

Autologe plaatjes-leukocytengel : toepassing bij diverse chirurgische indicaties

Citation for published version (APA):

Everts, P. A. M., Everts-Koning, J. G., Scharnhorst, V., & Curvers, J. (2010). Autologe plaatjes-leukocytengel : toepassing bij diverse chirurgische indicaties. *Bloedtransfusie*, 3(3), 87-93.

Document status and date:

Published: 01/01/2010

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of Record (includes final page, issue and volume numbers)

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.tue.nl/taverne

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

openaccess@tue.nl

providing details and we will investigate your claim.



Autologe plaatjes-leukocytengel: toepassing bij diverse chirurgische indicaties

Auteurs P.A.M. Everts, J.G. Everts-Koning, V. Scharnhorst en J. Curvers

Trefwoorden plaatjes-leukocytengel, trombocytengroefactoren, wondgenezing

Samenvatting

Het therapeutisch gebruik van autoloog bereide plaatjes-leukocytengel (PLG) is een nieuwe technologie welke de genezing van zachte weefsels en bot bevordert en versnelt. De doeltreffendheid van deze procedure ligt in de exogene aanvoer van diverse trombocytengroefactoren, die vrijgemaakt worden uit de autoloog bereide PLG.

De reden om deze techniek toe te passen is, het op een suprafysiologische manier stimuleren van genezingsprocessen om sneller wondgenezing en weefselherstel te bewerkstelligen.

Tevens kan de transfusie van allogene bloedproducten tijdens chirurgische ingrepen worden gereduceerd door verminderd bloedverlies als gevolg van snellere wonddichting.

Ondanks een toename in klinische toepassingen van PLG is de structuur en kinetiek van dit biologisch materiaal niet volledig bekend. In dit artikel worden toepassingen voor PLG besproken, gebaseerd op publicaties in diverse chirurgische disciplines.

(Tijdschr Bloedtransfusie 2010;3:87-93)

Inleiding

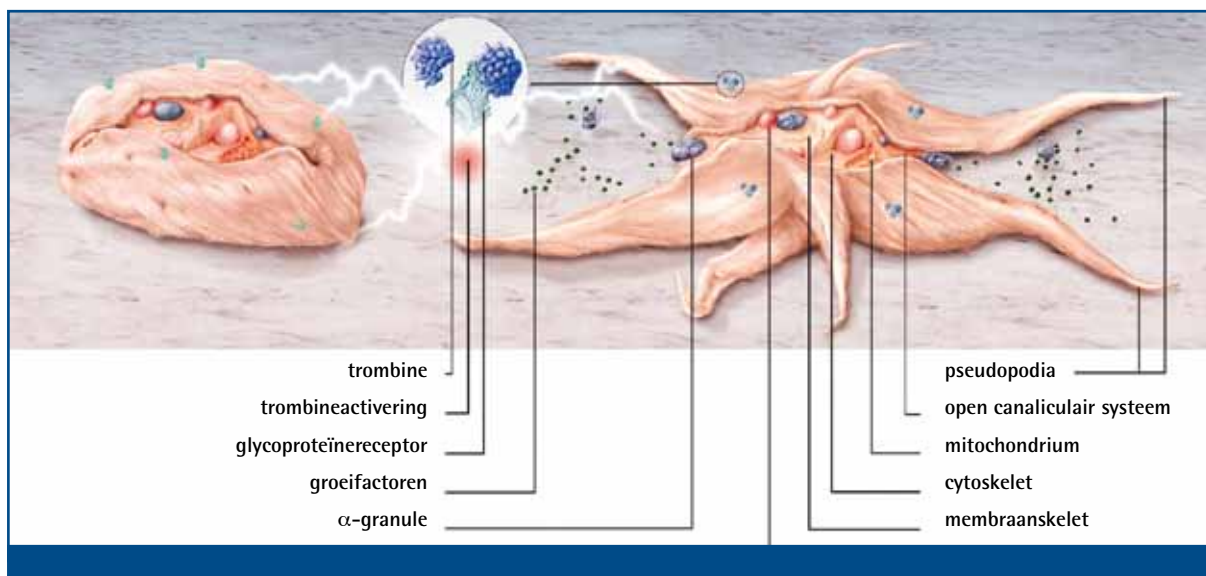
Tijdens het genezingsproces van zacht weefsel en bot spelen cellulaire en hormonale factoren een centrale rol, in het bijzonder de groefactoren die vrijkomen uit onder andere trombocyten.^{1,2} Momenteel kunnen trombocyten worden gewonnen en geïsoleerd uit een eenheid autoloog vers afgenomen bloed. Intraoperatief wordt dit autoloog bloed door middel van point-of-carecentrifuges in plaatjesarm plasma, plaatjesrijk plasma (PRP) en erythrocyten verdeeld. Er is een aantal firma's die zowel apparatuur als gesloten disposable systemen leveren. Allen gebaseerd op de scheiding van bloedcomponenten door centrifugatie. Het geogste PRP kan worden geactiveerd door middel van autoloog geprepareerde trombine om een viskeuze oplossing te maken die plaatjes-leukocytengel (PLG) genoemd wordt. De trombine wordt verkregen door het geogste plasma te activeren (vaak met een combinatie van calcium en silicaballetjes). Bij sommige kits wordt een boviene trombine geleverd om het PRP te activeren, maar deze toepassing raakt uit de mode, vanwege de nadelen van de herkomst van het boviene trombine.

Het trombocytienstelsel kan exogeen worden toegepast als een spray die met aerosoltechnieken wordt

aangebracht op weefselstructuren of als een stevige gelatineachtige massa op zachte weefsels, operatiewonden, chronische wonden, bot, of in synthetisch bot. Daarnaast kan de gel subcutaan ingespoten worden achter het dichtgenaaid wondgebied of in/op diabetische wondlaesies, zoals ulceraties. De reden om PLG op weefsels toe te passen is dat de suprafysiologische concentratie van trombocytengroefactoren het wondherstel versnellen.^{3,4}

Er zijn 3 overlappende fasen in het wondgenezingsproces: de inflammatie-, de proliferatie- en de remodeleringsfase. Trombocyten(groefactoren) spelen van nature een centrale rol in deze fasen. Nadat de trombocyten geactiveerd zijn, bijvoorbeeld met trombine, worden groefactoren en cytokines vrijgelaten uit de α - en densegranula, die vervolgens een actieve rol spelen tijdens de wondgenezing en het vormen van de extracellulaire matrix.

Hoewel artsen steeds vaker het gebruik van PLG toepassen, zijn er slechts weinig gegevens beschikbaar over de functionele inhoud van PLG en het exacte spatiotemporale werkingsmechanisme bij de wondgenezing. Klinische studies waarbij gebruik gemaakt wordt van PLG bij diverse chirurgische ingrepen laten desondanks veelbelovende resultaten zien.



Figuur 1. Schematische tekening van een rustende en geactiveerde trombocyt.
 Met toestemming overgenomen uit thesis van dhr. dr. P.A.M. Everts, ISBN 10: 90-8590-016-6.

Bereiding van PLG: trombocytengroeifactoren

Perifeer bloed wordt via een infusiekatheter afgenomen en opgevangen in een disposable bloedzak die citraat bevat, waardoor het bloed niet stolt. Intraoperatief wordt het afgenomen bloed door middel van point-of-carecentrifuges gefractioneerd in bloedbestanddelen; trombocyten-leukocytenrijk plasma (de 'buffy-coat'), trombocytenarm plasma en een erythrocytenconcentraat. De 'buffy-coat' bevat een klein volume plasma met een hoge concentratie aan trombocyten en leukocyten, vandaar de naam plaatjes-leukocytengel. Deze trombocyten zijn inactief en in suspensie. Doorgaans is de concentratie trombocyten in de geogste 'buffy-coat' 3 tot 9 keer hoger dan in normaal perifeer circulerend bloed.^{5,6} Het is voornamelijk onmogelijk om een leukocytenarm product te verkrijgen met een voldoende opbrengst van trombocyten. In de trombocyten zijn verschillende celstructuren aanwezig, waaronder de α - en densegranula (zie *Figuur 1*). De α -granula bevatten verschillende soorten trombocytengroeifactoren, zie *Tabel 1* op pagina 89, en stoffactoren. In de densegranula bevinden zich plaatjesactivatoren, onder andere adenosinetrifosfaat (ATP), adenosinedifosfaat (ADP) en serotonine.

Om deze trombocytengroeifactoren uit te scheiden dienen de trombocyten in de 'buffy coat' geactiveerd worden. Door activering met trombine wordt een fibrine-trombocytenstolsel als gelatineuze massa gevormd, de PLG. Hierbij zorgen de densegranula (na activering door trombine) voor

een maximale aggregatie en stolling en scheiden de α -granula van de trombocyten hun groeifactoren uit in het extracellulaire milieu. De PLG kan op of in (subcutaan) het weefsel van de wond of bot aangebracht worden met een steriele spuit, in de fase vlak voor gelatinisatie (fibrinevorming), waardoor het zich kan hechten aan weefselstructuren. Daarnaast kan de PLG gesprayed worden op het wondbed. In deze omgeving binden de groeifactoren aan specifieke receptoren, de tyrosine kinase plaatjesreceptoren (TKR), aanwezig op de membraan van diverse cellen in de weefsels. De TKR is een transmembraan eiwit. Na binding van de groeifactor op de TKR, vindt er activering plaats van secondmessengereiwitten in het cytoplasma door binding aan de cytoplasmatische staart (zie *Figuur 2* op pagina 90). De geactiveerde proteïnes zetten in de celkern genen aan die celdeling bevorderen. Daardoor wordt een biologische reactie veroorzaakt die het weefselherstel en de weefselregeneratie stimuleert en reguleert.

Antimicrobiële activiteit van PLG

Het gefractioneerde PRP is een 'buffy coat' product, en bevat behalve trombocyten ook een hoge concentratie (2-4 maal uitgangswaarde in volbloed) van niet-geactiveerde leukocyten.⁷ Er zijn voornamelijk neutrofiële granulocyten, lymfocyten en monoccyten aanwezig in de 'buffy coat'. De neutrofiële granulocyten staan bekend om hun verdedigingsmechanismen van de gastheer tegen bacteriën en schimmels door de werking van myeloperoxidase (MPO).



Tabel 1. Overzicht trombocytengroefactoren.

Groefactor	Bron	Functie
'transforming growth factor' (TGF)	plaatjes, extracellulaire botmatrix, kraakbeenmatrix, geactiveerde Th1-cellen en 'natural killer' cellen, macrofagen/monocyten en neutrofielen	stimuleert ongedifferentieerde mesenchymale celproliferatie; reguleert endotheliale, fibroblastische en osteoblastische mitogenese; reguleert collageensynthese en collagenasesecretie; reguleert mitogenetische effecten van andere groefactoren; stimuleert endotheliale chemotaxis en angiogenese; inhibeert macrofaag- en lymfocytoproliferatie
'basic' fibroblastgroefactor (bFGF)	plaatjes, macrofagen, mesenchymale cellen, chondrocyten, osteoblasten	bevordert groei en differentiatie van chondrocyten en osteoblasten; mitogenetisch voor mesenchymale cellen, chondrocyten en osteoblasten
'platelet-derived' groefactor (PDGFA-b)	plaatjes, osteoblasten, endotheelcellen, macrofagen, monocyten, gladdespiercellen	mitogenetisch voor mesenchymale cellen en osteoblasten; stimuleert chemotaxis en mitogenese in fibroblast/gliale/gladdespiercellen; reguleert collagenasesecretie en collageensynthese; stimuleert chemotaxis van macrofagen en neutrofielen
epidermale groefactor (EGF)	plaatjes, macrofagen, monocyten	stimuleert endotheliale chemotaxis/angiogenese; reguleert collagenasesecretie; stimuleert epitheliale/mesenchymale mitogenese
vasculaire endotheliale groefactor (VEGF)	plaatjes, endotheelcellen	vergroot angiogenese en vaatdoorlaatbaarheid; stimuleert mitogenese voor endotheelcellen
bindweefsel groefactor ('connective tissue growth factor'; CTGF)	plaatjes door endocytose van extracellulaire omgeving in beenmerg	bevordert angiogenese, kraakbeenregeneratie, fibrose en plaatjesadhesie

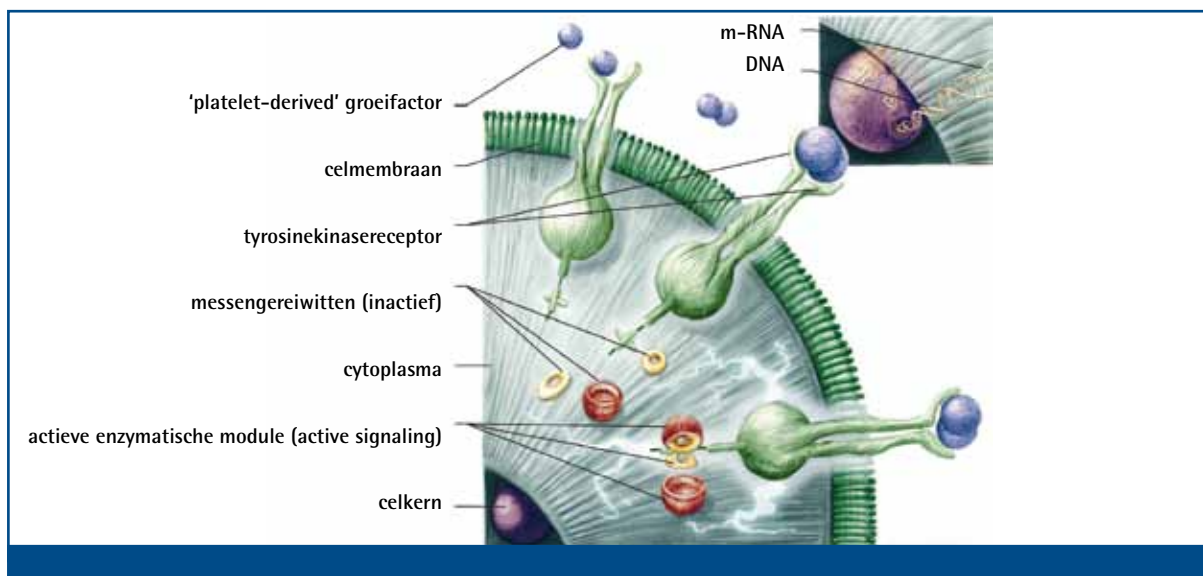
Daarmee spelen zij een belangrijke rol in de afweer van infecties. In weefsels katalyseert MPO de oxidatie van chloride in hypochloridezuur en andere reactieve zuurstofderivaten. Deze stoffen zijn sterke bactericide oxidanten en daardoor toxisch voor micro-organismen en schimmels. De monocyten, voorlopers van macrofagen, produceren cytokines en chemotactische factoren die deelnemen aan het inflammatoire proces. Helaas zijn er nauwelijks publicaties die verwijzen naar de rol van de leukocyten in het PLG voor wat betreft antimicrobiële effecten en de groefactor-release en chemotaxis naar het wondgebied.

Tevens is bewezen dat trombocyten verschillende antimicrobiële peptiden (AMP's) bevatten.⁸ Daardoor is het verleidelijk te speculeren over het bactericide vermogen van exogeen toegediende PLG op

weefsels. In een recente grote cohortstudie bij patiënten met cardio-chirurgische operaties werd aangetoond dat intraoperatief gebruik van PLG tijdens het sluiten van de operatiewond de incidentie van oppervlakkige en diepe sternuminfecties aanzienlijk verminderde.⁹ Om deze reden zou men kunnen veronderstellen dat PLG, een antimicrobieel vermogen heeft en in combinatie met de effecten van groefactoren de wondgenezing kan bevorderen.

Klinisch gebruik van PLG: wondgenezing

Gedurende het wondgenezingsproces treden (trombocytengroefactoren op als boodschappers om een goed gedirigeerd en complexe serie van gebeurtenissen te reguleren die bij cel-cel- en cel-matrixinteracties betrokken zijn. Het herstel van wonden en chirurgische incisies begint met trombocytenuivering



Figuur 2. Trombocytengroeifactoren en celmembraanreceptorbinding.

Met toestemming overgenomen uit thesis van dhr. dr. P.A.M. Everts, ISBN 10: 90-8590-016-6.

en -degranulatie en daarbij de afgifte van groeifactoren, waarna de activering van de stollingscascade en de formatie van een fibrine-trombocytenstolsel. Gedurende de eerste 2 dagen van het wondgenezingsproces wordt het ontstekingsproces in gang gezet door migratie van onder andere neutrofielen. Daarna worden macrofagen naar het wondgebied aangetrokken alwaar zij verscheidene groeifactoren afscheiden inclusief de groeifactoren 'transforming growth factor' (TGF)- α en - β , 'platelet-derived growth factor' (PDGF), interleukine (IL)-1 en fibroblast groeifactoren (FGF). Angiogenese en fibroplasie beginnen op dag 3 gevolgd door de start van collageensynthese op dag 3 tot dag 5. Dit proces leidt tot een vroege toename van treksterkte van de wond wat de meest belangrijke parameter van chirurgische wonden is. Dit wordt gevolgd door epithelisatie en uiteindelijk wondherstel.

Het is algemeen geaccepteerd dat trombocytengroeifactoren een sleutelrol spelen gedurende verscheidene fasen van het wondgenezingsproces. Hoe de groeifactoren uit de PLG het wondgenezingsproces precies in de tijd beïnvloeden, is echter onduidelijk. Vergeleken met enkele recombinant verkregen groeifactoren, zoals 'bone morphogenetic protein' (BMP)-2, heeft PLG het voordeel dat het verscheidene synergistisch werkende groeifactoren biedt, die mitogenese van mesenchymale stamcellen in het wondgebied bevorderen.^{10,11} Om deze redenen zijn er in diverse toepassingsgebieden PLG-applicaties uitgevoerd. Bij chronische wondverzorging is PLG succesvol toegepast bij (diabetische) patiënten die

lijden aan chronische, en vaak pijnlijke, ulcera.^{12,13} Margolis et al. trokken de conclusie dat PLG-behandeling bij diabetische wonden zelfs efficiënter was bij patiënten met diepe wonden dan bij oppervlakkig letsel.¹⁴

Pijnreductie na een PLG-toepassing werd geobserveerd in een studie door Crovetti et al., een effect wat nog steeds niet volledig begrepen wordt.¹⁵ Uit eerdere onderzoeken van onze groep bleek er een verbeterde wondgenezing op te treden als PLG werd toegepast gedurende het sluiten na het plaatsen van een totaleknieprothese, minder pijn met een significant betere 'range of motion' na schouderdecompressieoperaties.^{16,17} De effecten op beweeglijkheid van het schoudergewricht waren al zichtbaar 2 weken post-OK en bleef bestaan gedurende 12 weken follow-up.^{16,17} Tevens was de pijnscore (gemeten met een visueel analoge schaal) significant beter (lager) voor de PLG-behandelde groep dan voor de controlegroep.¹⁷

In de sportgeneeskunde komt trauma van het zachte weefsel (pees en ligamentrupturen), capsulair letsel van de gewrichten en tendinitis vaak voor. Recentelijk hebben Mishra en Pavelko PLG bij de behandeling van chronische elleboog tendinitis gebruikt.¹⁸ Behandelde patiënten hadden minder pijn en een betere functie vergeleken met orthodox gestandaardiseerde fysiotherapeutische protocollen en een variëteit van niet-operatieve behandelingen.¹⁸ Bij een achillespeesblessure in een rattenmodel werd PLG gebruikt en werd aangetoond dat met PLG behandelde pezen een gemiddelde toename van 30% had-



den in treksterkte en stijfheid na de eerste week vergeleken met de controledieren.¹⁹

Chirurgie van de voorste kruisband wordt routinematig uitgevoerd om het ligament met een autograaft te reconstrueren. Sanchez et al. rapporteerde in een retrospectief klinisch onderzoek, waarbij 100 patiënten met kruisbandplastieken met autologe trombocytengroefactoren werden behandeld, verbeterde genezing en minder complicaties, met een verbeterde fixatie van het transplantaat binnen de bottunnel.²⁰ De gemelde duidelijke betere genezing van deze zachte weefsels volgend op de behandeling met PLG verklaren de auteurs door hoge concentraties van VEGF in het aangedane weefselgebied dat uitgescheiden wordt door PLG, waardoor de angiogenese zou worden bevorderd. Tevens is de bloedtoevoer naar de aangedane pees, die noodzakelijk is voor het helingsproces, verbeterd.²¹

Botgenezing

Verstoorde botgenezing, de ontwikkeling van schijngewrichten na fractuurgenezing en botcontinuïteitdefecten veroorzaken beperkingen en pijn. Deze omstandigheden treden vaak op bij orthopedische, maxillo-faciale, neuro- en reconstructieve chirurgie. De traditionele chirurgische behandeling omvat autogeen graften van het bot.²² Het succes van de graftingmethode hangt onder andere af van graft-hostintegratie tijdens implantatie en botgenezing. Dit proces omvat een verscheidenheid aan factoren waaronder bloedtoevoer en de beschikbaarheid van een osteoconductive matrix. Verder spelen trombocytengroefactoren die uitgescheiden zijn op de plaats van de botweefselwond een belangrijke rol omdat zij signalen voor osteoinductie geven.²³ Ook stimuleren groefactoren die uitgescheiden worden uit trombocyt osteogenese gedurende verschillende stadia van het botgenezingsproces. PDGF heeft mitogene eigenschappen waarbij mesenchymale stamcellen zichzelf op de plaats van de wond differentiëren in osteoclasten. TGF- β , een belangrijke botstimulatiegroefactor, wordt aangeduid als een van de plaatselijke regulatoren van botformatie en resorptie.

Vanwege deze redenen kan men de hypothese stellen dat het mengen van PLG met gefragmenteerde (autologe) botsplinters of -chips een actieve biograaft oplevert, die verrijkt is met hoge concentraties aan trombocytengroefactoren. Verkorting van botregeneratietijd is waargenomen bij toevoeging van PDGF- $\alpha\beta$, TGF- β en VEGF-groefactoren in bot en botachtige scaffolds. Daarbij komt nog dat vanwege de viscositeit van PLG, de botsplinters

gedurende de chirurgische procedure gemengd en verkleefd blijven zodat voorkomen wordt dat er ongewilde migratie plaatsvindt van botstukjes in het wondgebied. Een andere mogelijke toepassing van PLG omvat de combinatie van PLG met verschillende botvervangers. Verscheidene auteurs hebben histomorfometrische analyses gebruikt om het effect van PLG aan te tonen bij gebruik van verschillende botsubstituten.^{24,25}

Bloedverlies

Tijdens grote operaties (totaleknievervanging, hartoperaties) treedt er in veel gevallen bloedverlies op, tijdens en na de operatie. Als een gevolg hiervan vindt er in veel gevallen allogene bloedtransfusie(s) plaats. Het toepassen van PLG bij deze operaties kan het bloedverlies significant reduceren omdat het aanbrengen van PLG op grote wondgebieden voor een acute wonddichting zorgt. Bij totaleknievervanging wordt de PLG aangebracht op afgezaagde botdelen die niet bedekt worden door de prothese, met name achter in de knie.¹⁶ In een groep van 165 patiënten (85 waarbij PLG gebruikt werd en 80 controles) werden 7 patiënten getransfundeerd met 15 erythrocyteneenheden in de PLG-groep en 22 patiënten werden getransfundeerd met 42 erythrocyteneenheden in de controlegroep ($p < 0,001$).¹⁶ De toepassing van PLG leidt tot minder bloedverlies en een hoger hemoglobinegehalte direct na operatie.¹⁶ Bij hartoperaties kan de PLG aangebracht worden op de botstructuren van het sternum.⁹

Conclusie

PLG's hebben het potentieel een biologisch ideaal product te zijn. De PLG wordt geprepareerd uit autoloog bloed, waarbij een suprafysiologische plaatjesconcentratie bereikt wordt. De PLG kan exogeen gebruikt worden op een verscheidenheid aan weefsels alwaar de hoge concentraties trombocytengroefactoren de wonddichting en het genezingsproces bevorderen. Daarbij zijn de voordelen ten opzichte van fibrineliem, dat alleen als dichtingsproduct wordt gebruikt, het aanbieden van een hoge concentratie aan groefactoren uit de geactiveerde plaatjes. Tevens lijkt het erop dat PLG antimicrobacteriële eigenschappen bezit die kunnen bijdragen aan het voorkomen van infecties. In een eerdere studie hebben we de afgifte van trombocytengroefactoren gemeten als PRP werd geactiveerd met trombine. Gepubliceerde data ondersteunen de release van trombocytengroefactoren uit de α -granula na activering door autoloog trombine. Op dat moment be-

Aanwijzingen voor de praktijk

1. Het gebruik van plaatjes-leukocyten kent veel voordelen voor wonddichting, wondgenezing en bloedbesparing, zoals gebleken uit een aantal kleine klinische (case)studies. Dit dient nog bevestigd te worden in gerandomiseerd gecontroleerde studies.
2. Het exacte werkingsmechanisme en de rol van leukocyten is onduidelijk
3. Standaardisatie van het product is noodzakelijk om resultaten te vergelijken.

ginnen de trombocyten met verandering in celstructuur en worden de groeifactoren uitgescheiden naar de extracellulair matrix, alwaar zij het vermogen hebben om zich te binden aan weefselreceptoren. PLG-applicaties zijn met succes gebruikt bij maxillo-faciale chirurgie, orthopedie, cosmetische chirurgie, hartchirurgie, chronische wondzorg en dentale implantologie. De methode om PLG te bereiden en op te brengen verschilt echter erg tussen centra, wat kan leiden tot inconsistente resultaten. Bovendien zijn vaak kleine groepen patiënten gebruikt en is de uitval door technische problemen soms groot. Om tegenstrijdige data te vermijden is verdere standaardisatie van de PLG-methodologie noodzakelijk. Daarbij kan natuurlijk gedacht worden aan de toepassing van allogene plaatjesconcentraten bij trombocytopenieën, zoals beschreven voor de casus elders in dit tijdschrift (artikel *Curvers et al.* op pagina 94). Daarnaast is de rol van de leukocyten in het product nog ernstig onderbelicht. Verder zijn gerandomiseerd gecontroleerde onderzoeken nodig om de effecten van PLG bij wondherstel, beperking van bloedverlies tijdens chirurgie, weefselbehandeling en botgroei alsook het bactericide effect te bestuderen bij verschillende toepassingen.

Referenties

1. Robson MC. Growth factors as wound healing agents. *Curr Opin Biotechnol* 1991;2:863-7.
2. Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* 1996;19:S23-7.
3. Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev* 2003;83:835-70.
4. Tabata Y. Tissue regeneration based on growth factor release. *Tissue Eng* 2003;9:S5-15.
5. Everts PA, Brown Mahoney C, Hoffmann JJ, Schönberger JP, Box HA, Van Zundert A, et al. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications on platelet activation and platelet growth factor release. *Growth Factors* 2006;24:164-71.
6. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich-plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:638-46.
7. Everts PA, Hoffmann JJ, Weibrich G, Brown Mahoney C, Schönberger JP, Van Zundert A, et al. Autologous platelet gel growth factor release and leukocyte kinetics using three devices. *Transfus Med* 2006;16:363-8.
8. Krijgsveld J, Zaat SA, Meeldijk J, Van Veelen PA, Fang G, Poolman B, et al. Thrombocidins, microbicidal proteins from human blood platelets, are c-terminal deletion products of CXC chemokines. *J Biol Chem* 2000;275:20374-81.
9. Trowbridge CC, Stammers AH, Woods E, Yen BR, Klayman M, Gilbert C. Use of platelet gel and its effects on infection in cardiac surgery. *J Extra Corpor Technol* 2005;37:381-6.
10. Brown RL, Breeden MP, Greenhalg DG. PDGF and TGF-alpha act synergistically to improve wound healing in the genetically diabetic mouse. *J Surg Res* 1994;56:562-70.
11. Kells AF, Coats SR, Schwartz HS, Hoover RL. TGF-beta and PDGF act synergistically in affecting the growth of human osteoblasts enriched cultures. *Connect Tissue Res* 1995;31:117-24.
12. Mazzucco L, Medici D, Serra M, Panizza R, Rivara G, Orecchia S, et al. The use of autologous platelet gel to treat difficult-to heal wounds: a pilot study. *Transfusion* 2004;44:1013-8.
13. Driver VR, Hanft J, Fylling CJ, Beriou JM. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers. *Ostomy/Wound Management* 2006;52:68-87.
14. Margolis DJ, Kantor J, Santanna J, Strom BL, Berlin JA. Effectiveness of platelet releasate for the treatment of diabetic neuropathic foot ulcers. *Diabetes Care* 2001;24:483-8.
15. Crovetti G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B, et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci* 2004;30:145-51.
16. Everts PA, Devilee RJ, Brown-Mahoney C, Eeftink-Schattenkerk M, Box HA, Knape JT, et al. Platelet gel and fibrin sealant reduce allogenic blood transfusions and in total knee arthroplasty. *Acta Anaesthesiol Scand* 2006;50:539-90.
17. Everts PA, Devilee RJ, Brown Mahoney C, Van Erp A, Oosterbos CJ, Stellenboom M, et al. Exogenous application of platelet-leukocyte gel during open subacromial



decompression contributes to improved patient outcome. A prospective randomized double-blinded study. *Eur Surg Res* 2008;40:203-10.

18. Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. *Am J Sports Med* 2006;34:1774-8.

19. Aspenberg P, Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand* 2004;75:93-9.

20. Sanchez M, Anitua E, Andia I. Use of autologous plasma rich in growth factors in arthroscopic surgery. *Cuader Artroscofia* 2003;10:12-9.

21. Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, De la Fuente M, Azofra J, et al. Reciprocal actions of platelet-secreted TGFbeta1 on the production of VEGF and HGF by human tendon cells. *Plast Reconstr Surg* 2007;119:950-9.

22. Sengupta DK, Truumees E, Patel CK, Kazmierczak C, Hughes B, Elders G, et al. Outcome of local bone versus autogenous iliac crest bone graft in the instrumented posterolateral fusion of the lumbar spine. *Spine* 2006;31:985-91.

23. Leach JK, Mooney DJ. Bone engineering by controlled delivery of osteoinductive molecules and cells. *Expert Opin Biol Ther* 2004;4:1015-27.

24. Aghaloo T, Moy P, Freymiller E. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with an organic bovine bone in the rabbit cranium: a pilot study. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2004;19:5965.

25. Gandhi A, Dumas C, O'Connor JP, Parsons J, Lin S.

The effects of local platelet rich plasma delivery on diabetic fracture healing. Bone 2006;38:540-6.

Ontvangen 11 december 2009, geaccepteerd 18 februari 2010.

Correspondentieadres

Dhr. dr. P.A.M. Everts, klinisch perfusionist
Mw. J.G. Everts-Koning, operatie-assistent met chirurgische vaardigheden
Mw. dr. J. Curvers, klinisch chemicus i.o.
Dhr. dr. V. Scharnhorst, klinisch chemicus

Catharina-ziekenhuis Eindhoven
Afdelingen Peri-Operatief Bloed management en
Algemeen Klinisch Laboratorium
Michelangelolaan 2
5623 EJ Eindhoven
Tel.: 040 239 86 39
E-mailadres: joyce.curvers@cze.nl

Correspondentie graag richten aan mw. dr. J. Curvers.

Belangenconflict: geen gemeld.
Financiële ondersteuning: geen gemeld.