human skin fibroblasts. *Tissue Cell* 2001;33(4):326-31
- Wang Q, Lu K, Yang L. Effects of hyaluronic acid-stimulating factor on viability and collagen synthesis of fibroblasts
- Zhonghua Zheng Xing Shao Shang Wai Ke Za Zhi. 1999 Mar;15(2):99-101
- Isenard N, Legault JM, Renard G, Robert L. Effect of hyaluronan on MMP expression and activation. *Cell BioInt* 2001;25(8):736-9
- Lesley J, Hascall VC, Tammi M, Hyman R. Hyaluronan binding by cell surface CD44. *J Biol Chem* 2000;1;275(35):25067-75
- Raffitt DM, Ogston N, Jugdeochsingh R, Cheung HF, Evans BA, Thompson RR, Powell JJ, Hampson GN. Orthosilicic acid stimulates collagen type 1 synthesis and osteoblastic differentiation in human osteoblast-like cells in vitro. *Bone* 2003;32(2):127-35
- Cattemme MR, Vanden Berghhe DA. Supplementation of calves with stabilized orthosilicic acid. Effect on the B1, Ca, Mg, and P concentrations in serum and the collagen concentration in skin and cartilage. *Biol Trace Elem Res* 1997;56(2):153-65
- Carlisle EM. In vivo requirement for silicon in articular cartilage and connective tissue formation in the chick. *J Nutr* 1976;106(4):478-84
- Shi X, Ding M, Chen F, Wang L, Rojanasakul Y, Vallyathan V, Castaneda V. Reactive oxygen species and molecular mechanism of silica-induced lung injury. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2001;20(Suppl 1):85-93
- Baroni T, Bodo M, D'Alessandro A, Conte C, Calvitti M, Muzi G, Lumina A, Bellocchio S, Abbruti G. Silica and its antagonistic effects on transforming growth factor-beta in lung fibroblast extracellular matrix production. *J Invest Med* 2001;49(2):146-56
- Hubbard AK, Thibodeau M, Giardino C. Cellular and molecular mechanisms regulating silica-induced adhesion molecule expression in mice. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 2001;20(Suppl 1):45-51
- Grossman R. The role of dimethylaminoethanol in cosmetic dermatology. *Am J Clin Dermatol* 2006;6(1):39-47
- Kanchwala BK, Holloway L, Bucky LP. Reliable soft tissue augmentation: a clinical comparison of injectable soft-tissue fillers for facial-volume augmentation. *Ann Plast Surg* 2006;55(1):30-5; discussion 35
- Mamur EB, Phelps R, Goldberg DJ. Clinical, histologic and electron microscopic findings after injection of a calcium hydroxylapatite filler. *J Cosmet Laser Ther* 2004;6(4):223-6
- Flaherty P. Radience. *Facial Plast Surg*. 2004;20(2):165-9
- Comite SL, Liu JF, Balasubramanian S, Christian MA. Treatment of HIV-associated facial lipotrophy with Radience FN (Radless). *Dermatol Online J* 2004;10(2):2
- Tzikas TL. Evaluation of the Radience FN soft tissue filler for facial soft tissue augmentation. *Arch Facial Plast Surg* 2004;6(4):234-9
- Lemperle G, Morham V, Charrier U. Human histology and persistence of various injectable filler substances for soft tissue augmentation. *Aesthetic Plast Surg* 2003;27(3):354-66; discussion 367
- Chodorowska G, Tomczyk M, Glowacka A. Basic-fibroblast growth factor (b-FGF)—its biological role in physiologic and pathologic conditions. *Ann Univ Mariae Curie Skłodowska [Med]*. 2004;59(1):286-91

Lipoinjerto enriquecido con plasma rico en plaquetas

Vencer al principal enemigo del relleno: la reabsorción

DR. IVÁN HERNÁNDEZ P.
DR. GERMÁN ROSSANI A.
Centro Camelias de Medicina Estética, Lima, Perú

Resumen

En este trabajo se ofrece una nueva alternativa terapéutica, el relleno de tejido graso autógeno enriquecido con plasma rico en plaquetas (PRP) a fin de brindar mayor soporte autosustentatorio y así disminuir nuevas consultas para retoques. Este estudio, prospectivo, experimental y tipo caso-control, se realizó desde marzo de 2005 hasta junio de 2006. Se incluyó a 116 pacientes de 23-70 años, con un 79% de mujeres en los diferentes tratamientos de relleno facial y corporal. De los 116 pacientes, 76 fueron tratados con relleno facial y 40 con relleno corporal por diversas patologías. La reabsorción de tejido trasplantado se controló a los 7, 15 y 30 días, y a los 3 y 6 meses, de acuerdo con medidas y proporciones establecidas de manera experimental. Se efectuaron 12 biopsias de la zona injertada a los 2, 7 y 10 días. Se comprobó un grado menor de reabsorción con tejido autógeno trasplantado enriquecido con PRP que con la técnica habitual. Este resultado, que se puede deber a diversos factores que se tratarán en detalle en este trabajo, abriría nuevos caminos para la cirugía moderna. Lamentablemente, no se pudo aplicar un protocolo directo de caso-control, pues hubiera sido necesario tratar a un mismo paciente con ambas técnicas, lo cual podría haber generado asimetrías de difícil resolución.

Introducción

El implante de tejido autógeno, heterógeno o aloplástico no es una novedad. Desde hace mucho tiempo se practican estas técnicas que, en su mayoría, fracasaron o fueron abandonadas por las dificultades de la época o por el escaso conocimiento sobre la respuesta inmunológica humana. Ya desde 1800 se sabe que la grasa inyectada es el tejido más útil para el tratamiento de patologías tisulares.

Esta práctica fue de alguna manera abandonada en los últimos años al aparecer sustancias de relleno, autorizadas o no, absorbibles o permanentes. Al haber más sustancias disponibles, que se adquieren con facilidad a costes atractivos, la lipotransferencia se mantuvo cada vez más al margen.

Además, hubo detractores de las grasas que argumentaron que este tejido es fácilmente traumatizable tras ser extraído, lo que dificulta su permanencia en la zona injertada. También se sostuvo que es poco resistente a la presión, lo que estimulaba su reabsorción, la facilidad de infección por ser un tejido líquido implantado en tejido blando y la hemorragia en la zona donante. Finalmente, afirmaron que, en el mejor de los casos, se mantenía un 50% del tejido injertado, lo que requería retocar a las pocas semanas o meses.

Se propusieron múltiples técnicas para extraer y mantener la grasa en forma extracorpórea para el preparado y la aplicación de relleno. Esto parece ser un tratamiento complicado para, por ejemplo, un paciente que sólo desea modificar los surcos nasogenianos.

Quienes valoraron esta técnica en la década de 1980 celebraron un consenso sobre transferencia de grasa autógena, que tuvo muchos puntos exitosos. Sin embargo, persistía la duda sobre si el tejido trasplantado, es decir, la grasa o el tejido fibroso, se mantenía.

El consenso incluyó uno de los puntos que consideramos más importante: el tratamiento interno de la grasa, es decir, la extracción con jeringa o cánula calibre 14. Esto permite mantener, de alguna manera, la biología del tejido graso de manera natural y tisularmente viable.

Esto es fundamental, ya que en la actualidad el tratamiento con grasa no se realiza así, ni se consideran los puntos de ese consenso mundial. Por ello, el tratamiento realizado antes del relleno, durante este procedimiento y después de éste no es el adecuado y los resultados no son los mejores.

Bajo estas premisas, y respetando los principios de los padres de la lipotransferencia moderna, realizamos algunas modificaciones.

El plasma rico en plaquetas (PRP) contiene factores de crecimiento, proteínas presentes en todo proceso de cicatrización.

En estos últimos años, se han publicado artículos de investigación acerca de las células madre y los beneficios de los factores de crecimiento. Tratar este tema escapa a los propósitos de esta revista, pero se pueden mencionar algunos aspectos relativos al PRP. Como se acaba de señalar, los factores de crecimiento inician todo proceso de cicatrización. Basta un 5% de PRP en un coágulo para promover la cicatrización. Obvia-

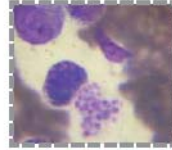
mente, este beneficio sería aún mayor con una sustancia que brinde un 95% de PRP.

Materiales y métodos

1. Este estudio prospectivo, experimental y de casos se realizó desde marzo del 2005 hasta junio del 2006.
2. Se incluyó a 116 pacientes de 23 a 70 años, con un 79% de mujeres, de las cuales 76 fueron sometidas a relleno facial y 40 a relleno corporal por diversas patologías.
3. En todos los casos, se emplearon 20 cm³ de grasa autógena de la zona periumbilical y de la cadera posterior, salvo en 6 casos de relleno corporal en muslos y pantorrillas en los que se utilizó la grasa de la lipoescultura previa.
4. En todos los casos se utilizaron cánulas de calibre 14, salvo en la liposucción.
5. Todas las lipotrasferencias se realizaron con cánulas de calibre 14, salvo la de muslos y pantorrillas.
6. En ningún caso se realizó lavado de tejido graso a fin de demostrar que éste no era necesario al utilizar tejido enriquecido con PRP. Sólo se aplicó la técnica de decantamiento.
7. Se extrajo 20-50 cm³ de sangre a todos los pacientes para obtener PRP simultáneamente al procedimiento de liposucción para no retrasar la lipotrasferencia ni prolongar el procedimiento.
8. En todos los casos, la relación grasa/PRP fue de 5/1, salvo en los rellenos mayores, como los de muslos y pantorrillas, que fue de 20/1.
9. La centrifuga y el equipo médico fueron los mismos para los 116 pacientes.
10. El relleno facial se realizó bajo anestesia troncular con xilocaína al 2% y 1:80.000 de epinefrina diluida de 2 a 1 para no modificar la anatomía a corregir mediante hidrotomía.
11. La sangre se almacenó en tubos con citrato sódico estandarizado, posteriormente activados con 0,05 ml de gluconato de calcio por cm³ de PRP.

Técnica propuesta

1. Elegir a los pacientes adecuados y, de ser necesario, realizar análisis clínicos de rutina.
2. Elegir la zona a tratar y decidir si se utilizará tejido graso autógeno.
3. Elegir la zona donante, que en este estudio fue la zona periumbilical y la de la cadera posterior, debido a la biogenia de nuestra raza.
4. Extraer suficiente cantidad de sangre para obtener el PRP teniendo en cuenta que 20 cm³ contiene 2-3 cm³ de PRP, con un contenido biológico de plaquetas del 95%, comprobado por estudios de frotis inmediato. Este procedimiento se efectúa junto con la liposucción, ya que se debe tratar la sangre extraída.
5. Centrifugar la sangre durante 3 minutos a 2400-3600 rpm en dos ciclos. En el primero se extrae PRP y en el segundo se obtiene PRP "exquisito en plaquetas". Este pro-



Antes  Después



Antes  Después



Antes  Después



Antes  Después





cedimiento dura aproximadamente 5-7 minutos. En este lapso se extrae y decanta una cantidad adecuada de grasa.

- Tras obtener la grasa deseada y decidir la zona, se mezcla la grasa y el PRP en una proporción de 5 a 1 y se activa la mezcla con gluconato de calcio, ya que la cascada de la coagulación está bloqueada por el citrato contenido en los tubos. Como se sabe, esta sustancia proporciona el calcio necesario para iniciar la cascada normal y activar la mezcla.
- Una vez activada la mezcla, la transferencia se debe realizar en un lapso de 12-14 minutos, ya que después de este tiempo el PRP se gelifica y, al ponerse más denso, se complica el pasaje por la cánula.

Resultados

En 87 casos no se registró mayor reabsorción del tejido injertado, de acuerdo con medidas y proporciones, como se ha señalado antes, y puntos de referencia estandarizados y personalizados a los 6 meses de realizar el estudio. El resto de los casos no han cumplido los 6 meses, pero hasta el momento no se registra reabsorción.

Lo más interesante es que no se palpa ni se visualiza tejido cicatrizal, si bien en las biopsias aparece una tenue capa fibrosa o cápsula peritissular. Esto se demuestra en los injertos realizados en muslos y pantorrillas, en los que se reemplazaron las prótesis con tejido graso, con un volumen adecuado, sin temor a que hubiese reabsorción de un lado debido a una posible desigualdad o irregularidad.

Decidimos utilizar el PRP para enriquecer la muestra, ya que se sabe que los factores de crecimiento inician todos los procesos cicatrizales. Además, proveerá los vasos sanguíneos necesarios para la autosustentación antes de su desarrollo normal por la estimulación, dependiente de la cantidad brindada.

En los estudios anatomopatológicos se registra inicio de angiogenia a las 48 horas, con vasos efectivos a los 5 días y tejido graso que se mantiene con poca sustancia cicatrizal a los 10 días. No se realizaron biopsias posteriores.

El PRP nos permite realizar la lipotransferencia de manera "no tan prolíja" como se debería. Al adoptar medidas de control tras enriquecer con PRP, no se ha registrado pérdida de islotes ni pérdida efectiva de tejido, que se producirían con un mal manejo.

Este procedimiento realizado en equipo es rápido, efectivo y de costes muy bajos para el paciente, y no debe llevarnos más tiempo que el dedicado a preparar cualquier sustancia artificial para relleno.

El PRP es inocuo para el paciente, atóxico y casi no tiene contraindicaciones, salvo los problemas de coagulación o el tejido graso inadecuado, muy maltratado, que complican la situación con pequeños quistes de tejido graso palpables e incómodos para el paciente.

No hay que temer a la sobrecorrección, ya que los endomoduladores autógenos del PRP, como algunos factores de crecimiento, moldean de manera natural la zona tratada como un "código de memoria de zona". Esto ya se ha registrado y se podría corroborar en estudios posteriores de biología molecular. | IJCM&S

Bibliografía

- Fournier PF. *Lipoesculture: the syringe technique*; 1991
- Peck H, Peck S. A concept of facial aesthetics. *Anglen Orthot* 1970;40:284-317
- Deweese DD, Saunders WH, Shuller DE, et al. *Otolaryngology, head and neck surgery*. St. Luis, Mosby, 1988
- Fournier PF. Body sculpturing through syringe liposuction and autologous fat re-injection. *Samuel Rolf International* 1987
- Daly CH, Odland GF. Age-related changes in the mechanical properties of human skin. *J Invest Dermatol* 1979; 73(1):84-87
- Toriumi DM, East CA, Larrabee WF. Osteoinductive biomaterials for medical implantation. *J. Long-term Effects Med Implant* 1991;1(1):53
- Agris J. Autologous fat transplantation and suction assisted lipectomy. *A Clinical Atlas*, 2a ed. Houston: Eclectic Enterprises, 1987
- Fournier PF. *Fattransfer*. En: Parish LC, Lask GP (eds). *Aesthetic Dermatology*. Nueva York: McGraw Hill, 1992;2:275
- Hernández I, Rozan G, Dávila M. Reingeniería de tejidos. Plasma rico en plaquetas como inductor de reparación en la panculopatía edematofibroesclerótica. *American Journal of Medicine and Cosmetic Surgery* 2005;7(2):18-24
- Bircoll M. A Nine-year experience with autologous fat transplantation. *Am J Cosmet Surg* 1992;9:55-59

Dirigir correspondencia a:

→ DR. IVÁN HERNÁNDEZ P. /
DR. GERMÁN ROSSANI A.
Centro Camélias de Medicina Estética y Odontología
Especializada
Av. Javier Prado Este 414, San Isidro, Lima, Perú
Tel.: (00511) 222 6079 / 222 5877
E-mail: sociedadocosmetica@speedy.com.pe



ReGenLab SA
5, Rue de l'Église
CH-1146 Mollens
Switzerland

TEL: +41 21 864 3800
FAX +41 21 864 3801
info@regenlab.com



ISO 9001-2000
ISO 13485-2003
ISO 14644 (GLP)

