

Biostimulatie van de huid herstelvancontourenenvolumes

Abstract: Medical procedures to solve the problems of beauty care and cosmetics have been continuously evolving in order to increase their efficiency and to reduce their risk. The number of synthetic materials available to use as fillers has increased significantly in recent years. The diversity of these products with different physicochemical properties, has allowed its use in medicine fields beyond cosmetic medicine. Despite the success in the use of synthetic materials in cosmetic surgery, its use still is not a risk-free procedure. The purpose of this paper is to demonstrate the use of autologous materials to regenerate skin tissue. In the procedure we used three autologous substances (adipose tissue (semisolid), platelet-rich plasma (liquid), human thrombin (gel)). These components induce local bio-stimulation, leading to the filling and remodelling of the skin curves, while preserving the homeostasis and physiology of the patient's own tissue structure. In this study we have followed up six patients treated with the procedure for a year in order to validate its efficacy and possible undesirable effects. Skin parameters such as extensibility and elasticity were measured before and after the treatment. Both skin parameters showed improvements following the treatment. In the case of Skin extensibility varied from 0.498400 mm to 0.42000 mm and skin elasticity changed from 0.365340 to 0.492220 dimensionless, achieving statistical difference. Over 300 patients have been treated with this alternative method for local bio-stimulation. The present work demonstrates that autologous material is a possible and safe alternative to using synthetic materials for cosmetic porpoises possibly minimizing the risk of rejection.

Key Words:
Platelet, Thrombin,
Adipose Tissue,
Cosmetic,
Cutaneous Bio-
Stimulation,
Restoration of
curves and
volumes.

Technieken voor het verkrijgen
van autoloog materiaal (PRP, wit
vetweefsel, autologe trombine)

- **Plaatjesrijk plasma (PRP)** kan handmatig worden verkregen met behulp van de 'open techniek' of met behulp van wegwerpkits in het kader van de 'gesloten techniek'; zo is er het Harvest Smart PReP-systeem met dubbele centrifugatie, de manuele techniek van Anitua en zijn mede-

werkers met slechts één centrifugatie, het BTI PRGF-systeem, de PRP AG Curasan-kit, de PRP Friadent-Schultze-kit, het Symphony Platelet Concentrate-systeem, de Secuestra 5000-centrifugatie, enz. De concentratie bloedplaatjes en leukocyten kan variëren afhankelijk van het gebruikte systeem. In de techniek met dubbele centrifugatie verwerkt men bloed a rato van 280 g bij (1.400 tpm) gedurende 7 minuten of a rato van 160g bij (1.200 tpm) gedurende 10 minuten; wat

bovendrijft, wordt opnieuw gecentrifugeerd a rato van 400g (bij 200 tpm) om een **PRP** concentraat te verkrijgen. Meestal bedraagt de plaatjesconcentratie ongeveer 33-40 %; na dit proces kan de concentratie oplopen tot 330 %. In andere studies wordt tijdens de eerste centrifugatie 200 g verwerkt gedurende 10 minuten en bij de tweede centrifugatie 700 g gedurende 15 minuten (1). Eduardo Anitua en zijn medewerkers hebben de techniek beschreven waarmee men plaatjesrijk plasma kan verkrijgen door trage centrifugatie (BTI PRGF-systeem). Hiervoor worden kleine hoeveelheden bloed – ongeveer 40 ml – verwerkt. Het resultaat is een plaatjesrijk plasma met alle eiwitten en stollingsfactoren van plasma (**PRGF**). Bij andere protocols wordt een dubbele centrifugatie op hogere snelheid uitgevoerd om een superconcentraat van bloedplaatjes te verkrijgen. Het stolsel wordt verkregen door toevoeging van calciumchloride – het gebruik van trombine is niet nodig. Zo vermijdt men het optreden van ziekten, die worden uitgelokt door deze stof. Bij nog andere technieken wordt gebruikgemaakt van trombine van runderen. Met de techniek die Anitua gebruikt om plaatjesrijk plasma (**PRP**) te verkrijgen, kunnen we de bloedplaatjes benutten als vehiculum voor groeifactoren. De vrijzetting en de concentratie van deze eiwitten kunnen worden gecontroleerd. Dit verhoogt de biologische veiligheid omdat overexpressie van groeifactoren wordt vermeden. Bovendien kunnen de groeifactoren worden gebruikt in de gewenste zone, waar ze het regeneratie- en weefselherstelproces stimuleren en versnellen (2) (3).

- **Wit vetweefsel.** De eerste transfer van vet werd uitgevoerd in 1893 door Dr. F. Nueber. Daarna werden in de literatuur verschillende technieken beschreven, meestal op basis van spoeling met Ringer-lactaat, filtratie, decantatie en centrifugatie. Het herstel van volumes en lipostructuur werd beschreven in 1994 door Sydney Coleman; zij voorziet ook sedatie en lokale verdoving van de donor- of receptorzones en/of een algemene anesthesie, afhankelijk van de patiënt. Het vet wordt handmatig weggenomen door aanzuiging met een Coleman-canule met stompe punt, die is bevestigd op een injectiespuit

met negatieve druk, voldoende om het vet op te zuigen zonder het vetweefsel te beschadigen. Het op deze manier verkregen materiaal wordt niet onderworpen aan een spoel- of filtratieproces om de adipocyten niet te beschadigen. Wel wordt het vetweefsel gezuiverd door centrifugatie bij 3.000 tpm gedurende 3 minuten om het zuivere vet te scheiden van het bloed, residuen, verdovingsmiddel en oliën. Bij andere auteurs wordt het opgezogen materiaal verticaal gezet om een decantatie (klaring) te realiseren en zo een bovenlaag (het pure vet), een tussenlaag (lysis voor het zuigproces) en een onderlaag (aanwezigheid van erythrocyten te verkrijgen). De bovenlaag is de enige die in het kader van de behandeling wordt gebruikt. In sommige publicaties wordt gesteld dat deze zuiveringstechnieken osmotische schade of trauma's van het mechanische type in de adipocyten kunnen veroorzaken, wat de voorwaarden voor hun overleving kan wijzigen. Tot zover de techniek die wordt gebruikt om het vetweefsel te verkrijgen. De latere toepassing ervan berust op de driedimensionale wijziging van de anatomie door opvulling van de zones die niet in harmonie zijn met de omringende zone, en dit met het eigen vetweefsel van de patiënt. De bedoeling hierbij is dat het bloed de zones die het vetweefsel ontvangen, revasculariseert en dat het lichaam het vetweefsel permanent integreert als eigen weefsel, met gegarandeerd voorspelbare, permanente en veilige resultaten (4) (5) (6) (7) (8). Op basis van al de eigenschappen van vetweefsel en van de ervaring van tal van wetenschappers hebben wij een deel van ons onderzoek gewijd aan het gebruik ervan als vulmateriaal. Op basis van onze ervaring weten we nu dat een transplantatie van autoloog materiaal 'onschadelijk' is en dat de kansen op succes veel groter zijn als de transplantatie onmiddellijk wordt uitgevoerd, door deze levende cellen over te brengen van de donorzone naar de receptorzone zonder enige vorm van manipulatie, om zo levend weefsel te creëren. Als we hiermee rekening houden in deze situatie zou het correcter zijn om te spreken over transplantatie van onderhuids weefsel in plaats van over lipo-filling, hoewel het grotendeels cellen uit vetweefsel be-

treft. Getransplanteerd autoloog vetweefsel stimuleert de neovascularisatie en geeft de huid een betere consistentie en textuur (9) (10) (11).

- **Autologe trombine** wordt verkregen met behulp van technieken voor fractionering en zuivering van plasma.

1- Precipitatietechniek

a. fysische techniek, waarbij gebruik gemaakt wordt van cryoprecipitatie

b. fysisch-chemische techniek; van al de technieken zijn de precipitatieprocedures met ethanol, die zijn afgeleid van de klassieke techniek van Cohn, de meest gebruikte om albumine en immunoglobuline te verkrijgen.

2- Chromatografische techniek

a. gel-filtratie

b. ion-exchange chromatografie (ionwisseling)

c. affiniteitschromatografie

In onze studie hebben we de techniek van de fysisch-chemische precipitatie van Cohn gebruikt, de meest gebruikte plasmafractioneringstechniek. De techniek bestaat uit hemolyse van de rode bloedlichaampjes met precipitatie van verschillende eiwitten, te beginnen bij de minst oplosbare tot aan de meest oplosbare – voornamelijk fibrinogeen en fibrine – in functie van hun iso-elektrisch punt op basis van ethanolconcentratie, van de pH, van de ionensterkte en van de temperatuur. In combinatie met het PRP en de stollingsfactoren activeert deze autologe grondstof bestaande uit fibrinogeen en fibrine het stollingsproces opnieuw. Op deze manier kan humane autologe trombine worden verkregen, die snel van vloeibare toestand overgaat in geltoestand (12) (13) (14) (15).

Materiaal en techniek

1- Type studie: prospectieve en observationele studie

2- Studielocatie: Het onderzoek is uitgevoerd in het Centre d'Attencio Primaria 'Santa Perpetua de la Mogoda', Valles Occidental, Barcelona, Spanje, en in het Centre médical de Prévention de la Sénescence Cutanée (Medisch Centrum voor de Preventie van Huidveroudering), Ohain, België.

3- Geanalyseerde periode: Onze studie ging van start in januari 2009 en eindigde in december 2009.

4- **Panel:** De studie werd uitgevoerd op een steekproef van in totaal zes personen, één man en vijf vrouwen. De maximumleeftijd bedroeg 60 en de minimumleeftijd 40 jaar – de gemiddelde leeftijd bedroeg dus 50 jaar.

5- Definitie en gebruikte criteria

a) Inclusiecriteria

- Alle patiënten die werden onderworpen aan en beschreven op basis van de epidemiologische bevraging
- Van beide geslachten
- Minimumleeftijd: 40 jaar
- Maximumleeftijd: 60 jaar
- De in deze studie opgenomen patiënten hebben een formulier moeten ondertekenen, waarin ze verklaren hun toestemming te geven om deel uit te maken van een studiegroep, en waarin ze aangaven dat ze instemden met het gebruik van hun foto's voor wetenschappelijke doeleinden, met name als bewijsmateriaal.

b) Exclusiecriteria

- Rokers
- Personen die regelmatig alcohol drinken
- Ouder dan 60
- Jonger dan 40
- Auto-immuunziekten
- Infectieziekten
- Bloedstollingsstoornissen
- Niet-gecontroleerde chronische ziekten
- Patiënten onder anticoagulantia
- Patiënten onder immunosuppressiva
- Patiënten die het geïnformeerde toestemmingsformulier niet hebben ondertekend
- Patiënten die de epidemiologische enquête niet hebben ingevuld

c) Opmaken van het preoperatief bilan

(glycemie, ureum, creatinine, lipidenprofiel, stolling en bloedingen, leverprofiel, endocriene parameters). Waarden gebruikt volgens de criteria van het Internationale eenheidsstelsel voor klinische laboratoria van het Ministerie van Volksgezondheid. Hospital de Terrassa. Valles Occidental. Barcelona.

d) Enquête

Er werden twee enquêtemodellen ontwikkeld:

- Uitvoering van de enquête:
- Het medisch personeel overhandigde persoonlijk aan elke patiënt de eerste epidemiologische enquête, voor de fase van de cosmetisch-esthetische behandeling. Alle patiënten leverden de vragenlijst weer in één maand voor het begin van de eerste fase van de cosmetisch-esthetische behandeling.
- Het medisch personeel overhandigde persoonlijk aan elke patiënt een postoperatieve epidemiologische enquête II, op dezelfde dag als die waarop de eerste cosmetisch-esthetische behandeling plaatsvond. De periodieke controle van de variabelen van de enquête gaat door gezien ze zijn ontwikkeld om prospectief in de tijd te worden geëvalueerd. De enquête werd gefinaliseerd in hetzelfde jaar waarin de eerste fase van de cosmetisch-esthetische medische behandeling plaatsvond.

e) Maken van foto's om de morfologie van het gezicht te evalueren

Met behulp van een Sony α 100 DSLR-A100 Lente 3.5-6.3/18-200 fototoestel van Maleisische makelij worden numerieke foto's gemaakt onder verschillende hoeken om de anatomische zone die moet worden behandeld en geobserveerd, alsook de met de tijd verkregen veranderingen hierin, te identificeren.

f) Maken van beelden van de huid van het gezicht met behulp van een echografie (ultrasoon)

Hiervoor werd gebruikgemaakt van de huidechograaf Dermascan C® Cortex Technology, Denemarken. De echografieën werden uitgevoerd door een specialist met veel ervaring (ingenieur fysica-chemie). Men kiest een stabiele omgeving met een temperatuur van 25°C en fluorescentieverlichting. Het personeel laat de patiënten weten dat ze zich voor de diagnostische test moeten

aanmelden zonder make-up.

- Zone die wordt gekozen om de echografische metingen uit te voeren: alle patiënten werden onderworpen aan een faciale echografie aan de rechterzijde van het gezicht, ter hoogte van het rechterjukbeen.
- Volgorde van de uitgevoerde echografieën: de esthetische medische behandeling wordt uitgevoerd in twee fasen, met acht weken tussen de twee fasen. Daarom worden de echografieën in twee fasen uitgevoerd: de eerste voor de cosmetisch-esthetische medische behandeling en de tweede 10 weken na de cosmetisch-esthetische medische behandeling. Op basis van deze echografieën kunnen we de kwantitatieve huidparameters bepalen (rekbaarheid in millimeter, niet-dimensionele elasticiteit). In beide gevallen werd het onderzoek uitgevoerd door dezelfde specialist, in dezelfde omstandigheden op het vlak van temperatuur en belichting en met hetzelfde materiaal.

6- Document over de werkwijze

In dit document worden de werkwijze en andere waarnemingen beschreven, rekening houdend met de kwantitatieve en kwalitatieve parameters voor elke patiënt.

Beschrijving van de techniek

1) Planning:

De patiënten die deel uitmaken van onze steekproef, werden opgenomen in de planning voor mini-invasieve therapeutische behandelingen in ambulante setting.

a. Planning van het aantal behandelingssessies

De cosmetisch-esthetische therapeutische procedure wordt uitgevoerd in verschillende fases, op basis van twee behandelingssessies en indien nodig een derde sessie voor alle patiënten die hierom hebben gevraagd. Tussen twee behandelingsfasen zitten telkens 8 weken.

b. Planning van de huidtests om het risico op allergieën voor de verdovingsmiddelen lidocaïne/epinefrine uit te sluiten

Drie weken voor de cosmetisch-esthetische

medische behandeling zijn huidtests gepland om eventuele allergieën of een intolerantie voor de verdovingsmiddelen op te sporen.

c. Planning van huidechografieën voor en na de cosmetisch-esthetische behandeling

De echografieën zijn gepland een week voor de cosmetisch-esthetische behandeling en tien weken na de laatste behandelingssessie.

2) Alle patiënten moeten het geïnformeerde toestemmingsformulier voor de medische behandeling alsook voor de publicatie van hun foto's hebben ondertekend:

3) Preoperatieve evaluatie:

a. Lichamelijk onderzoek in verband met de toestellen en de systemen

b. Voorafgaand algemeen onderzoek

c. Voorafgaand electrocardiogram

d. Opsporing van bijwerkingen van de lokale verdovingsmiddelen

Bijwerkingen als gevolg van de lokale verdovingsmiddelen treden vrij vaak op, maar echte allergische reacties zijn uitzonderlijk. In ons werkprotocol zetten we de bijwerkingen die kunnen worden geassocieerd met lokale verdovingsmiddelen doorgaans apart; 1) toxische reacties: 2) effecten die geen verband houden met het geneesmiddel (psychomotorische effecten, vagale reacties, sympathische stimulatie, lokale intoxicatie: 3) allergische bijwerkingen, waarvan contactdermatitis de meest voorkomende is. Wij doen huidtests om allergieën voor lokale verdovingsmiddelen op te sporen; als we vermoeden dat de test positief is, worden de patiënten doorverwezen naar een allergoloog om allergie-onderzoeken te ondergaan om te bepalen welke lokale verdovingsmiddelen geen enkel risico inhouden. Een huidtest in combinatie met een provocatietest biedt een voortreffelijke voorspellende waarde en is

zowel veilig als doeltreffend.

Alle patiënten hebben een intradermale huidtest met lidocaïne (1:100) 0,1 ml op de binnenzijde van de linkeronderarm ondergaan. De test wordt beschouwd als positief als de blaren 3 mm groter zijn dan de negatieve controle – het resultaat wordt onmiddellijk afgelezen en na 24 uur (volgens de criteria van het American College of Allergy 2008). Wij gebruiken geen lokale verdovingsmiddelen van de groep van esters van para-amino-benzoëzuur in onze studie. De huidtests zijn uitgevoerd voor lokale verdovingsmiddelen van de amidegroep (lidocaïne); dit is de enige stof die in ons protocol wordt gebruikt en die een risico voor de patiënt kan inhouden. Alle patiënten hebben lidocaïne gekregen als lokaal verdovingsmiddel, behalve één patiënte die allergische antecedenten vertoonde bij gebruik van verschillende geneesmiddelen, waaronder verdovingsmiddelen van de amidegroep. Haar geval werd door een allergoloog onderzocht met een provocatietest en het verdovingsmiddel dat werd aanbevolen als het meest veilige was ultracaïne uit de amidegroep.

4) Peroperatieve evaluatie:

a. Lichamelijk onderzoek in verband met de toestellen en de systemen

b. Acht uur nuchter – de patiënt mag enkel water drinken

c. Markering van de zones waarop zal worden gewerkt

Alvorens met de ingreep te beginnen, en na palpatie en gedetailleerd onderzoek van de donorzone en de receptorzone waarop wij gaan werken, markeren we de zones met behulp van de Surgical Skin Marker (Deroyal) Hospiteria, Brussel, België; dit vergemakkelijkt ons werk en stelt ons in staat om nog nauwkeuriger te werken.

d. Premedicatie

In geval van stress raden we eventueel Lorazepam 1 mg aan als angstremmer; dit product heeft een eliminatiehalfwaardetijd van 12 tot 14 uur.

5) Behandelingskamer:

a. Bloedname

- Wordt uitgevoerd in de preoperatieve zone.
- Gebruik van handschoenen.
- Materiaal om de huid te ontsmetten met Cristalmina Plus Spray Laboratorio Salvat, Spanje, (chloorhexidine 1 % en allantoine 0,4 %).
- Drukverband (Esmarch).
- Perifere veneuze punctie van de antecubitale zone van de rechterarm voor alle patiënten, enkele minuten voor de behandeling.
- Trocar Vacuette® (Greiner bio-one. Ref. 450085) 23 G $\frac{3}{4}$ (0,64 mm x 19 mm).
- Men neemt 45 ml bloed (5 stalen van 9 ml) in de glazen Vacuette® buisjes (Greiner bio-one) MLS n.v., steriel en met gesloten systeem. Van deze 5 buisjes bevatten er vier natriumcitraat (geen stolling) 3,2 % (Ref. 455322) en één buisje bevat geen additieven (Ref. 455001) MLS n.v..
- De buisjes worden voorzien van de naam van de patiënt.
- Er wordt een pleister aangebracht om bloeding te voorkomen
- Gebruikte naalden worden apart verzameld.

b. Centrifugatie

De fase van de celscheiding gebeurt door numerieke centrifugatie en bij omgevings-temperatuur; de tijd- en snelheidsparameters zijn gegarandeerd in overeenstemming met ons protocol. Dit proces moet worden uitgevoerd door een ervaren zorgverstreker om een maximale concentratie bloedplaatjes per eenheid verwerkt bloedvolume te verkrijgen; het is namelijk dit proces dat het mogelijk maakt om plaatjesrijk plasma te verkrijgen (PRP). Heel dit proces vindt plaats in een laboratorium, dat zich bevindt naast het operatiekwartier voor ambulante ingrepen. De scheiding van de bloedelementen na centrifugatie gebeurt in functie van de dichtheid,

van de hoogste naar de laagste dichtheid: de rode bloedcellen zakken naar de bodem van het buisje; de leukocyten vormen er een laag (buffy coat) net boven de erythrocyten. Dat maakt het mogelijk om plasma zonder witte cellen te verkrijgen, met als resultaat dat de bloedplaatjes worden geconcentreerd in de cm^3 plasma boven de rode bloedcellen. Om autologe trombine te verkrijgen, bestaat er een fase in het proces waarin eveneens centrifugatie optreedt, volgens tijds- en snelheidsparameters die in het protocol zijn beschreven.

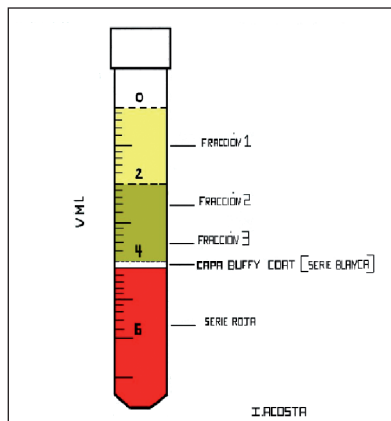
c. Verkrijgen van plaatjesrijke plasmafracties (PRP)

De techniek waarmee plaatjesrijk plasma kan worden verkregen, is uiterst eenvoudig en is gebaseerd op kleine bloednames bij de patiënt in een perifere ader en met minimale instrumentatie. Dit alles gebeurt op zeer korte tijd in het medisch centrum zelf. Wij verkiezen natriumcitraat als antistollingsmiddel, omdat andere anticoagulantia wijzigingen veroorzaken in de morfologie van de bloedplaatjes – die zwellen immers en worden bolvormig in plaats van schijfvormig. De 4 buisjes van 9 ml, die bloed met natriumcitraat bevatten (Ref. 455322), worden in de centrifuge, model H-19F® Regen Lab-Zwitserland, 800 giga geplaatst, bij 3.000 tpm en dit gedurende 8 minuten. Na centrifugatie verkrijgt men een plaatjesrijk plasma (PRP) met de drie fracties en hun respectieve concentratie bloedplaatjes en groeifactoren.

- fractie 1: dit is de fractie het dichtst bij het oppervlak van het buisje; deze fractie komt overeen met plaatjesarm plasma.

- fractie 2: dit is de tussenfractie; ze komt overeen met plasma dat een hoeveelheid bloedplaatjes bevat, die vergelijkbaar is met die van perifeer bloed.

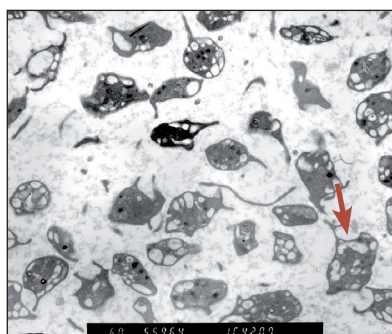
- fractie 3: net boven de rode bloedcellen en de 'buffy coat'-laag. Deze fractie bevat de meeste intacte bloedplaatjes; ze bevat 3 tot 4 maal zo veel bloedplaatjes als bloed.



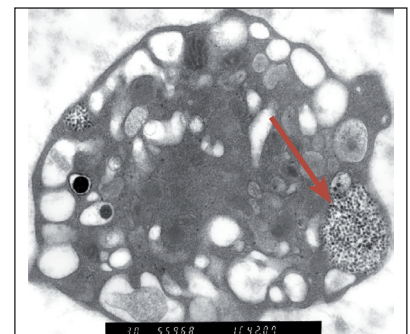
Figuur 1: fracties van het plasma, na centrifugatie, volgens PRGF-protocol

d. Verkrijgen van plasma rijk aan groeifactoren (PRGF)

Van de drie fracties plaatjesrijk plasma (PRP), die door centrifugatie werden verkregen, zuigen we zorgvuldig fractie 2 en 3 op en tot slot ook de laatste fractie; van de leukocyten en rode bloedcellen blijven we af. Het aspiratieproces moet zeer nauwkeurig gebeuren, zodat de 'buffy coat' onaangeroerd blijft – dit alles wordt uitgevoerd onder laminaire luchtstroom. De aspiratie gebeurt met behulp van een steriele wegwerpspuit van 10 ml met een 21G x 2 (0,8 x 50 cm) naald. Voor elke patiënt wordt een andere hoeveelheid plaatjesrijk plasma (PRP) verkregen.

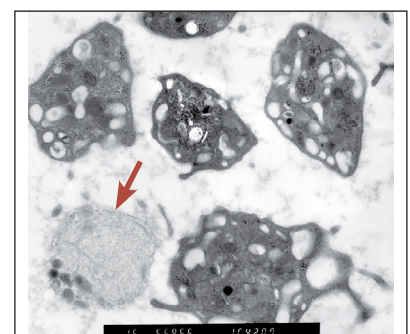


Figuur 2: elektronische hoogresolutiemicroscopie. Aggregaat van bloedplaatjes en α -korrels in de plaatjesstructuur. Gemaakt door Acosta I, Hurtado P, 2010.



Figuur 3: elektronische hoogresolutiemicroscopie van een bloedplaatje, waarin men de α -korrels kan zien voordat ze worden geactiveerd. Gemaakt door Acosta I, Hurtado P, 2010.

Om de activering van de bloedplaatjes te induceren, proberen we een natuurlijk mechanisme te reproduceren met behulp van Ca^{2+} ; en om dit te optimaliseren, bepalen we de Ca^{2+} -concentratie individueel voor elke patiënt. Afhankelijk van de hoeveelheid plaatjesrijk plasma (PRP) die we hebben verkregen, voegen we – in de juiste verhouding – 10 % calciumchloride toe (100 mg/ml). De kinetiek van de vrijzetting van de groeifactoren in de α -korrels verloopt traag. Op die manier verkrijgen we een plasma dat rijk is aan groeifactoren (PRGF), dat onmiddellijk wordt gebruikt.



Figuur 4: elektronische hoogresolutiemicroscopie, waarop men de bloedplaatjes ziet tijdens het activeringsproces, zoals dit is beschreven in 'Materiaal en techniek', alsook een bloedplaatje na degranulatie, zonder de α -korrels. Gemaakt door Acosta I, Hurtado P, 2010.

e. Verkrijgen van autologe trombine door fysisch-chemische precipitatie

- Men zuigt 1 ml lucht uit 1 buisje met 9 ml bloed zonder additieven (Ref. 455001)*MLS n.v.; daarna voegt men 1 ml ethanol 96° + 0,4 ml calciumchloride 100 mg/ml toe, waardoor het stollingsproces op gang gebracht wordt. Men laat dit 30 minuten rusten. Zo verkrijgt men een precipitaat (een neerslag) van eiwitten, voornamelijk fibrinogeen en fibrine. Men plaatst dit in de centrifuge, model H-19F* Regen Lab-Zwitserland, 800 giga, bij 3.000 tpm en dit gedurende 5 minuten. Met behulp van een spuit van 1 ml en een naald 18 G 1 ½, haalt men 0,1 cc uit het buisje. Hierbij moet men de eerste mm, die ethanol bevatten, vermijden. Dit mengt men met 0,9 cc van het eerder verkregen plaatjesrijk plasma (PRP). Men schudt de spuit zachtjes met de hand om een homogeen mengsel te vormen; dit activeert opnieuw de stolling, waardoor een humane, autologe trombine in vloeibare toestand wordt verkregen, die al snel overgaat in gelvorm. Deze gel kan worden gebruikt als biologische weefselondersteuning en heeft nog tal van andere functies, zoals de stimulatie van α -korrels in het bloedplaatje. Op basis van onze ervaring bereiden we 5 spuiten van 1 ml autologe trombine per patiënt (12) (13) (14) (15).

f. Verkrijgen van wit vetweefsel uit de donorzone

Afneming in de zone van de trochanter of ter hoogte van de heupen of de buik. Er wordt een micro-incisie van 2,5 mm gemaakt met behulp van een steriele wegwerpbistouri in koolstof van het merk Swan-Marton®, nummer 11, om de canule met stompe punt voor twee naalden van 15 cm lang en met een diameter van 2,5 mm gemakkelijker te kunnen inbrengen. De diameter is belangrijk om wrijving van het vetweefsel tegen de wanden van de canule te vermijden en zo mogelijke schade aan de vetcellen te verminderen. Deze canule wordt verbonden met een injectiespuit van 10 ml. Vervolgens worden traag manuele micro-aspiraties uitgevoerd in waai-

ervorm (zonder een zuiger te gebruiken); hierbij tracht men steeds te vermijden dat de vetcellen worden blootgesteld aan trauma's, aan de lucht en aan chemische factoren. Per patiënt wordt 10 ml vetweefsel aan elke kant opgezogen, in totaal dus 20 ml.

g. Toevoeging van anabolica om de overlevingskansen van de adipocyten te vergroten

Aan elke 10 ml vetweefsel wordt onmiddellijk 2 ml PRGF toegevoegd, dat meteen in de receptorzone wordt gespoten om contaminatie te vermijden en de overleving ervan te garanderen.

h. Verdoving

Bij locoregionale anesthesie voert men een omkeerbare blokkade uit van de prikkelgeleiding, met verlies van gevoeligheid in een afgebakende zone van het lichaam; hiervoor worden minimale inhiberende concentraties van een lokaal verdovingsmiddel gebruikt. Wanneer een lokaal verdovingsmiddel wordt gebruikt, moet het werkingsmechanisme ervan bekend zijn; een lokaal verdovingsmiddel bezet namelijk de interne receptor van het Na⁺-kanaal en produceert een membraanextensie, die de kanalen sluit door compressie; het Na⁺ kan niet binnen en de cel wordt gepolariseerd. Zolang de cel niet wordt gedepolariseerd, is er ook geen overdracht van pijnprikkels. Het is dus absoluut noodzakelijk dat men de sensorische innervatie en de specifieke receptoren in de huid kent. De sensorische innervatie via zenuwuiteinden stemt overeen met zenuwen van het perifere zenuwstelsel, die de klieren, de spieren en de haarfollikels moeten innervieren en de diameter van de bloedvaten moeten controleren. De innervatie kan ook verlopen via gespecialiseerde receptoren, die zijn ingekapseld in bindweefsel en die meestal corpuscula worden genoemd.

- lichaampjes van Meissner (tast)
- Vater-Pacini lichaampjes (druk en trilling)
- lichaampjes van Ruffini (warmte)
- lichaampje van Krause (koude)

Met locoregionale verdoving kan men het perifere zenuwstelsel en de gespecialiseerde receptoren blokkeren.

- Locoregionale oppervlakteanesthesie van de donorzone voor vetweefsel

In het algemeen voert men een veldblok uit met lidocaïne 2 % zonder adrenaline in de vetweefsel donorzone om vaatvernauwing van het vetweefsel te vermijden en vascularisatie te garanderen. Het verdovingsmiddel wordt tangentieel en oppervlakkig ingespoten en men verkrijgt een decorticatie van het perifere zenuwstelsel. Men injecteert precies de hoeveelheid verdovingsmiddel die nodig is; te veel verdoving zou de vetweefsel donorzone, die zich op ongeveer 1cm diepte bevindt, kunnen contamineren. Het vetweefsel moet onmiddellijk worden weggenomen, voordat het verdovingsmiddel terechtkomt in de laag waar zich de vetcellen bevinden. De afneming van het vetweefsel gebeurt met een canule met stompe punt, met trage, regelmatige, waaivormige bewegingen. Als de patiënt allergisch is, wordt een veilig verdovingsmiddel gebruikt, dat is aangeraden door de allergoloog: ultracaïne.

- Locoregionale verdoving in de receptorzone voor vetweefsel, PRGF, trombine

Voor de receptorzones wordt meestal lidocaïne 1 % + epinefrine 20 mg/0,0125-1,8 ml gebruikt.

- Verdoving van de huid: De dermis wordt verdoofd met meerdere prikken met een korte naald, die haaks op de huid wordt geplaatst. De injectie wordt traag uitgevoerd, met de punt tot in de dermis, die er op dat moment uitziet als sinaasappelhuid. Deze techniek wordt gebruikt om het laterale gedeelte van het gezicht te verdoven, met prikken in de zone waar de huid en de inplanting van de haarvaten samenkomen. Naargelang de te behandelen zone wordt 0,4 ml per prik gebruikt. De werking van het verdovingsmiddel treedt zeer snel in omdat de gespecialiseerde receptoren of 'lichaampjes' zich net onder de opperhuid bevinden. De prikken stemmen overeen met de punten waar de stompe canule zal worden ingebracht.

- Trunculaire verdoving van de perifere ze-

nuwen: Voor het middelste gedeelte van het gezicht wordt een blok van de innervende zone die men gaat behandelen, uitgevoerd om de vascularisatie van de receptorzone niet in gevaar te brengen en geen afstoting te veroorzaken. Per blokkering wordt 0,25 ml gebruikt.

Trunculaire verdoving is eigenlijk gebaseerd op de nervus trigeminus (het 5e paar craniale zenuwen) en de drie takken hiervan. Men moet rekening houden met het anatomische traject van deze zenuw, dat bestaat uit een korte intracraniale passage met het ganglion van Gasser (ganglion trigeminale), de zenuwknoop die zich bevindt op de punt van het rotsbeen (onderdeel van het os temporale of slaapbeen). Vanuit deze zenuwknoop vertrekken de drie takken van de nervus trigeminus, die het harde hersenvlies (dura mater) verlaten via verschillende openingen in de bodem van de fossa cranii media.

- Sfenoidale spleet/fissura orbitalis superior (nervus ophthalmicus, eerste tak van het 5e paar)

Vanuit het ganglion van Gasser, splitst deze zenuw in drie takken: een nasale, een lacrymale en een frontale. Hij innerveert de huid van het voorhoofd, de huid van het neusgat en het achterste gedeelte van het neusslijmvlies, alsook de oogbol en de traanklier.

- Foramen rotundum magnum/fissura orbitalis inferior (nervus maxillaris, tweede tak van het 5e paar)

Deze zenuw geleidt de gevoeligheid van de aangrenzende huid van de kaak, het onderste ooglid, de slapen, het slijmvlies van het onderste ooglid, het slijmvlies van de bovenlip, de bovenste tanden, palatum osseum (benig hard gehemelte), de huig en de amandelen, de nasofarynx, het middenoor en het onderste gedeelte van het neusslijmvlies.

- Foramen ovale (nervus maxillaris inferior, derde tak van het 5e paar)

Dit is een gemengde zenuw, met een tak naar de tong en een naar de onderste tanden. De motorische vezels ervan innerveren de kauwspieren en de sensorische vezels ontvangen en geleiden de gevoeligheid van

de huid van het achterste gedeelte van de slapen, de wangen, de onderlip, de kin, de onderste tanden, de mondbodem, enz.

Deze 'toegangspunten' maken het mogelijk om een grote zone te verdoven met een minimum aan verdovingsmiddel, zonder lokale veranderingen te veroorzaken omdat het product op afstand wordt ingespoten.

Dankzij deze verdovingstechnieken in de vorm van een veldblok, aanpakken van de huid en trunculaire blokkering van de gevoelszenuwen, en ook dankzij onze kennis van de anatomische structuren, elimineren we het risico dat verdovingsmiddel terechtkomt in de holte van het bloedvat, wat ernstige toxische gevolgen zou kunnen hebben. Bovendien kunnen we op deze manier werken op grote huidvolumes en moeten we de route van de zenuwbanen niet volgen. Men mag niet uit het oog verliezen dat lokale verdoving complicaties kan veroorzaken, zoals: 1) ecchymosen, hematomen; 2) abscessen; 3) zenuwletsel; 4) lokale overgevoeligheid.

Gebruik van de drie elementen, die werden verkregen met de mini-invasieve techniek

- gebruik van het vetweefsel met behulp van een stompe canule in tangentiële positie

Wanneer het vetweefsel is weggenomen uit de donorzone – ongeveer 20 ml per patiënt – wordt geen enkel zuiveringsproces uitgevoerd (spoelen, filteren, decanteren of centrifugerend). Men bewaart het weefsel in het natuurlijke milieu ervan (vasculair steuweefsel of reticulair bindweefsel, waarin zich de 'niche' van moedercellen bevindt). Aan de 20 ml vetweefsel wordt 4 ml PRGF toegevoegd als anabole stof. Men gebruikt voor alle patiënten normocorrectie, met twee of eventueel drie behandelingssessies. Tussen twee behandelingssessies zit telkens een rustperiode van 8 weken voor alle patiënten. Men moet ervan uitgaan dat slechts 50 % van de cellen overleeft. Men transplanteert 10 ml vetweefsel plus 2 ml PRGF aan beide zijden van het gezicht; bij de injectie van het transplantatiemateriaal wordt aandacht besteed aan de convexiteit van de contouren en wordt de overgang tussen de verschillende anatomische zones zo vloeiend mo-

gelijk gemaakt. Omdat de meeste plooien, rimpels en verslappingen het gevolg zijn van substantieverlies, worden ze zodanig opgevuld dat krachtvectoren worden gecreëerd, waarmee de gevolgen van de zwaartekracht kunnen worden bestreden. De gebruikte injectietechniek is de rijstkorreltechniek, met meestal drie toegangspunten, die volstaan om het hele gezicht te bestrijken. Er wordt weinig geïnjecteerd maar over een grote oppervlakte om de revascularisatie – waarvan de overleving van het transplantaat afhangt – niet in gevaar te brengen. De injecties worden vlak per vlak uitgevoerd, te beginnen bij de subperiostale en intermusculaire zone (twee sterk gevasculariseerde zones). We eindigen met de subcutane 'infradermale' zone.

- gebruik van het plasma rijk aan groeifactoren met behulp van een naald in tangentiële positie

Het plasma rijk aan groeifactoren (PRGF) wordt tangenteel ingebracht in het gezicht van patiënten met behulp van een naald 27 G 1 ¼° Inex Puiseux-le-Hauberger, Frankrijk; de inspuiting gebeurt oppervlakkig onderhuids, voornamelijk in de wang, onder de oogkas, in het uiteinde van de wenkbrauwen en rond de mond. Zoals eerder vermeld, wordt dit PRGF gebruikt met als doel biostimulatie, herstel en regeneratie van weefsels.

- gebruik van autologe trombine met behulp van een naald in horizontale positie

De autologe trombine moet zeer snel en behendig worden ingespoten omdat dit gebeurt met een naald, wat een risico op hematomen en ecchymosen impliceert. Daarom moet de injectie horizontaal worden gegeven, onderhuids met een naald 27 G 1 ¼°. Een van de bijzondere eigenschappen van autologe trombine is het feit dat het snel – in ongeveer 30 seconden – kan overgaan van vloeibare naar geltoestand. Met deze autologe grondstof kunnen de botcontouren, die met de jaren scherper worden, worden verzacht. De trombine moet worden ingespoten in de zone rond de oogkassen, tussen de wenkbrauwen, ter hoogte van de lippen en de

nasogene plooi en doet dienst als biologisch steunweefsel, dat ons op zijn beurt in staat stelt om volume te genereren. In ons protocol mag de trombine enkel in vloeibare toestand worden gebruikt; in gelvorm zou ze namelijk niet door de naald kunnen. Daarom moet deze inspuiting uiterst snel gebeuren. Er worden 5 spuitjes met 1 ml trombine in vloeibare toestand gebruikt, goed voor in totaal 5 ml autologe trombine per patiënt.

i. Cryotherapie

Zodra de lijnen en volumes zijn hersteld met behulp van vetweefsel wordt in de receptorzones onmiddellijk een Cryotherapie Dermoline[®] Sophysa Benelux, Eigenbrakel, België uitgevoerd bij een temperatuur van -5°C gedurende 5 minuten, dit om ecchymosen te voorkomen, de lijnen te remodeleren en ontsteking te verminderen maar ook om de werking van de groeifactoren te stimuleren.

I. Document over de werkwijze

- vetweefsel (ml) /PRP (ml)/ calciumchloride (ml)/ autologe trombine (ml)
- donorzone
- receptorzone
- aantal sessies
- andere procedures
- verdoving

6) Postoperatief

a. Recovery

- aangename sfeer en temperatuur, airco op 25°C.
- infraroodkamer: De patiënt wordt op een brancard gelegd, die is aangesloten op een biocompatibele infraroodkamer Done Professionnel Visage Nivel[®] Inovo Irl Technologies, Montpellier, Frankrijk, gedurende 20 minuten, tot een temperatuur wordt bereikt van 37°C; dit verhoogt de bloed- en lymfedoorstroming en verbetert de fysiologische reacties van de cellen.

7) Postoperatief advies

- gedurende een week geen enkele lichamelijke inspanning
- gedurende een week geen massage op de

getransplanteerde zone om de fixatie en de revitalisatie van het vetweefsel in de receptorzone mogelijk te maken.

- geen blootstelling aan hoge temperaturen.
- gedurende een maand geen blootstelling aan de zon.
- in geval van pijn, pijnstillers nemen.
- goede hydratatie.

8) Veiligheid

a. Urgentiekar

b. Automatische externe defibrillator Datascope Passeport

Om de patiënt indien nodig om het even wanneer onder controle te houden.

c. Kast met laminaire stroming

- gebruik van een kast met laminaire stroming H500[®] Hotte met filtratie volgens norm NX15-211. Klasse 2. Buitenafmetingen 980 x 800 x 620 mm (HLP), microbiologische veiligheidspost, type BIO II 9-12, ADS Laminaire, België, gedurende het volledige celscheidingsproces na centrifugatie van het afgenomen bloed.

d. Beschermingsmaatregelen en -middelen

- gebruik van handschoenen, kapje, maskers, gaasverbanden en steriele wegwerpkompressen.
- aangepaste aseptische-antiseptische maatregelen.

- aseptisatie van de te behandelen zones met behulp van Cristalmina Plus Spray[®], (chloorhexidine 1 % en allantoin 0,4 %).

- isolatie van de velden met behulp van een steriel wegwerpgaasverband voor de donorzone en de receptorzone.

e. Evaluatie en follow-up

- Er wordt een strenge controle uitgevoerd op mogelijke bijwerkingen of ongewenste reacties tijdens en na de cosmetisch-esthetische medische ingreep.

f. Duur van de ingreep

- Van bloedname en het wegnemen van vetweefsel in de donorzone tot de transplantatie ervan in de receptorzone om de contouren, lijnen en volumes te herstellen, inclusief het inbrengen van PRP en de trombine, duurt de ingreep maximaal twee uur.

- Bij de minste tegenslag en als het inbrengen van de autologe trombine vertraging oploopt, bestaat het risico dat de trombine overgaat in gelvorm. In dit geval wordt ze automatisch weggegooid en wordt een nieuw monster genomen.

- Het plasma wordt opgezogen uit de diepste fractie, zonder turbulentie te veroorzaken. Als de cellen worden geschud, wordt het gecontamineerde buisje weggegooid, omdat het plasma in dit geval is gehemolyseerd.

g. Betrouwbaarheid van het gebruikte materiaal

Al het gebruikte materiaal heeft een hoog veiligheidsniveau. Het is steriel wegwerp materiaal en draagt het EEG-keurmerk voor gezondheidsproducten voor specifiek gebruik met het oog op het verkrijgen van plaatjesrijk plasma (PRP) en de transplantatie van vetweefsel.

Acosta Sosa, I.*, Potdevin, D.**,
Hurtado Consuegra, P.***

* Licentiate in de geneeskunde.
Gespecialiseerd in huisartsgeneeskunde.
Diploma geneeskunde en cosmetische chirurgie en verouderingsgeneeskunde.
Catalaans Gezondheidsinstituut,
Barcelona, Spanje.

** Licentiaat in de geneeskunde.
Gespecialiseerd in dermatocosmetica.
Diploma geneeskunde en cosmetische chirurgie alsook verouderingsgeneeskunde.
Centrum voor Preventie van
Huidveroudering, Brussel, België.

*** Licentiate in de geneeskunde.
Gespecialiseerd in klinische immunologie.
PhD in klinische immunologie. Nierafdeling
van het Adelaide Hospital, Australië.