

Funkce růstových faktorů v lidském organismu a jejich využití v medicíně, zejména v ortopedii a traumatologii

The Role of Growth Factors in the Human Organism and Their Use in Medicine, Especially in Orthopedics and Traumatology

R. FREI¹, F. E. BIOSCA², M. HANDL¹, T. TRČ¹

¹ Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie 2. LF UK a FN Motol, Praha

² Institut Nacional d'Educació Física de Catalunya (INEFC), University of Lleida, Spain

SUMMARY

The authors analyze one of the new therapeutic approaches - the use of autologous growth factors. Because the chemical structure of these proteins and their involvement in many functions of the organism affect the whole range of tissues, with a possibility to use them in human medicine. Growth factors, such as platelet-derived growth factor, transforming growth factor and others, exert effects on fibroplastic events during ontogenesis as well as on regeneration of tissues injured due to an accident or surgery. The preparation of therapeutic doses of growth factors consists of autologous blood collection, plasma separation and application of plasma rich in growth factors. The fibroplastic event involves chemotaxis and proliferation of cells, proteosynthesis, reparation and remodeling of tissues.

The paper describes the method and is an introduction to studies on the utilization of growth factors in orthopaedics and traumatology.

Key words: growth factor, PRGF, healing, reparation.

ÚVOD

Růstové faktory (Growth Factors, GF), specifické bílkovinné induktory buněčné proliferace, se v lidském organismu uplatňují jak v průběhu ontogeneze, tak v dospělosti, zejména při reparaci a regeneraci poškozených tkání (7, 10, 17, 21). Terapeutickým využitím těchto biopotentních proteinů se od 90. let 20. století intenzivně zabývá několik světových center (3, 22, 24). Zkušenosti experimentálních pracovišť s aplikací GF byly klinicky verifikovány nejprve v oblasti orofaciální chirurgie (2, 4, 9), nyní nastává postupné pronikání do většiny chirurgických oborů medicíny (26, 28, 29).

Historie terapeutického využití GF

Počátkem 90. let minulého století, po objevení růstových faktorů a rozlišení jejich biologické aktivity (16, 17) na buněčné membráně i komplexně v živém organismu (27), byly uskutečněny první pokusy s jejich terapeutickým využitím (23, 26, 30).

Optimalizace hojení, zrychlení reparace živočišných tkání a zlepšení vhojování bioadaptabilních implantátů, to byly požadavky, stojící na počátku rozsáhlých teoretických výzkumů a experimentálních aplikací GF (23, 26, 31).

První kroky směřovaly k separaci a léčebné aplikaci adhezivních bílkovin plazmy (fibrinu, fibronektinu, vi-

tronektinu), zejména fibrinu, který byl v potřebné terapeutické dávce získáván ze značného množství krve (450–500 ml) a aktivován použitím bovinního trombinu (pro humánní účely v Evropě nepovoleno).

Dr. Eduardo Anitua a dr. Mikel Sánchez ze španělské Vitorie zahájili etapu využití autologní plazmy, resp. Plasma Rich in Growth Factors (PRGF), nikoli pro samotný efekt fibrinu, ale pro biogenní účinek růstových faktorů, zejména trombocytárních proteinů, které mají klíčový význam v indukci buněčné proliferace (3). Příprava PRGF separované z relativně malého množství krve (40–120 ml) a terapeutická aplikace do místa léze dle exaktně stanovených a schválených doporučených postupů (TUV 2003) otevřely kapitolu klinického použití v humánní medicíně.

MATERIÁL A METODIKA

Biochemické poznámky

GF jsou proteiny syntetizované rozsáhlou skupinou buněk mezenchymálního původu, které se specificky vážají na receptory buněčných membrán za účelem indukce buněčné proliferace a/nebo diferenciací. Některé z růstových faktorů dokáží stimulovat množství odlišných buněčných typů, jiné jsou přísně specifické. Rozsáhlá skupina GF (tab. 1) obsahuje polypeptidy, které mají označení podle své funkce (resp. prvotně objeve-

Tabulka 1. Přehled nejznámějších GF, jejich zdrojů a hlavních funkcí

Faktor	Hlavní zdroj	Hlavní funkce
EGF (epitelový růstový faktor)	submaxilární slinná žláza, Brunnerova žláza	podpora proliferace mezenchymálních, gliových a epitelálních buněk
EPO (erythropoetin)	ledviny	podpora proliferace a diferenciacie erytrocytů
FGF (fibroblastový růstový faktor)	široké spektrum buněk	podpora proliferace širokého spektra buněk
IGF-I (inzulínu podobný růstový faktor)	primárně játra	podpora proliferace mnoha buněčných typů
IGF-II (inzulínu podobný růstový faktor)	množství buněk	podpora proliferace širokého spektra buněk primárně fetálního původu
NGF (nervový růstový faktor)	neurony resp. neurity	podpora růstu nervových buněk a jejich přežívání
PDGF (destičkový růstový faktor)	trombocyty, endoteliální buňky, placenta	podpora proliferace pojivové tkáně, glie a buněk hladkého svalstva
TGF- α (transformující růstový faktor)	T-, B-lymfocyty	chemotaxe fibroblastů a eosinofilů angioneogeneze, proliferace embryonálních kmenových buněk
TGF- β (transformující růstový faktor)	aktivované TH ₁ a NK-buňky	protizánětlivý (suprese produkce cytokinů a exprese II. třídy MHC), podpora hojení ran, inhibice proliferace makrofágů a lymfocytů

né funkce – například Fibroblast Growth Factor, FGF) a výskytu (místa jejich první derivace – například Platelet-Derived Growth Factor, PDGF). Tradiční pojmenování jednotlivých GF je ve světle novějších poznatků zavádějící, funkce i místa výskytu GF jsou četnější (13, 14).

Výraznou podskupinu GF tvoří cytokiny, které jsou primárně secernovány leukocyty a stimulují humorální i buněčnou imunitní odpověď, stejně jako aktivují fagocytující buňky. Podle svého původu jsou rozděleny na monokiny a lymfokiny. Množství lymfokinů je známo jako interleukiny, které specificky působí jako GF pro většinu buněk hematopoetického původu (tab. 2) (27).

Většina GF je výrazně biopotentní, a to již při nanomolárních koncentracích. Mohou působit autokrinně, parakrinně i endokrinně.

V procesu regenerace pojivových tkání se nejvíce uplatňují polypeptidy primárně syntetizované megakaryocyty: Platelet-Derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor β -1 (TGF- β -1), Epidermal Growth Factor (EGF), Vascular Endothelial Growth Fac-

Tabulka 2. Nejznámější z lymfokinů, resp. interleukinů, které specificky působí jako GF pro většinu buněk hematopoetického původu

Interleukiny	Hlavní zdroj	Hlavní funkce
IL-1- α a β	monocyty, makrofágy a další buňky prezentující antigen (APCs)	imunitní a zánětlivá reakce, endogenní pyroxen, aktivace fibroblastů, osteoklastů, indukce TH ₂ , hematopoéza
IL-2	T-lymfocyty (TH ₁ , NK)	proliferace T- a B-lymfocytů, NK-buněk
IL-3	aktivované T-lymfocyty	proliferace zralých hematopoetických buněk
IL-4	TH ₂ a žírné buňky	řídí izotopový přesmyk protilátek na IgG a IgE (exprese MHC), proliferace B-lymfocytů, inhibice monokinů
IL-5	TH ₂ a B-lymfocyty, žírné buňky	diferenciace a proliferace eosinofilů, IgA
IL-6	aktivované TH ₂ , monocyty, makrofágy, fibroblasty	syntéza proteinů akutní fáze hepatocytů, stimulace zánětu, proliferace B-lymfocytů, synergie s IL-1 a TNF
IL-7	stroma kostní dřeně, thymus	diferenciace a zrání T- a B-lymfocytů
IL-8	monocyty, makrofágy, keratinocyty, fibroblasty	chemotaxe a aktivace neutrofilů
IL-9	T-lymfocyty	proliferace tymocytů, T-lymfocytů a žírných buněk
IL-10	aktivované TH ₂ , CD8+ T- a B-lymfocyty, makrofágy	inhibice syntézy cytokinů, zahájení proliferace B-lymfocytů, růst žírných buněk
IL-11	stroma kostní dřeně	proliferace hematopoetických buněk
IL-12	B-lymfocyty, makrofágy	proliferace NK buněk, produkce INF-
IL-13	TH ₂	obdobná funkce s IL-4

tor (VEGF). V inaktivní formě se nacházejí v granulech trombocytů, ze kterých jsou uvolňovány například působením trombinu při hemostáze. Zahájení buněčné proliferace indukované GF trombocytů není závislé na množství krevních destiček a vyplavených GF neboť poměrné zastoupení jednotlivých antagonisticky působících GF (indukce proliferace – PDGF / inhibice – TGF β -1) je konstantní (2.5–3/1), avšak rozsah a rychlost proliferace je v přímé úměře s počtem aktivních GF (3).

Stavba, funkce a mechanismus působení destičkových GF jsou vysvětleny na příkladu PDGF.

PDGF je produkován, kromě megakaryocytů, také dalšími buňkami například makrofágy, fibroblasty,

endoteliálními buňkami, astrocyty, myoblasty i množstvím tumorózních buněk.

Expresí dvou odlišných genů 7p21–p22 a 22q12.3–q13 vznikají 2 základní řetězce aminokyselin – PDGF-A (PDGF-1) (16kDa, 124 aminokyselin) a PDGF-B (PDGF-2) (14kDa, 140 aminokyselin), které jsou identické pouze z 60 procent. Jejich kombinací a vazbou disulfidickými můstky vznikají biologicky aktivní homodimery PDGF-AA, PDGF-BB a heterodimer PDGF-AB. Dimery –BB, –AB jsou cirkulující izoformy, zatímco –AA se nacházejí primárně v nestimulovaných osteoblastech. Zastoupení jednotlivých dimerů v trombocytech je 70 : 20 : 10, –AB : –BB : –AA. Biologicky aktivnější jsou –BB, –AB, které se váží na buněčné membrány na receptory α i β , zatímco –AA pouze na receptory α . Buněčné membrány PDGF-responďních buněk (například fibroblastů, osteoblastů, chondroblastů, gliových i endoteliálních buněk) obsahují specifické PDGF receptory s hustotou exprese 40000–300000. Dosud byly popsány 2 typy PDGF receptorů, a to PDGFR α , který váže monomer PDGF-A a PDGF-B, a PDGFR β , který váže pouze PDGF-B. Receptory v dimerické podobě odpovídajícím způsobem váží izoformy PDGF – PDGF-AA pouze α - α , PDGF-AB α - α , i α - β , PDGF-BB α - α , α - β i β - β . Tvorba receptorů je usměrňována autoregulací GF. Regulaci syntézy receptorů PDGF ovlivňuje TGF- β a PDGF, ten ale ovlivňuje též nespecificky expresi receptorů IL1, EGF, transferinu, LDL, různé proteinázy apod. Funkční konsekvence heterogenity PDGF není zcela známa, dimerická forma převážně působí jako mitogen na buňky mesenchymálního původu, monomerická forma působí chemotakticky (27).

Navázáním dimeru na příslušný receptor dochází k fosforylaci karboxylové skupiny cytoplazmatické domény, a to nejméně ve dvou pozicích (Y751 a Y857). Mezi cytoplazmatickou doménou PDGF receptoru a několika dalšími proteiny (například fosfatidyl inositol-3-kinázou (PI3), fosfolipázou C(PLC-gamma) a GTPázu-aktivujícím proteinem (GAP)) jsou vazby, které vznikají tyrosindependentní autofosforylací receptoru. Fosforylace v pozici Y751 je esenciální pro navázání PI3 na receptor, vazba GAP je podmíněna fosforylací obou zakončení. Fosforylace receptoru indukuje intracelulární odpověď – proliferaci, proteosyntézu. Některé podněty transdukce zprostředkované PDGFR α a PDGFR β jsou zcela jedinečné a nelze je substituovat.

Na rozdíl od většiny cytokinů, PDGF není volně cirkulující v krvi. Po intravenózním podání má aktivovaný PDGF biologický poločas kratší než 2 minuty. PDGF vázaný na plazmatické bílkoviny či proteiny extracelulární matrix působí jako autokrinní či parakrinní růstový faktor, v dospělosti se zejména uplatňuje při hojení poraněných tkání.

Fyziologické aspekty tkáňové reparační

Porušení tkáňové integrity vyvolává dynamickou kaskádu reparační tradičně rozdělovanou na fázi hemoragickou, fázi zánětlivou, fázi reparační a remodelace.

Tabulka 3. Úloha jednotlivých GF v procesu reparační poškozených tkání

	PDGF	FGF	TGF- β	EGF	IL-1 nebo TNF
Angiogeneze in vivo	0	+	+	+	+
Chemotaxe					
Monocytů	+	+	+	?	+
Fibroblastů	+	+	+	0	+
Endotelu	0	+	–	+	?
Proliferace					
Fibroblastů	+	+	\pm	+	+
Endotelu	0	+	–	+	0/–
Syntéza kolagenu	+	?	+	?	+
Sekrece kolagenázy	+	+	+	+	+

Na primární fázi hemoragickou navazuje lokální vazokonstrikce, je zahájena aktivace trombocytů s jejich degranulací a adhezí. Fáze hemoragická je ukončena hemostázou a chemotaxí zánětlivých buněk. Během zánětlivé fáze dochází k infiltraci neutrofilů, makrofágy a lymfocyty, které produkují specifické cytokiny a fagocytózou čistí oblast léze. Proliferace buněk a syntéza kolagenu jsou součástí poslední fáze, která též zahrnuje remodelaci a reorganizaci. Na procesu hojení se podílejí minimálně dva signální systémy, rozpustný a nerozpustný. Mezi solubilní molekuly patří především polypeptidy růstových faktorů a inhibitorů, insolubilními faktory jsou adhezivní glykoproteiny a polypeptidy extracelulární matrix (laminin, fibronectin, kolagen) (16, 21).

Trombocyty, krevní elementy, stavební prvky trombu při hemostáze, mají též významnou roli jako nosiči řady důležitých proteinů. Tyto diskoidní části rozpadlých megakaryocytů, tvoří heterogenní skupinu (nejednotné velikosti, rozdílné hustoty). V krevním řečišti se nacházejí v počtu 150 000 – 400 000/l a přežívají 8–10 dní. Kromě funkce pro-koagulační při tvorbě trombu přispívají k reparační poškozených tkání uvolněním řady proteinů přímo v místě léze. Trombocyty přinášejí růstové faktory syntetizované megakaryocyty (PDGF, TGF β -1, EGF, VEGF) i plazmatické bílkoviny (IGF-I, HGF), které získaly endocytózou během pobytu v krevním řečišti a řadu dalších proteinů uplatňujících se v komplexu koagulační kaskády (21).

Při aktivaci trombocytů trombinem nastává přestavba jejich cytoskeletu a exocytóza denzních granúl s ADP (adenosin-5'-difosfátem) a serotoninem, lizozomálních granúl s degradačními enzymy a granúl s GF.

Uvolněné GF zahajují chemotaxi, proliferaci mezenchymálních buněk i proteosyntézu. Úlohu jednotlivých GF v procesu reparační poškozených tkání ukazuje tabulka 3 (14).

Na buněčné membráně se GF váží na příslušné receptory, dochází k fosforylaci cytoplazmatické domény receptorů GF a následné intracelulární aktivaci proliferace a proteosyntézy (angiogeneze, migrace fibroblastů, syntéza kolagenu). Hojení je ukončeno remodelací – maturací a organizací jizvy.

Proces buněčné proliferace indukovaný GF je řízen intracelulární zpětnou vazbou. Při zvýšeném počtu

mitózy dochází k poklesu intracelulárního pH, při kterém se snižuje aktivita transkripce.

Aplikované GF taktéž zahajují chemotaxi, proliferaci, angiogenezi, proteosyntézu, reparaci, remodelaci poškozené tkáně. Zvýšená koncentrace GF v poškozené tkáni navozená přímou aplikací PRGF (Plasma Rich in Growth Factors) do místa léze výrazně urychlí proces reparace a regenerace. Reparace augmentovaná PRGF má inflamatorickou fázi výrazně redukovánou, leukocyty a jejich cytokiny, interleukiny jsou v místě léze pouze v běžných, nenavýšených koncentracích. Porušená tkáň se hojí bez výrazného otoku a i bolestivost je snížena (méně nociceptivní aferentace). Antiedematózní účinek je přičítán rychlejší angiogenezi, slabé interendoteliální vazby se zvýšenou prostupností proteinů i erytrocytů do extracelulárního prostoru jsou proliferací endotelu rychle nahrazeny plnohodnotnou endoteliální výstelkou.

METODIKA

Charakteristika a technika přípravy PRGF

PRGF je plazma s vysokým obsahem různých autologních proteinů, růstových faktorů. PRGF obsahuje GF trombocytů (PDGF, TGF-1, EGF, VEGF, IGF-I) i adhezivní plazmatické proteiny (fibrin, fibronectin, laminin).

Několik minut před plánovanou aplikací PRGF se odebere tenkou kanylou z periferní vény relativně malé množství krve (40 – 80 cm³), které odpovídá rozsahu terapeutického použití. Venózní krev se ve zkumavce smíchá s antikoaguliem (0,5ml 3,8% citrátu sodného na 4,5ml krve), které nemění morfologii destiček (EDTA – ethylendiamintetraoctová kyselina – poškodí trombocyty, ty jsou poté dysmorfní) ani neovlivňuje agregaci (ACD – kyselina citronová, citrát sodný, dextroza – s pH 6,5 neumožní shlukování destiček).

Osmiminutová centrifugace při 1800 otáčkách za minutu oddělí plazmu od červené a bílé krevní řady, jednotlivé frakce plazmy mající odlišnou koncentraci GF jsou také proximodistálně uspořádány podle vzestupného gradientu. Příliš rychlá centrifugace způsobuje mechanické porušení trombocytů a jejich předčasnou aktivaci, pomalá neoddělí zcela exaktně všechny elementy bílé krevní řady (zvýšený obsah zánětlivých cytokinů v PRGF).

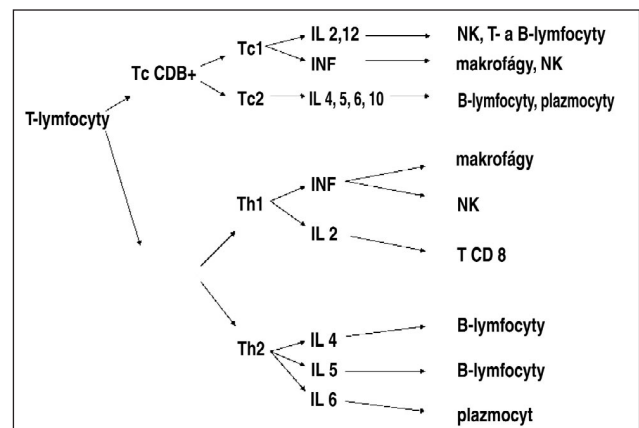
Největší koncentrace GF se nachází v plazmě, cca 0,5 cm³, těsně nad tenkou vrstvou leukocytů (3, 4). Plazma s nejnižším obsahem GF zůstávající ve zkumavce nejproximálněji, cca 1 cm³, bohatá na fibrinogen, se využívá k přípravě fibrinového koagula (fibrinové zátky ran, ochranné bariéry). Jednotlivé frakce plazmy se pomalu separují pipetami, aby nedocházelo k mechanickému narušení trombocytů.

Před aplikací je třeba aktivovat trombocyty, aby započaly uvolňovat granula s GF (od aktivace boviním trombinem bylo v tomto protokolu zcela upuštěno). Aktivace se provádí chloridem vápenatým (CaCl₂) poskytujícím potřebný kationt Ca²⁺, který se účastní opakovaně v koagulační kaskádě. Dávkování musí být

Tabulka 4. Interferony, jejich zdroj a funkce

Interferony	Hlavní zdroj	Hlavní funkce
INF- α a β	mikrofágy, neutrofily a některé somatické buňky	antivirová imunita, exprese I. třídy MHC na všech somatických buňkách, aktivace NK-buněk a mikrofágů
INF-	aktivované TH ₁ a NK buňky	exprese I. třídy MHC na všech somatických buňkách, exprese II. třídy buňkách, exprese II. třídy MHC na APCs a somatických buňkách, aktivace mikrofágů, neutrofilů, NK-buněk, zprostředkování protibuněčné imunity, antivirový efekt

Schéma 1. Subtypy T-lymfocytů, rozdělení dle povrchového receptoru a funkce, produkce cytokinů a ovlivnění dalších buněk organismu



zcela exaktní, a to 50 μ l CaCl₂ na každý 1 cm³ PRGF, odlišný postup neumožní aktivaci trombocytů a exocytózu granul. Proces aktivace a zahájení tvorby koagula je ovlivňován také okolní teplotou, při 20 °C se koagulum začíná tvořit za 5–7 minut, při aplikaci a tělesné teplotě 37 °C je tvorba koagula zahájena do 3 minut.

Dvojmocný iont kalcia intervenuje v různých etapách koagulační kaskády, také transformace protrombinu na trombin je Ca²⁺ dependentní. Trombin, přeměnou fibrinogenu na fibrin, zahájí tvorbu fibrinové sítě, ke které adherují také krevní destičky – vzniká koagulum s aktivovanými trombocyty, které uvolňují GF do okolí.

Přímým použitím trombinu k aktivaci dochází k sekreci GF velice promptně (1–2 min), použitím Ca²⁺ se interval uvolňování GF prodlouží, 90–95 % GF se uvolní během první hodiny po aktivaci. Aplikace PRGF aktivovaná autologním trombinem se provádí okamžitě, při aktivaci Ca²⁺ do 5–10 min (2).

Aplikaci provádíme injekční infiltrací poškozené tkáně (můžeme aplikovat i perkutánně), převrstvením rány in vitro připraveným koagulem s GF a krytím fibrinovou zátkou, je-li třeba. Homo- i heterografty či implantáty

také můžeme pokrýt na styčných plochách vrstvou koagula s GF a dále již implantovat obvyklým způsobem.

Použití PRGF

Primárně byly GF použity maxilofaciálními chirurgy při vyhojování alveolů po extrakci zubů (4, 5, 20). Kost byla připravována na implantaci dentálních implantátů. Vyhojení kostních defektů bylo výrazně rychlejší, komplikace se nevyskytovaly žádné. Následně se použití rozšířilo na veškeré stomatochirurgické zákroky.

Hranice použití GF nejsou přesně vymezeny, od semikonzervativní léčby při akutně vzniklé traumatické instabilitě hlezna perkutánní instalací PRGF do oblasti porušeného ligamenta fibulotalare anterior (11, 15, 18, 25), přes využití při osteosyntézách i primárních suturách ran (1, 6, 32), zlepšení hojení osteochondrálních defektů (19, 28, 29) až po augmentaci vhojování LCA graftu či aloplastik kloubů (22, 24). Taktéž hojení ulcus cruris, kožních defektů u pacientů s diabetes mellitus či jinak obtížně sanovaných dekubitů je úspěšné (8, 12, 23, 26, 30).

Indikační šíře použití PRGF je velmi rozsáhlá, terapeutický benefit pro pacienty široký: použití autologního materiálu omezuje riziko nákazy (blood transfer disease), zkrácení doby hojení poškozených tkání (kratší expozice eventuálním patogenům při narušení funkce přirozených bariér), snížení bolestivosti, a sekundárně i efekt ekonomický zahrnující eliminaci množství farmak (antibiotik, antiinflatoremik, analgetik) a zkrácení pracovní neschopnosti.

ZÁVĚR

Využití růstových faktorů, autologních proteinů krevní plazmy, v procesu reparace tkání akutně poškozených či degenerativně změněných predikují výsledky již řady klinických studií v oblasti orofaciální medicíny, traumatologie, ortopedie a chirurgie.

Pro správné použití PRGF v léčbě je však třeba znát principy a dodržovat stanovené doporučené postupy. Jako každá nová terapeutická metoda podléhá i tato neustálému zkoumání v klinických studiích zaměřených na dlouhodobé výsledky jejího užití. Výzkum v oblasti biochemie, genetiky i imunologie časem pravděpodobně ještě upraví či zpřesní použití jednotlivých frakcí resp. proteinů PRGF.

V textu použité zkratky

ACD (Acidum Citricum – Dextrose (+ event. natrii citras))
= kyselina citronová-dextróza (+ event. citrát sodný) – antikoagulancium

ADP (adenosine-5'-diphosphate)
= adenosin-5'-difosfát – nukleotid

APCs (Antigen Presenting Cells)
= buňky prezentující antigen (monocyty, makrofágy a další buňky)

EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid)

= ethylendiamintetraoctová kyselina – antikoagulancium
EPO (Erythropoietin)

= Erytropoetin – glykoprotein, hormon ovlivňující produkci erytrocytů

GAP (GTPase Activating Proteins)

= GTPázu aktivující proteiny

GF (Growth Factor(s))

= růstový(é) faktor(y)

EGF- Epithelial Growth Factor (Epitelový růstový faktor)

FGF- Fibroblastic Growth Factor (Fibroblastový růstový faktor)

HGF – Hepatocyte Growth Factor (růstový faktor hepatocytů)

IGF- Insulin-like Growth Factor (Inzulínu podobný růstový faktor)

NGF- Nerve Growth Factor (Nervový růstový faktor)

PDGF – Platelet-derived growth factor (Destičkový růstový faktor)

TGF- Transforming Growth Factor (Transformující růstový faktor)

VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor (růstový faktor cévního endotelu)

GTP (Guanosine-5'-triphosphate)

= guanosin-5'-trifosfát – purinový nukleotid

GTPáza = směs hydrolytických enzymů přeměňující GTP na GDP (guanosindifosfát) – při zahájení transdukce

IL= interleukiny – skupina cytokinů (tab.2) produkující signální molekuly

INF (Interferon)

= interferon (tab. 4) – glykoprotein produkovaný zejména buňkami imunitního systému patří do skupiny cytokinů, asistuje v imunitní odpovědi jako inhibitor replikace viru v dalších buňkách lidského těla indukci tvorby proteinů, které brání vniknutí virů do nitra buňky

LCA= ligamentum cruciatum anterius

LDL (Low-Density Lipoproteins)

= lipoprotein s nízkou denzitou – závěrečné stadium VLDL (Very Low-Density Lipoprotein), který je produkován v játrech

MHC (Major Histocompatibility Komplex)

= hlavní histokompatibilní komplex – komplex hrající významnou roli v imunitním systému, proteiny kódované MHC jsou vystaveny na povrchu buněk a prezentují části molekul mikrobů či dysfunkčních buněk (například tumorálních), tyto jsou rozpoznány T-lymfocyty, které mohou následně specificky mikroby, infikované či dysfunkční buňky zabít či koordinovat jejich likvidaci

MHC I. třídy – tyto molekuly jsou na všech buňkách lidského těla

MHC II. třídy – jsou pouze na specializovaných buňkách jako jsou makrofágy, dendritické buňky, aktivované T- a B-lymfocyty

NK (Natural Killer)

= přirození zabíječi – buňky řazené do nespecifické imunity projevující se spontánní cytotoxickou reakcí (nemají klasický rozpoznávací receptor pro antigenní epitop jako T- či B-lymfocyty)

PDGFR (Platelet Derived Growth Factor Receptors)

= receptory destičkového růstového faktoru – α a β

PI3 (Phosphatidyl Inositol-3-kinase)

= fosfatidyl inositol-3-kináza – spolu s diacylglycerolem vzniká rozštěpením fosfatidylinositolu, jako sekundární posel reguluje propustnost buněčné membrány

PLC (phospholipase C)

= fosfolipáza C – klíčový enzym fosfatidylinositolovém metabolismu, hydrolýzou na buněčné membráně zahajuje její zprůchodnění pro proteiny

PRGF (Plasma Rich in Growth Factors)

= plazma bohatá na růstové faktory

T- lymfocyty (viz schéma 1) – zajišťují specifickou imunitu společně s B-lymfocyty, pomocnými buňkami imunity, cytokiny a komplementem

Subpopulace – **Tc** (cytotoxické) – s koreceptorem **T-CD8+**

Th (helper – pomocné) – s koreceptorem **T-CD4+**

– podle produkce cytokinů

o **TH1** (IL2, TNF, INF γ)

o **TH2** (IL 4,5,6,10,13)

TNF (Tumor Necrosis Factor)

= faktor působící nekrózu nádoru – TNF α – kachektin, TNF β – lymfotoxin

– hlavní mediátor sepse a toxického šoku

TÜV (Technischer Überwachungs-Verein)

= (Technical Monitoring Association) – organizace provádějící nezávislé testování strojů a postupů s cílem ochránit člověka a životní prostředí

Literatura

- ANITUA, E., ANDÍA, I., SÁNCHEZ, M., AZOFRA, J., DEL MAR ZALDUENDO, M., DE LA FUENTE, M., NURDEN, P., NURDEN, A.T.: Autologous Preparations Rich in Growth Factors Promote Proliferation and Induce VEGF and HGF Production by Human Tendon Cells in Culture. *J. Orthop. Res.*, 23:281–6, 2005.
- ANITUA, E., ANDÍA, I., SÁNCHEZ, M.: PRGF (Plasma Rico en Factores de Crecimiento). *Dental Dialogue*, 2: 2–14, 2004.
- ANITUA, E., ANDÍA, I.: A New Approach to Bone Regeneration. *Plasma Rich in Growth Factors (P.R.G.F.)*, Vitoria, Puesta al Día Publicaciones, S.L. 2001.
- ANITUA, E.: Factores de crecimiento plasmático. Una revolución terapéutica. *Ideas y Trabajos Odontostomatológicos*, 2:90–94, 2001.
- ANITUA, E.: The Use of Plasma-Rich in Growth Factors (PRGF) in Oral Surgery. *Pract. Proced. Aesthet. Dent.*, 13:487–493, 2001.
- CROVETTI, G., MARTINELLI, G., ISSI, M., BARONE, M., GUIZZARDI, M., CAMPANATI, B., MORONI, M., CARABELLI, A.: Platelet Gel for Healing Cutaneous Chronic Wounds. *Transfus. Apher. Sci.*, 30:145–51, 2004.
- DEUEL, T. F.: Polypeptide Growth Factors: Roles in Normal and Abnormal Cell Growth. *Ann. Rev. Cell Biol.*, 3: 443–92, 1987.
- EPPLEY, B. L., WOODSELL, J. E., HIGGINS, J.: Platelet Quantification and Growth Factor Analysis from Platelet-Rich Plasma: Implications for Wound Healing. *Plast. Reconstr. Surg.*, 114:1502–8, 2004.
- FASSMANN, A., IZAKOVIČOVÁ-HOLLÁ, L., SLAPNÍČKA, J.: Kostní tkáňové inženýrství v orofaciální oblasti. Hradec Králové 2006, RNDr. František Skopec, CSc. Nucleus HK, 1. vydání, s. 112.
- FERGUSON, M. W., O'KANE, S.: Scar-Free Healing: From Embryonic Mechanisms to Adult Therapeutic Intervention. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.*, 359:839–50, 2004.
- FREI, R., BIOSCA, F. E.: Principle and use of Growth Factors in Orthopaedic Surgery and Traumatology. In: Tomáš, T. (ed.): *Kniha abstrakt – XIII. Frejkovy dny*. Brno, Masarykova universita v Brně, 2005.
- FU, X., LI, X., CHENG, B., CHEN, W., SHENG, Z.: Engineered Growth Factors and Cutaneous Wound Healing: Success and Possible Questions in the Past 10 Years. *Wound Repair Regen.*, 13:122–30, 2005.
- FUČÍKOVÁ, T.: Fyziologie imunitního systému. In: Klenner, P.(ed.): *Vnitřní lékařství*. Praha, Galén 1999, 55–62.
- FUČÍKOVÁ, T.: *Klinická imunologie v praxi*. 2. vydání, Praha, Galén 1997.
- GANDHI, A., BIBBO, C., PINZUR, M., LIN, S.S.: The Role of Platelet-Rich Plasma in Foot and Ankle Surgery. *Foot and Ankle Clin.*, 10:621–637, 2005.
- GOVAN, D. T., MACFARLANE, P. S., CALLANDER, R.: Healing. In: Govan, D. T., MacFarlane, P. S., Callander, R. (eds.): *Pathology Illustrated*, 4th edit., Singapore, Churchill Livingstone 1995.
- GROSS, M., DEXTER, T.M.: Growth Factors in Development, Transformation and Tumorigenesis. *Cell*, 64: 271–280, 1991.
- Handl, M., Trč, T., Frei, R., Hanus, M.: Chronická nestabilita hlezna – operační léčba. *Med. Sport. Boh. Slov.* 15: 61–63, 2006.
- HICKEY, D. G., FRENKEL, S. R., DI CESARE, P. E.: Clinical Applications of Growth Factors for Articular Cartilage Repair. *Amer. J. Orthop.*, 32:70–76, 2003.
- KASSOLIS, J. D., ROSEN, P. S., REYNOLDS, M. A.: Alveolar Ridge and Sinus Augmentation Utilizing Platelet-Rich Plasma in Combination with Freeze-Dried Bone Allograft: Case Series. *J. Periodontol.*, 71:1654–1661, 2000.
- KUMAR, V.: Repair: Cell Growth, Regeneration, and Wound Healing. In: KUMAR, V., COTRAN, R.S., ROBBINS, S.L. (eds.): *Basic Pathology*. 5th edit., Philadelphia, W.B. Saunders Company 1992, 47–60.
- MARLOVITS, S., MOUSAVI, M., GABLER, C., ERDOS, J., VECSEI, V.: A New Simplified Technique for Producing Platelet-Rich Plasma: A Short Technical Note. *Europ. Spine, Suppl.* 1:S102–106, 2004.
- PIERCE, G. F., MUSTOE, T. A., ALTROCK, B. W., DEUEL, T. F., THOMASON, A.: Role of Platelet-Derived Growth Factor in Wound Healing. *J. Cell. Biochem.*, 45:319–26, 1991.
- PIETRZAK, W. S., EPPLEY, B. L.: Platelet Rich Plasma: Biology and New Technology. *J. Craniofac. Surg.*, 16:1043–1054, 2005.
- PINK, M., VEJROSTOVÁ, M.: Srovnání klinických výsledků operační a časné funkční léčby ruptur vazů hlezenného kloubu u sportovců. *Med. Sport Boh. Slov.*, 11: 220, 2002.
- ROBINSON, C. J.: Growth Factors: Therapeutic Advances in Wound Healing. *Ann. Med.*, 25:535–538, 1993.
- ROITT, I. M.: *Essentials Immunology*. 8th edit., Oxford, Blackwell Scientific Publications 1994.
- SÁNCHEZ, M., AZOFRA, J., AIZPURUA, B., ANDÍA, I., ANITUA, E.: Use of Autologous Plasma Rich in Growth Factors in Arthroscopic Surgery. *Cuad. Arthroscopia*, 10:12–19, 2003.
- SÁNCHEZ, M., AZOFRA, J., ANITUA, E., ANDÍA, I., PADILLA, S., SANTOSTEBAN, J., MUJICA, I.: Plasma Rich in Growth Factors to Treat an Articular Cartilage Avulsion: a Case Report. *Med. Sci. Sports Exerc.*, 35:1648–1653, 2003.
- SOBICZEWSKA, E., SZMIGIELSKI, S.: The Role of Selected Cell Growth Factors in the Wound Healing Process. *Przegl. Lek.*, 54:634–638, 1997.
- VACANTI, C. A., BONASSAR, L. J.: An Overview of Tissue Engineered Bone. *Clin. Orthop.*, (367 Suppl): S375–381, 1999.
- YAZAWA, M., OGATA, H., NAKAJIMA, T., MORI, T., HANDA, M.: Basic Studies on the Clinical Application of Platelet-Rich Plasma. *Cell Transplant.*, 12:509–18, 2003.

MUDr. Robert Frei,
Klinika dětské a dospělé ortopedie a traumatologie
2. LF UK a FN Motol,
V Úvalu 84,
150 06 Praha 5