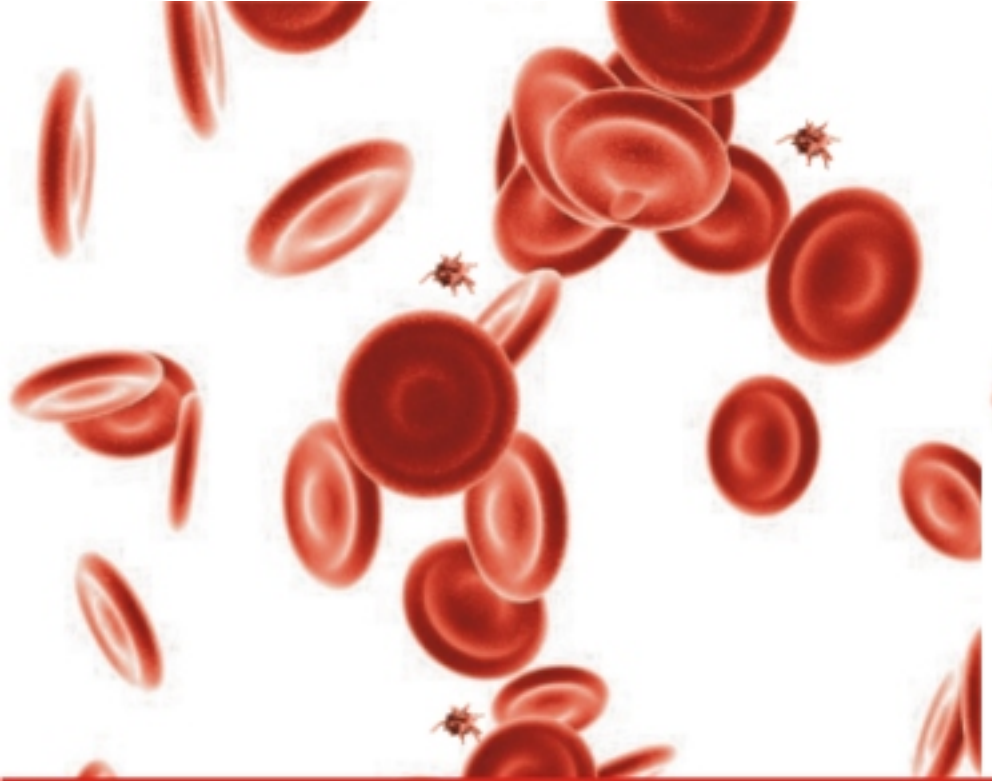
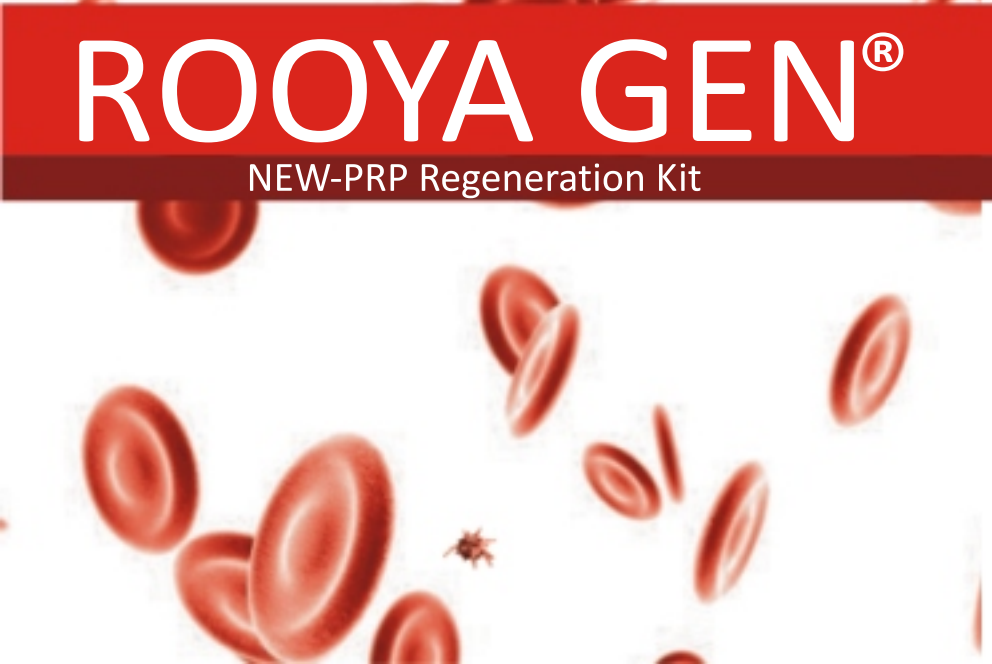
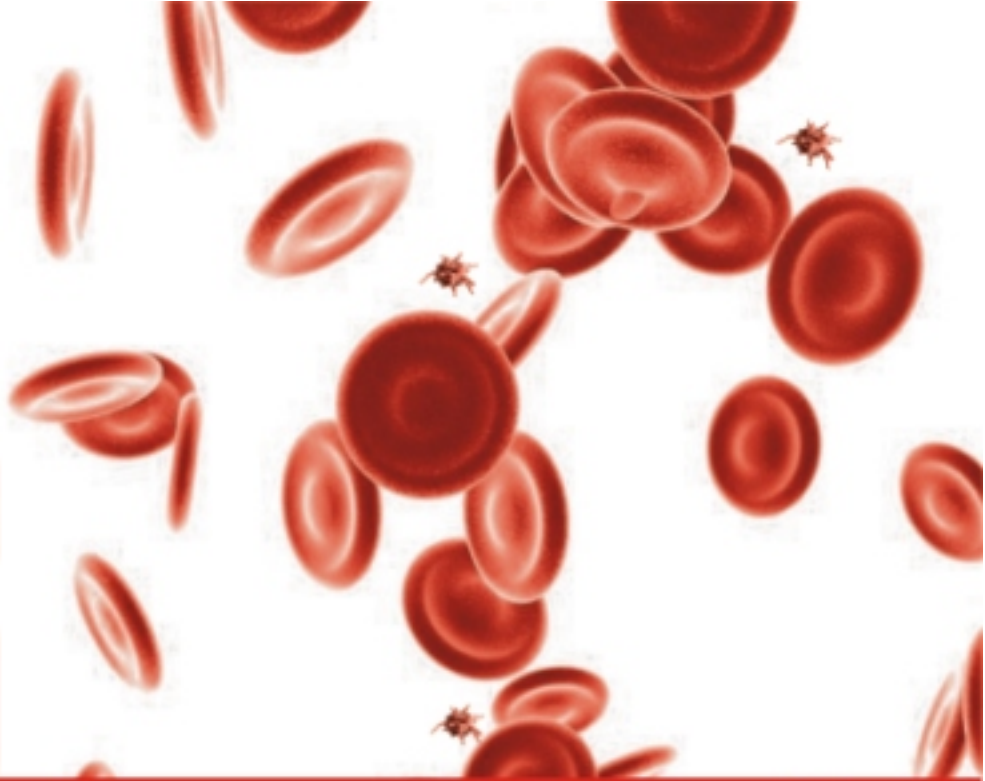


ROOYA GEN®

NEW-PRP Regeneration Kit





ROOYA GEN® رویاژن

Stem Cell Motivation & Rejuvenation kit

مورد استفاده در جوان سازی و تحریک سلول های بنیادی

Arya Mabna Tashkhis Co.

دارای مجوز رسمی از اداره کل تجهیزات پزشکی

تهران، جاده قدیم کرج، بعد از شهرک سعید آباد، جاده حسن آباد خالصه
مجتمع تحقیقاتی عصر انقلاب، کد پستی: ۱۳۱۳۵۱۱۵
تلفن کارخانه: ۵۶۲۷۶۰۲۲ تلفن دفتر فروش تهران: ۷-۶۶۴۳۳۲۳۶
Web site:www.rooyagen.com e-mail:info@rooyagen.com

ROOYA GEN® رویژن

Stem Cell Motivation & Rejuvenation kit

مورد استفاده:

آماده سازی پلاکت غنی شده در پلاسمای خودی (Autologous)

مقدمه:

خون از دو بخش سلولی و پلاسما تشکیل شده که بخش سلولی شامل گلبول های سفید(لوکوسیت)، گلبول های قرمز(اریتروسیت) و پلاکت و بخش پلاسما شامل آب(۹۳٪>) و پروتئین ها (آلبومین ، آنتی بادی، فاکتورهای انعقادی و ...)می باشد. پلاکت ها اجسام کروی یا بیضوی کوچکی هستندکه فاقد هسته بوده که به آن ترومبوسیت می گویند. عمر متوسط پلاکتها ۱۱- ۹ روز است و بطور متوسط در هر میکرولیتر خون فرد نرمال حدود ۲۵۰/۰۰۰ پلاکت وجود دارد که از نظر حجمی ۰/۴٪ هر میلی لیتر خون را تشکیل میدهد.[۱]

پلاکتها نقش مهمی در انعقاد بعهده دارند ولی ماموریت آنها تنها ممانعت از خونریزی نیست و بدلیل دارا بودن فاکتورهای رشد (از قبیل IGF, TGF-b, PDGF, VEGF و...) و عملکرد فیزیولوژیک آنها، باعث افزایش ترشح کلاژن ، فیبرونکتین،هیالورونیک در سلولهای فیبروبلاستی و اندوتلیالی و در نهایت ترمیم زخم می شود.[۱و۲]

نحوه عملکرد پلاکت غنی شده:

فرایند پیری(Aging) در سلولهای بنیادی حاصل دو دلیل عمده ، یکی کوتاه شدن تلومر(Telomeres) و دیگری ورود به فاز سکون(Senescenese) میباشد.در خصوص کوتاه شدن تلومر در مراحل تقسیم سلولی که در نهایت توان تقسیم سلول کاهش می یابد تاکنون راه حل کاربردی مناسبی بدست نیامده است(استفاده آن بر روی انسان آزمایش نشده است).اما برای خروج از فاز سکون در صورتی که این سلولها را در معرض دوزهای بالای فاکتور رشد و هورمون رشد قرار دهیم ، سلولها تحریک شده و درنتیجه با شروع مجدد تقسیم ، پروتئینهای بافت همبند (عمدتا کلاژن ، هیالورونیک ، فیبرونکتین و...) را ترشح می کنند.[۳و۴] تکنیک PRP در حقیقت جدا کردن پلاکت از خون فرد و غلیظ کردن آنهاو سپس تزریق به محل مورد نظر جهت رساندن دوز بالایی از فاکتور رشد و هورمون رشد به فیبروبلاستها(در مورد پوست و مفاصل) و تحریک آنها به خروج از سکون می باشد. همچنین هورمونها و فاکتورهای رشد موجود در پلاکت ها با تحریک سلول های بنیادی در فولیکولهای مو سبب فعال شدن مجدد فولیکولهای غیرفعال(Dormant) می شود.[۱و۵-۳]

در زخمهای دیابتیک هم که به دلیل کاهش خون رسانی ترمیم نشده و دچار نکروز می شوند این هورمونها (خصوصا VEGF) باعث رگ زایی شده و میزان اکسیژن رسانی بافتی را بالا برده و در نهایت باعث ترمیم زخم می شود.[۱۰]

محتویات کیت:

STAGE I

سرنگ: سرنگ ۵۰ میلی لیتری استریل جهت نمونه گیری.

سوزن نمونه گیری: یک عددسوزن پروانه ای شکل (Scalp Vein 21G) استریل جهت سهولت در نمونه گیری.

آداپتور نمونه گیری: یک عدد آداپتور نمونه گیری برای انتقال نمونه از سرنگ بداخل لوله ها.

لوله (A) : یک عدد لوله استریل ، حاوی ۷ میلی لیتر ماده ضد انعقاد وجداکننده .

لوله (B) : چهار عدد لوله ۱۰ میلی لیتری استریل حاوی اسپری ممانعت کننده از فعال شدن پلاکت.

روش کار(بروشور): بروشور استفاده از کیت

STAGE II

سرنگ ۵ میلی لیتری: ۲ عدد سرنگ با حجم ۵ میلی لیتر جهت جابجایی نمونه ها.
سوزن بلند نمونه گیری: ۲ عدد سوزن بلند نمونه گیری (16G) برای جابجایی نمونه ها.
لوله (C): دو عدد لوله ۱۰ میلی لیتری استریل حاوی ۰/۵ میلی لیتر ماده نگهدارنده.
سرنگ انسولین: ۲عدد سرنگ انسولین با حجم ۱ میلی لیتر جهت تزریق.(کیت پوست ومو).
سر سوزن۴ میلی متری : ۴ عدد سر سوز ن (27G) استریل فقط جهت تزریق (کیت پوست ومو).
سرنگ ۳ میلی لیتری: ۲عدد سرنگ با سر سوز ن (23G) استریل جهت تزریق.(کیت ارتوپدی).
سرسوزن استریل: ۲ عدد سرسوزن (21G) جهت کشیدن محلول نهایی از لوله.

مواد و وسایلی که در کیت موجود نمی باشد:

- سانتریفیوژ برای لوله های 16x100 (ترجیحا با بازوی Swing).
- Safety Box برای دور ریختن پلاسمای اضافی.
- دستکش یکبار مصرف.
- پایه برای لوله آزمایش.
- اسپری الکل ۷۰٪.

پایداری و شرایط نگهداری:

کیت و اجزای آن تا زمانی که بر روی برچسب هر یک از اجزاء مشخص گردیده است و در صورتی که بسته بندی آن دچار اشکال نشده باشد قابل استفاده خواهد بود.

توضیحات مورد لزوم و نکات قابل ذکر برای مصرف کننده:

- نمونه گیری از بیمار بایستی در شرایط مناسب و بدور از استرس و در مدت زمان مناسب صورت پذیرد. بدین معنا که همواره از ایجاد حتی کوچکترین لخته در نمونه پلاسما بایستی اجتناب گردد.[۲]
- از آنجائیکه پلاکت بسیار به استرس حساس می باشد، عدم دقت در جداسازی پلاکت ها در هر کدام از مراحل کار باعث آزاد شدن و رها سازی گرانول های پلاکتی (هورمون رشد و فاکتور ها ی رشد) بداخل پلاسما قبل از تزریق خواهد شد. بسیار واضح است که تزریق چنین محصولی فاقد ارزش بوده و در نهایت تحریکی برای فیبرو بلاست ها اتفاق نخواهد افتاد.[۴و۵]
- نکته حائز اهمیت در خصوص استفاده از محصول پلاکت غنی شده ای که تحت استرس قرار گرفته باشد. این است که در ابتدا تزریق ناشی از این محصول در ناحیه تزریق بدلیل ادم ایجاد شده باعث بهتر شدن موقت موضع (مثلا چروک با رفع تیرگی زیر چشم) خواهد شد ولی در نهایت تحریک دائمی فیبروبلاست صورت نمی پذیرد.[۵]
- برای دسترسی به نتایج مطلوب غلظت پلاکت تزریقی بایستی بهینه سازی شود. چون غلظت های پائین پلاکت در محصول نهایی برای تزریق اثر مناسب را نخواهد داشت. و از طرفی غلظت های بالای پلاکتی بدلیل تحریک پلاکت ها در هنگام تماس با یکدیگر (Aggregation, Retraction) منجر به آزاد سازی پیش از موعد هورمونها و فاکتور های رشد از گرانول های پلاکتی می شود.[۳-۶]
- در هنگام انتقال پلاسما و Buffy coat در مرحله اول بایستی نهایت احتیاط رعایت گردد تا مخلوط شدن سلول های خونی که در قسمت انتهایی لوله قرار دارند به حداقل برسد (کمتر از ۲٪ کل حجم گلبولهای قرمز).[۲]
- برای مصارف ارتوپدی از سرنگ ۳ یا ۵ میلی لیتری برای تزریق استفاده شود.
- سرسوزن مناسب برای استفاده در مصارف پوست و مو27G و به اندازه ۴ میلی متری است.
- سر سوزن مورد استفاده در مصارف ارتوپدی نیز با اندازه 23G توصیه میگردد.

روش کار:

۱- ابتدا با سرنگ ۵۰ میلی لیتری موجود در کیت و با سوزن خود سرنگ به میزان ۵ میلی لیتر از محلول A (Anticoagulant&Separator) کشیده و در نهایت با استفاده از اسکالپ وین به میزان ۳۵ میلی لیتر از بیمار خونگیری نمائید. پس از اتمام خونگیری حجم خون بانضمام محلول A بایستی به ۴۰ میلی لیتر برسد.
۲- پس از ان آداپتور نمونه گیری را به سرنگ متصل نموده و خون بیمار را به آرامی مخلوط نمائید. این عمل را حداقل ۸ بار انجام دهید.(به صورت سر وته نمودن سرنگ متصل به آداپتور)

۳- سپس ۴ لوله آماده شده در بسته مخصوص (StageI) را خارج نموده وتوسط آداپتور متصل به سرنگ، خون بیمار را به ۴ لوله منتقل کنید.
۴- لوله های حاوی خون بیمار را بصورت بالانس در داخل سانتریفیوژ قرارداده و به مدت ۱۲ دقیقه در دور مشخص سانتریفیوژ نمائید. دور اول بستگی به طول بازوی سانتریفوژدارد به نحوی که از دور ۱۷۰۰ شروع نموده و در فواصل صدتایی دور را کاهش میدهیم تا به جایی که پلاسمای فوقانی شفاف نباشد. (درصورت شفاف بودن پلاسمای فوقانی ۸ بار لوله را سروته کرده و مجددا سانتریفوژ نمایید.) این دور همیشه برای سانتریفوژ ثابت می ماند.
۵- آنژیوکت (سوزن بلند نمونه گیری) که آنرا قبلا به سرنگ ۵ میلی لیتری متصل نموده اید را به محلول A آغشته کرده و سپس محلول بالایی لوله ها (پلاسما) را بانضمام قسمت حاوی پلاکت (Buffy coat) را به لوله های مخصوص(StageII) منتقل نمائید. درهنگام کشیدن پلاسمای فوقانی به دلیل فشارمنفی داخل لوله که منجر به برگشت پلاسما از سرنگ به لوله میگردد یکعدد سرسوزن استریل را در کنار آنژیوکت به داخل لوله وارد نمایید.
۶- لوله های آماده شده را بصورت بالانس در سانتریفیوژ قرار داده و بمدت ۷ دقیقه در دوری که قبلا تعیین شده است سانتریفیوژ نمائید. دور دوم ۲/۸ برابر دور اول میباشد ولی نباید از ۳۵۰۰ بیشتر شود.
۷- پس از سانتریفیوژ در این مرحله، رسوب سفید رنگی به همراه مقداری گلبول قرمز (RBC)در ته لوله دیده می شودکه باید با استفاده از آنژیوکت دوم(سوزن بلند نمونه گیری) موجود در کیت، مقداری از پلاسمای شفاف پایینی را باقی گذاشته و مابقی را دور بریزید. (میزان موردنیاز برای استفاده بر روی لوله مشخص گردیده است.) در این مرحله نیز مانند مرحله ۵ و به دلیل فشارمنفی داخل لوله از سرسوزن استریل در کنار آنژیوکت استفاده نمایید.
۸- میزان باقی مانده در ته لوله را بمدت ۳۰ دقیقه در همان حالت (Rest Time) قرار داده و سپس برای حل کردن مجدد رسوب ایجاد شده ، لوله را به آرامی تکان دهید (Gently agitate) تا رسوب های ایجاد شده بصورت محلول (Resuspension) در آید.
۹- سرنگ ۱ میلی لیتری برای تزریق(در مصارف ارتوپدی سرنگ ۳ میلی لیتری) را ابتدا به محلول A آغشته نموده، و با استفاده از سرسوزن سرنگ تزریق نسبت به تخلیه نمونه آماده شده (PRP) به سرنگ اقدام نمائید.
۱۰- در انتها سر سوزن تزریق را به سرنگ متصل نموده و تزریق را انجام دهید.

شاخص های اجرایی و نتایج قابل انتظار:

حجم و تعداد تزریق های پیشنهادی:
طول عمر پلاکتها در بدن بطور میانگین ۱۰ روز بوده که در یک تزریق صحیح به تدریج هورونها و فاکتورهای رشد خود را آزاد میکنند.۲ تا ۳ مرتبه تزریق با فواصل ماهانه و حدود یکسال بعد از درمان اولیه به صورت یادآور یک پروتکل معمول می باشد . البته این تعداد و دوزها بستگی به نظر پزشک معالج قابل تغییر است.[۶و۹]

بیشترین موارد مصرف:

موارد مصرف تکنیک PRP بدلیل روزآمد بودن همواره در حال افزایش می باشد .و در حال حاضر می توان به موارد ذیل اشاره نمود:[۳-۱۰]

- رینکل ها و خطهای ظریف(Fine lines and wrinkles)
- بهبود بستره پوست(Textural improvement)
- پوست خشک بی حالت (Dull dry skin)
- تحریک رشد مو (Hair-growth stimulation)
- مفاصل و رباط ها (Joint & ligament)
- اسکار های ناشی از سوختگی، جوش، آبله ، پارگی و... (Various Scar)
- بهبود کامل جای بخیه در پس از جراحی برای مثال سزارین، پلاستیک و.. (Scar of Surgery)
- جوانسازی کامل صورت (Full-face rejuventation)
- بالا و پائین چشم (Eye area both uper and lower eyelids)
- نواحی سینه ، دکولته (Decolletage)
- پشت دست (Backs of hands)
- زخم های دیابتیک (Diabetic Wound)

مقایسه روش قدیم و جدید PRP

	روش قدیمی	روش جدید
غنی سازی پلاکت	حدود ۲ برابر	۲ تا ۴ برابر بیشتر از روش قدیم
زمان شروع نتایج درمانی	حدود ۲ ماه	حدود ۲ هفته ($\frac{1}{4}$روش قدیمی)
گلبولهای سفید	بسیارکم یا فقدان گلبول سفید	مقدارمناسبی ازگلبولهای سفید که باعث ایجادفازالتهابی قبل از شروع ترمیم میشود.

توجه :

پیشنهاد میشود این کیت توسط پزشک آموزش دیده مصرف گردد.

Reference:

1-Richard A. McPherson MD Matthew R. Pincus MD PhD text book of Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Edition 22. 2011Part 5, chapter 39-42

2-Sally Rudmann. Textbook of Blood Banking and Transfusion Medicine.2007, 4 th edition , section 3-6.

3-Lee JW, Kim BJ, Kim MN, Mun SK.The efficacy of autologous platelet rich plasma combined with ablative carbon dioxide fractional resurfacing for acne scars: a simultaneous split-face trial. Dermatol Surg. 2011 Jul;37(7):931-8

4-Park HB, Yang JH, Chung KHCharacterization of the cytokine profile of platelet rich plasma (PRP) and PRP-induced cell proliferation and migration: Upregulation of matrix metalloproteinase-1 and -9 in HaCaT cells. Korean J Hematol. 2011 Dec;46(4):265-73. Epub 2011 Dec 27.

5-Rappl LM.Effect of platelet rich plasma gel in a physiologically relevant platelet concentration on wounds in persons with spinal cord injury. Int Wound J. 2011 Apr;8(2):187-95.

6-Andia I, S?nchez M, Maffulli N.Joint pathology and platelet-rich plasma therapies. Expert Opin Biol Ther. 2012 Jan;12(1):7-22.

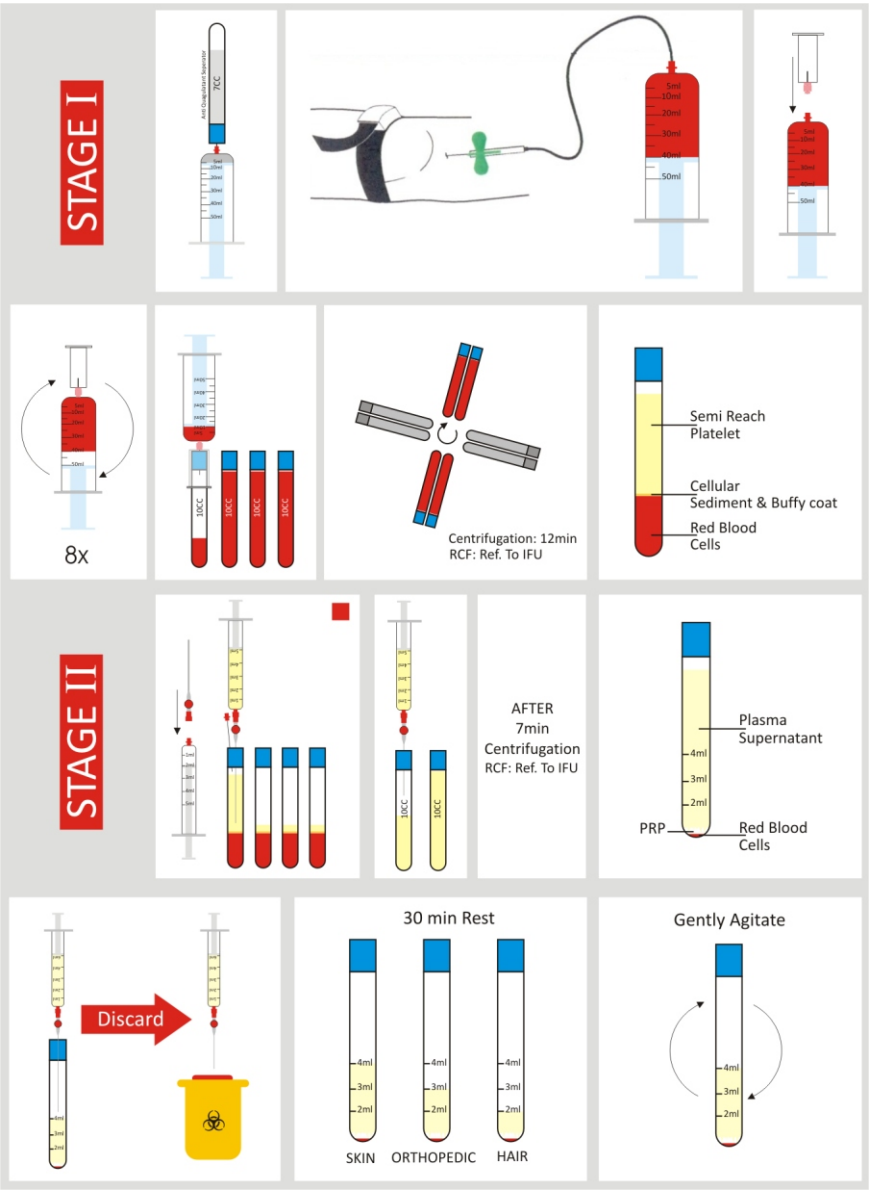
7-Cervelli V, Nicoli F, Spallone D, Verardi S, Sorge R, Nicoli M, Balzani A.Treatment of traumatic scars using fat grafts mixed with platelet-rich plasma, and resurfacing of skin with the 1540?nm nonablative laser. Clin Exp Dermatol. 2012 Jan;37(1):55-61.

8-Feltsan T, Mracna J, Holly D.Use of thrombocyte concentrates in treatment of bone defects. Bratisl Lek Listy. 2011;112(11):655-7.

9-Takikawa M, Nakamura S, Nakamura S, Ishirara M, Kishimoto S, Sasaki K, Yanagibayashi S, Azuma R, Yamamoto N, Kiyosawa T.Enhanced effect of platelet-rich plasma containing a new carrier on hair growth. Dermatol Surg. 2011 Dec;37(12):1721-9.

10-Christy L. Scimeca, D.P.M., Manish Bharara, Timothy K. Fisher, Heather Kimbriel, , and David G. Armstrong. Novel Use of Platelet-Rich Plasma to Augment Curative Diabetic Foot Surgery. Journal of Diabetes Science and Technology Volume 4, Issue 5, September 2010

REV: Jun 2012



■ درهنگام کشیدن پلاسمای فوقانی در مرحله اول و دوم به دلیل فشارمنفی داخل لوله که منجر به برگشت پلاسما از سرنگ به لوله میگردد یکعدد سرسوزن استریل را در کنار آنژیوکت به داخل لوله وارد نمایید.