بسمه تعالی شانه

# پلاسمای غنی از پلاکت، پی آر پی، مجموعه‌ای از فاکتورهای فعال زیستی

فرآورده‌های پلاکت تلغیظ یافته مانند پلاسمای غنی از پلاکت ( PRP)، در پزشکی ورزشی و ارتوپدی به منظور پیشبرد روند فیزیولوژیک ترمیم و بازگشت به عملکرد طبیعی، محبوبیت یافته‌اند. هر فرآورده PRP بسته به عوامل مربوط به بیمار و سیستم مورد استفاده جهت تولید آن، ویژگی‌های متفاوتی دارد. از خون برخی بیماران نمی‌توان PRP تهیه کرد و اکثر پزشکان که ازPRP استفاده می‌کنند، جهت تایید صحت فرآورده تولید شده و انجام آزمایش شمارش سلول‌های خونی، PRP را انجام نمی‌دهند.

اجزای موجود در فرآورده PRP عملکردهای زیستی دارندکه بر ترمیم بافت عضلانی اسکلتی اثر می‌گذارند. پلاکت‌ها به وسیله کلاژن و سایر ملکول‌ها فعال می‌شوند و فاکتورهای رشد را از گرانول‌های آلفای فعال رها می‌سازند. سایر مواد نیز از اجسام متراکم و لیزوزوم‌های پلاکت‌ها رها می‌شوند. پروتئین‌های محلول نیز در PRP وجود دارند و عملکرد آن ها در ایجاد هموستاز نقش دارند، در حالی که برخی از آن ها به عنوان شاخص‌های آسیب عضلانی – اسکلتی شناخته می‌شوند. الکترولیت‌ها و هورمون‌های محلول در پلاسما برای پیام رسانی سلولی و تنظیم عملکرد ضروری هستند. لکوسیت‌ها و اریتروسیت‌ها نیز در PRP وجود دارند. در التهاب بافت، ایمنی و مسیرهای پیام رسانی سلولی نقش ایفا می‌کنند.

این مقاله از این ایده که عوامل بیشتری از پلاکت‌ها در پاسخ بالینی به PRP نقش دارند حمایت می‌کند. بسته به اجزای موجود در فرآورده PRP می‌توان بصورت تئوریک، کاربرد بالینی این فرآورده را جهت بهبود کارآیی بالینی در ترمیم برخی ضایعات بافتی هماهنگ نمود.

www.standardkit.com

فرآورده‌های تلغیظ شده پلاکتی که با نام ژنریک پلاسمای غنی از پلاکت ( PRP) در حوزه‌های مانند ترمیم زخم[1] *جراحان دهان و دندان*[2] پزشکی ورزشی[3] و دامپزشکی[4] محبوبیت یافته‌اند. اهداف استفاده از PRP در پزشکی ورزشی شامل پیشبرد ترمیم بافت در ضایعات استخوان [5] [6] و بافت نرم [7]، جلوگیری یا درمان عفونت [8] [9] و بازتوانی عملکرد و عضو آسیب دیده [10] می باشند. شواهد بالینی نشان می‌دهند تسکین درد و بازگشت به عملکرد با استفاده از PRP در برخی آسیب‌های ارتوپدی سریع تر و راحت‌تر انجام می‌شود. برای این منظور، تحقیقاتی در آزمایشگاه و سایر مراکز درباره ویژگی های ضد درد PRP انجام شده است.[11] علاوه بر آزمایش ایمنی و کارآیی PRP در بدن موجود زنده، تحقیقات محیط آزمایشگاهی نیز درباره محتویات PRP و فاکتورهای رشد موجود در آن انجام گردیده است.

تهیه PRP به وسیله یکی از چند سیستم انجام می‌شود که عمدتا می‌تواند پلاکت‌ها را تلغیظ کنند. برخی بافت‌های عضلانی – اسکلتی مانند تاندون، لیگامان و غضروف به آهستگی ترمیم می‌شوند زیرا جریان خون محدودی دارند، باز گردش سلولی آن ها کند است و تولید ماتریکس خارج سلولی در آن ها بصورت اندک انجام می‌شود.[12]

PRP فاکتورهای رشدی را فراهم می‌کند که تشکیل عروق جدید را تحریک می‌کنند و جریان خون و مواد قندی مورد نیاز را برای ترمیم سلول‌ها در بافت‌های آسیب دیده تامین می نمایند( شکل۱ ). تشکیل عروق جدید، همچنین سلول‌های جدید را به محل آورده، بقایای بافتی را از بافت آسیب دیده خارج می‌کند. تصور می‌شود فاکتورهای رشد رها شده از PRP، الحاق

1 Frykberg RG, Driver VR, Carman D, et al. Chronic wounds treated with a physiologically relevant concentration of platelet- rich plasma gel: A prospective case series. Ostomy Wound Manage 2010;56:36-44.

2 Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S, Weinstein R. Is platelet concentrate advantageous for the surgical treatment of periodontal diseases? A systematic review and meta-analysis. J Periodontol 2011;82:1100-1111.

3 Rodeo SA, Delos D, Weber A, et al. What's new in orthopaedic research. J Bone Joint Surg Am 2010;92:2491-2501.

4 Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, et al. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. J Orthop Res 2007;25: 230-240.

5 Bibbo C, Hatfield PS. Platelet-rich plasma concentrate to augment bone fusion. Foot Ankle Clin 2010;15:641-649.

6 Jungbluth P, Wild M, Grassmann JP, et al. Platelet-rich plasma on calcium phosphate granules promotes metaphyseal bone healing in mini-pigs. J Orthop Res 2010;28:1448-1455.

7 Paoloni J, De Vos RJ, Hamilton B, Murrell GA, Orchard J. Platelet-rich plasma treatment for ligament and tendon injuries. Clin J Sport Med 2011;21:37-45.

8 Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: Basic biology and clinical correlates. Blood Rev 2009;23:177-189.

9 Moojen DJ, Everts PA, Schure RM, et al. Antimicrobial activity of platelet-leukocyte gel against Staphylococcus aureus. J Orthop Res 2008;26:404-410.

10 Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Corso MD, Inchingolo F, Sammartino G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: Platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. J Biomed Mater Res A 2010;95:1280-1282.

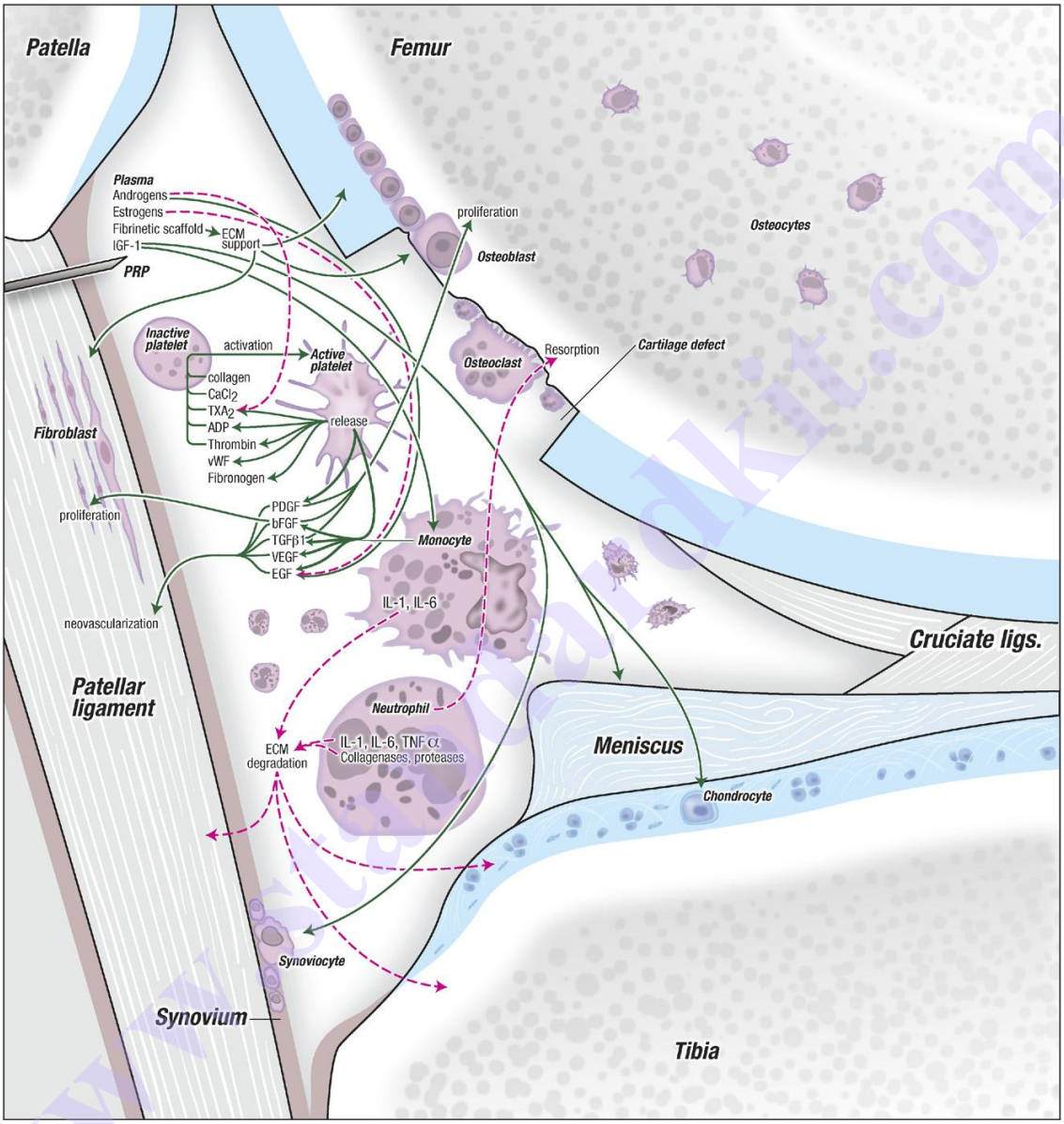
11 Peerbooms JC, van Laar W, Faber F, Schuller HM, van der Hoeven H, Gosens T. Use of platelet rich plasma to treat plantar fasciitis: Design of a multi centre randomized controlled trial. BMC Musculoskelet Disord 2010;11:69.

12 Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I.Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. Am J Sports Med 2007;35:245-251.



www.standardkit.com

بافت پیوندی و ترمیم آن را تسریع می‌کنند، بنابراین عملکرد بیمار سریع‌تر به حد طبیعی باز می گردد [۱۴] [۱۳] اخیرا بر سایر اجزای موجود در PRP ( لکوسیت‌ها و فیبروژن ) تمرکز بیشتری انجام شده است[۱۵] [۱۶]




**شکل ۱** طرحی از تزریق PRP به مفصل میان کشکک و استخوان ران.

13 Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: Optimizing the healing environment. Arthroscopy 2010;26:269-278.

14 Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. Am J Sports Med 2007;35:245-251.

15 McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. J Orthop Res 2009;27:1033-1042.

16 Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Corso MD, Inchingolo F, Sammartino G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: Platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. J Biomed Mater Res A 2010;95:1280-1282.

سلول‌های موجود در PRP عبارتنداند از: پلاکت‌ها که فاکتورهای رشد فعال را رها می‌سازند و لکوسیت‌ها ( مانند نوتروفیل و منوسیت‌ها)که عمدتا در فاگوسیتوز، ایمنی و التهاب بافتی نقش دارند. هورمون‌های محلول مانند (IGF-1 ) نیز نشان داده شده‌اند. سلول‌هایی که ممکن است در مفصل، در معرض اثر فاکتورهای موجود در PRP قرار بگیرند. عبارتنداند از : فیبروبلاست‌های سینوویال، لیگامان ها، کندروسیت‌ها و استئوسیت‌ها.

پیکان‌های ممتد نشان دهنده مسیرهای متابولیک مثبت است ( مانند تنظیم افزایش سنتز ماتریکس یا تکثیر سلولی ) پیکان های خط چین نشان دهنده مسیرهای متابولیک منفی می‌باشد ( مانند افزایش تجزیه ماتریکس یا مهار سنتز ماتریکس ) ADP آدنوزین دی فسفات، cacl2 کلرید کلسیم، ECM ماتریکس خارج سلولی، EGF فاکتور رشد اپیدرمی، IL-1 اینترلوکین-۱، IL-6 اینترلوکین -۶، Ligs، لیگامان ها، TNF-α فاکتور نکروز تومور آلفا، VEGF فاکتور رشد اندوتلیال عروق، vwf فاکتور خون ویلبراند.

طبقه بندی انواع PRP و تعیین ویژگی‌های آن‌ها بر اساس محتوای پلاکت و لکوسیت‌های آن‌ها انجام شده است [۱۷] این امر، یکنواختی حوزه PRP را افزایش داده، مقایسه نتایج مطالعات روی PRP را بهبود بخشیده است. با این حال، بهتر است PRP را مجموعه‌ای از فاکتورهای زیستی در نظر گرفت و مخلوط این فاکتورها می‌تواند بهترین کاربردهای آن جهت بهینه سازی نتایج بالینی را مشخص سازد.

هدف از این مقاله، ارائه فاکتورهای سلولی و ملکولی زیستی موجود در PRP و خلاصه‌ای از اثرات این فاکتورها بر روند ترمیم بافت عضلانی– اسکلتی می‌باشد. کاربردهای بالینی PRP در سایر مقالات گفته شده و در این مقاله مورد توجه قرار نمی‌گیرد. [۱۸] [۱۹]

17 Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Corso MD, Inchingolo F, Sammartino G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: Platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. J Biomed Mater Res A 2010;95:1280-1282.

18 Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: Optimizing the healing environment. Arthroscopy 2010;26:269-278

19 Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: A review. Curr Rev Musculoskelet Med 2008;1:165-174.



www.standardkit.com

## تولید PRP

PRP، سوسپانسیونی از پلاسماست که حاوی مقادیر متغیری از اجزاء خون کامل می‌باشد. با توجه به تعریف سازمان صلیب سرخ، PRP حداقل باید حاوی ۲۰۰/۰۰۰ پلاکت در هر میکرولیتر باشد. در روند تهیه PRP از تفاوت گرادیان اجزای مختلف خون استفاده می‌شود تا پلاکت‌ها تلغیظ شوند. سانتریفوژ خون وریدی حاوی یک ماده ضد انعقاد، موجب می‌شود پلاسمای رونشین و یک فرآورده سلولی تلغیظ یافته جدا گردند. اریتروسیت‌ها نسبت به سایر اجزاء متراکم‌تر بوده، بصورت لایه‌های از سلول‌های متراکم در کف ظرف سانتریفوژ جدا می‌شوند. گلبول‌های سفید خون بصورت لایه Bufty Coat بر روی لایه‌های گلبول‌های قرمز دیده می‌شوند حداکثر غلظت پلاکت‌ها در پلاسما در لایه بالای Bufty Coat دیده می‌شود. هر چه در لایه پلاسمای رویی بالاتر برویم، غلظت پلاکت‌ها کم‌تر می‌شود. بسیاری از سیستم‌ها از یک پروتکل از دو مرحله سانتریفیوژ استفاده می‌کنند تا تعداد اریتروسیت‌ها را در فرآورده کاهش دهند و پلاکت‌ها را تلغیظ کنند.

سیستم‌های مختلف از نظر کارآیی جداسازی پلاکت‌ها و یکنواختی فرآورده حاصل، تعداد لکوسیت در فرآورده، فعال سازی پلاکت‌ها در طی روند و سهولت استفاده با هم متفاوتند.[۲۰] تفاوت‌های موجود بین فرآورده‌های PRP می‌تواند به علت نوع سیستم مورد استفاده یا فاکتورهای متعددی باشد که بر فرآورده نهایی اثر دارند. پارامترهای خون وریدی محیطی نیز بر ویژگی های نهایی PRP اثر می‌گذارند. به عنوان مثال، تعداد پلاکت‌ها در فرآورده نهایی به تعداد پلاکت در خون کامل بصورت خطی وابسته است.[۲۱] هماتوکریت نیز، بویژه در تکنیک‌های جداسازی با حجم ثابت بر فرآورده اثر می‌گذارد. این سیستم‌ها به حجم مشخصی از خون کامل نیاز دارند که قبل از برداشتن حجم ثابتی از سلول‌های خون و یا پلاسما باید سانتریفیوژ شود. بنابراین تعداد اریتروسیت در PRP متغیر خواهد بود. ذخیر سازی خون کامل قبلا از انجام فرایند نیز بر فرآورده PRP نهایی و ویژگی های پلاکت‌ها اثر خواهد گذاشت ( جدول ۱) [۲۲] [۲۳]

20 McLellan J. Does it matter which platelet-rich plasma we use? Equine Vet Educ 2011;23:101-104.

21 Andrade MG, de Freitas Brandao CJ, Sa CN, de Bittencourt TC, Sadigursky M. Evaluation of factors that can modify platelet-rich plasma properties. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2008;105:e5-e12.

22 Skripchenko A, Kurtz J, Moroff G, Wagner SJ. Platelet products prepared by different methods of sedimentation undergo platelet activation differently during storage. Transfusion 2008;48:1469-1477.

23 Thibault L, Beauséjour A, de Grandmont MJ, Lemieux R, Leblanc JF. Characterization of blood components prepared from whole-blood donations after a 24-hour hold with the platelet-rich plasma method. Transfusion 2006;46:1292-1299.



www.standardkit.com

**جدول۱ ، نکات کلیدی در تهیه PRP**

- PRP حاوی مقادیر متغیری از اجزای خون می‌باشد
- غلظت نهایی پلاکت در فرآورده PRP طبق تعریف صلیب سرخ، باید بیشتر از ۲۰۰/۰۰۰ عدد در هر میکرولیتر باشد.
- فرآورده نهایی PRP با توجه به سیستم مورد استفاده، ممکن است متفاوت باشد.
- وضعیت خون وریدی بیمار بر فرآورده نهایی PRP اثر می‌گذارد ( حجم گلبول‌های قرمز، وضعیت هیدارسیون، داروها، ریتم شبانه‌روزی )
- آگاهی دقیق پزشک از محتویات PRP به تصمیم‌گیری در مورد کاربرد درمانی آن کمک می‌کند.

تعداد پلاکت ها و لکوسیت‌ها در فرآورده‌های PRP حاصل از یک فرد نیز متغیر است که این تنوع به سیستم مورد استفاده ارتباط ندارد. تعداد مطلق و نسبی هر یک از انواع لکوسیت‌ها نسبت به خون محیطی در فرآورده PRP متفاوت است و بر اساس نوع سیستم مورد استفاده نیز تغییر خواهد کرد. دلایل این تغییرات عبارتنداند از: وضعیت هیدراسیون بیمار، وجود التهاب ( لکوپنی یا لکوسیتوز )، لیپمی ( که باعث افزایش غلظت پلاکت‌ها می‌شود و به رژیم غذایی بستگی دارد ) [۲۴] یا ریتم شبانه‌روزی در مقدار پلاکت‌های خون . [۲۵] [۲۶] [۲۷] جنس بیمار بر مقدار هماتوکریت اثر دارد اما اگر از سیستم density-gradiant استفاده شود، کمتر بر فرآورده PRP اثر خواهد داشت. مطالعه‌ای با استفاده از استئوبلاست‌های کشت داده شده از بافت اطراف دندانی نشان داد جنس اهداکننده خون جهت تهیه PRP بطور قابل توجهی مقدار پلاکت فرآورده یا میزان غلظت فاکتورهای رشد را تحت تاثیر قرار نمی‌دهد. [۲۸]

ما مشاهده کردیم نمی‌توان با استفاده از یک سیستم، خون برخی بیماران پلاکت‌ها را تلغیظ کرد اما این فرآیند با استفاده از دستگاه نوع دیگر امکانپذیر است ( جدول۲ )

24 Wiens L, Lutze G, Luley C, Westphal S. Platelet count and platelet activation: Impact of a fat meal and day time. Platelets 2007;18:171-173.

25 Ahmadizad S, El-Sayed MS, MacLaren DP. Effects of time of day and acute resistance exercise on platelet activation and function. Clin Hemorheol Microcirc 2010;45:391-399.

26 Montagnana M, Salvagno GL, Lippi G. Circadian variation within hemostasis: An underrecognized link between biology and disease? Semin Thromb Hemost 2009;35:23-33.

27 Hartley PS. The diurnal tick-tockery of platelet biology. Platelets. 2011 August 2. [Epub ahead of print.]

28 Markopoulou CE, Markopoulos P, Dereka XE, Pepelassi E, Vrotsos IA. Effect of homologous PRP on proliferation of human periodontally affected osteoblasts. In vitro preliminary study. Report of a case. J Musculoskelet Neuronal Interact 2009;9:167-172.

www.standardkit.com

**جدول ۲. شمارش سلول‌های خونی و تعداد پلاکت‌ها در PRP حاصل از افراد داوطلب سالم که تهیه PRP در آن ها با شکست مواجه شد.**

| | اجزای خون | Blood (cells _ $10^3$/_L) | Mfr 1 (cells _ $10^3$/_L) | Mfr 2 (cells _ $10^3$/_L) | Mfr 3 (cells _ $10^3$/_L) |
|---|---|---|---|---|---|
| نمونه ۱ | WBC<br>PLT | ۵<br>۲۳۲ | صفر*<br>*۳۹ | ۱۴/۶<br>۵۹۱ | ‡۱۱/۷<br>‡۸۷۳ |
| نمونه ۲ | WBC<br>PLT | ۴/۳<br>۲۱۸ | ۰/۳<br>۴۴۲ | *۲۰/۷<br>*۱۳۰ | دردسترس نبود<br>دردسترس نبود |
| نمونه۳ | WBC<br>PLT | ۵/۶<br>۲۱۵ | *۰/۲<br>*۱۳۴ | ۴۷/۳<br>۱۵۲۰ | دردسترس نبود<br>دردسترس نبود |
| نمونه۴ | WBC<br>PLT | ۷/۵<br>۲۰۶ | ۰/۲<br>۳۲۸ | *۲۸<br>*۱۱۴ | دردسترس نبود<br>دردسترس نبود |
| نمونه۵ | WBC<br>PLT | ۴/۷<br>۱۰۶ | *۰/۴<br>*۴۲ | دردسترس نبود<br>دردسترس نبود | ‡ ‡۱۴/۶<br>‡ ‡۶۴۳ |
| نمونه ۶ | WBC<br>PLT | ۴/۸<br>۲۵۰ | *۰/۵<br>*۱۱۴ | دردسترس نبود<br>دردسترس نبود | ۱۷/۸<br>۶۳۸ |

Mfr: سازنده

MBC تعداد لکوسیت در خون کامل

Plt: شمارش پلاکتی

* در این ۶ نمونه، تعداد پلاکت‌ها حداقل در یک فرآورده PRP نسبت به خون محیطی کاهش یافت، علی رغم آن که با استفاده از یک دستگاه دیگر، تعداد پلاکت افزایش یافت. این موضوع نشان می‌دهد پزشک باید تعداد پلاکت در فرآورده PRP را تعیین نماید تا از غلظت پلاکت در فرآورده اطمینان حاصل کند.

‡ تهیه PRP در روز دیگر از همان فرد

** نمونه دچار لیپمی بود.

این نتایج نشان می‌دهد ممکن است شکست در تهیه PRP در مورد خون هر فرد یا هر سیستمی روی دهد. این مشاهدات حاکی از آن است که شمارش سلول‌های خونی باید در مورد خون وریدی هر بیمار انجام شود و پزشک مطمئن گردد که واقعا PRP برای بیمار استفاده شده است. شمارش سلول‌های خون همچنین تعیین اثرات اجزای PRP بر نتایج درمان را نیز تسهیل می‌کند.

www.standardkit.com

## پلاکت‌ها

اندازه پلاکت‌ها بین ۲ تا ۳ میکرولیتر است و ۷ تا ۱۰ روز در غلظتی معادل $۴۰۰ \times ۱۰^{۴}/\mu l$ تا ۱۵۰ در خون گردش می‌کنند. پلاکت‌ها قطعات سیتوپلاسمی بدون هسته هستند که از مگاکاریوسیت‌های مغز استخوان رها می‌شوند. اکثرا تصور می‌شود پلاکت‌ها عمدتا عملکردی در هموستاز و انعقاد خون دارند. با این حال مطالعات پروتئومیک نشان می‌دهند پلاکت‌های حاوی بیش از ۸۰۰ پروتئین با انواع تغییرات پس ترجمه ای مانند فسفریلاسیون هستند، بطوری که بیش از ۱۵۰۰ فاکتور زیستی پروتئینی را در خود جای می‌دهند [۲۹] [۳۰] تنها برخی از اثرات فیزیولوژیک این پروتئین‌ها مانند فاکتورهای رشد، هورمون‌های پپتیدی و مواد جاذب شمیایی برای ماکروفاژها، نوتروفیل‌ها و سلول‌های بنیادی مورد مطالعه قرار گرفته است.

پلاکت‌های غیر فعال در گردش خون ظاهری دیسکوئید دارند ( با سیستم کانالهای باز ). ملکول‌ها درون زاد و برون زاد مانند کلاژن، فاکتور فعال ساز پلاکتی، سروتونین، کلسیم، منیزیوم، ترومبوکسان $A_2$ ( $TxA_2$ ) آدنوزین دی فسفات ( ADP ) و ترومبین می‌توانند پلاکت‌ها را فعال سازند. در یک سیستم فیدبک مثبت، پلاکت‌های فعال شده، $TxA_2$، ADP و ترومبین را رها می‌سازند که پلاکت‌های مجاور را فعال می‌کنند. پلاکت‌های فعال شده با کمک رشته‌های اکتین و میوزین دچار تغییر اسکلت سلولی می‌شوند تا چندین فیلوپودیا در محل کانالیکول‌ها ایجاد کنند. اگزوسیتوز و گرانولاسیون موجب افزایش سطح پلاکت می‌شوند. مطالعات محیط آزمایشگاهی نشان می‌دهند پس از فعال سازی پلاکت‌ها و افزایش انفجاری رها سازی فاکتورهای رشد از پلاکت‌ها، رهاسازی مداوم این فاکتورها رخ می‌دهد. [۳۱] فعال سازی پلاکت‌ها موجب افزایش سیتوکین‌های ضد التهابی می‌شود ( بعلت وجود فاکتورهای رشد هپاتوسیت‌ها ). [۳۲]

علاوه بر فعال سازی پلاکت‌ها توسط کموکین‌های درون زا، فعال سازی توسط فعالیت آدرنژیک [۳۳]، استرس اکسید اتیو [۳۴] یا مواد شمیایی مثلا دود سیگار [۳۵] می‌تواند تسریع شود.

---

29 Qureshi AH, Chaoji V, Maiguel D, et al. Proteomic and phospho-proteomic profile of human platelets in basal, resting state: Insights into integrin signaling. PLoS One 2009;4:e7627.

30 Senzel L, Gnatenko DV, Bahou WF. The platelet proteome. Curr Opin Hematol 2009;16:329-333.

31 Getgood A, Henson F, Brooks R, Fortier LA, Rushton N. Platelet-rich plasma activation in combination with biphasic osteochondral scaffolds-conditions for maximal growth factor production. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2011;19: 1942-1947.

32 Bendinelli P, Matteucci E, Dogliotti G, et al. Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: Mechanisms of NF-_B inhibition via HGF. J Cell Physiol 2010;225:757-766.

33 Ziegelstein RC, Parakh K, Sakhuja A, Bhat U. Platelet function in patients with major depression. Intern Med J 2009;39:38-43.

34 Li S, Li X, Li J, Deng X, Li Y. Inhibition of oxidative-stressinduced platelet aggregation by androgen at physiological levels via its receptor is associated with the reduction of thromboxane A2 release from platelets. Steroids 2007;72:875-880.

35 Ziegelstein RC, Parakh K, Sakhuja A, Bhat U. Platelet function in patients with major depression. Intern Med J 2009;39:38-43.



www.standardkit.com

اندازه پلاکت‌ها متنوع است. پلاکت‌های بزرگ‌تر سالم نسبت به پلاکت‌های کوچک‌تر، فعال‌تر بوده، مقدار بیشتر کموکین آزاد می‌کنند. [۳۶] مطلب مهم‌تر اینکه آزمایش ها در محیط آزمایشگاهی نشان داده است پلاکت‌های موجود در PRP بوسیله مواد جایگزینی استخوان [۳۷] و داربست استئوکندرال دو مرحله‌ای [۳۸]فعال شده‌اند. در اثر افزایش استرس فشاری یا موادی مانند پروپوفول [۳۹] یا کافئین [۴۰] تجمع پلاکت‌ها کاهش می‌یابد.

اندازه‌گیری غلظت فاکتورهای رشد نشان می‌دهد فرآورده PRP بطور معمول حاوی ۳-۵ برابر غلظت معمول این فاکتورها می‌باشد. [۴۱] این افزایش غلظت به تغلیظ پلاکت‌ها و فعال شدن آن ها ارتباط داده می‌شود. چندین مطالعه در مورد اثرات غلظت پلاکت‌ها بر هموستاز بافت عضلانی – اسکلتی انجام شده است. [۴۲] [۴۳] [۴۴] [۴۵]

Schnabel و همکارانش [۴۶] نشان دادند فرآورده PRP باعث افزایش بیان ژن‌های آنابولیک در تاندون و لیگامان می‌شود. در تاندونیت بالینی در اسب، PRP با غلظت پلاکت ۷۵۰/۰۰۰µl بطور قابل توجهی مدت زمان بهبودی و بازگشت به مسابقات را کوتاه‌تر کرد. [۴۷] با این حال فواید فاکتورهای رشد به نظر می‌رسد به یک سطح حداکثر محدود می‌شود. در یک مطالعه، افزایش تکثیرکندروسیت‌ها با افزودن PDGF-BB به محیط کشت مشاهده شد. غلظت فاکتور مورد استفاده بین ng/ml ۴/۷ تا ۳۰۰ متغیر بود اما حداکثر سرعت تکثیر در غلظت ۷۵ ng/ml مشاهده شد. [۴۸] در قسمت دیگر این مطالعه، PDGF-AB برای تحریک مهاجرت سلولی مینیسک گاو استفاده شد و حداکثر اثر در ۱۰ ng/ml دیده شد و غلظت‌های بالاتر این

36 Mangalpally KK, Siqueiros-Garcia A, Vaduganathan M, Dong JF, Kleiman NS, Guthikonda S. Platelet activation patterns in platelet size sub-populations: Differential responses to aspirin in vitro. J Thromb Thrombolysis 2010;30:251-262

37 Klein MO, Kämmerer PW, Scholz T, Moergel M, Kirchmaier CM, Al-Nawas B. Modulation of platelet activation and initial cytokine release by alloplastic bone substitute materials. Clin Oral Implants Res 2010;21:336-345.

38 Getgood A, Henson F, Brooks R, Fortier LA, Rushton N. Platelet-rich plasma activation in combination with biphasic osteochondral scaffolds-conditions for maximal growth factor production. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2011;19: 1942-1947.

39 Vasileiou I, Xanthos T, Koudouna E, et al. Propofol: A review of its non-anaesthetic effects. Eur J Pharmacol 2009;605:1-8.

40 Bhaskar S, Rauf AA. Modulatory effect of coffee on platelet function. Indian J Physiol Pharmacol 2010;54:141-148.

41 Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. Am J Sports Med 2009;37:2259-2272.

42 Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, et al. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. J Orthop Res 2007;25:230-240.

43 Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: Optimizing the healing environment. Arthroscopy 2010;26:269-278.

44 McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. J Orthop Res 2009;27:1033-1042.

45 Torricelli P, Fini M, Filardo G, et al. Regenerative medicine for the treatment of musculoskeletal overuse injuries in competition horses. Int Orthop 2011;35:1569-1576.

46 Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, et al. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. J Orthop Res 2007;25: 230-240.

47 Vasileiou I, Xanthos T, Koudouna E, et al. Propofol: A review of its non-anaesthetic effects. Eur J Pharmacol 2009;605:1-8.

48 Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. Osteoarthritis Cartilage 2006;14:403-412.



www.standardkit.com

فاکتور، کموتاکسی را مهار نمود. [۴۹] در محیط زنده می‌توان حداکثر فواید را با تزریق حجم زیادی از فرآورده به یک ضایعه کوچک بدست آورد.

برخی محققین علاوه بر رهاسازی فاکتورهای رشد، معتقدند PRP، تولید موضعی آن فاکتورها را نیز تنظیم می‌کند. Lyras و همکارانش با استفاده از PRP در خرگوش مدل، ترمیم تاندون آشیل نشان دادند. افزایش داخل سلولی TGF-β1 در دو هفته اول ترمیم و کاهش آن در هفته‌های سوم و چهارم ترمیم نسبت به گروه کنترل دیده می‌شود. [۵۰] بعلاوه، افزایش بیان داخل سلولی IGF -1 در تنوسیت‌ها در تمام ۴ هفته مدت ترمیم وجود داشت. [۵۱]

گرانول‌های آلفای پلاکت، میکرو وزیکول‌هایی با قطر ۳۰۰ تا ۵۰۰ نانو متر با عدد پروتئوم حدود ۲۸۴ هستند. [۵۲] این پروتئین‌ها عبارتند از: ملکول‌های زیستی، مانند پروتئین‌های چسبندگی ( فیبرینوژن، فاکتور فون ویلبراند)، گیرنده ها، فاکتورهای انعقادی ( v، XI، XII و پروترومبین )، فاکتورهای فیبرینولیتیک ( آنتی ترومبین، پلاسمین و پلاسمینوژن )، سایر پروتیئن‌های بازی، گلیکو پروتئین‌های غشایی و فاکتورهای رشد ( جدول ۳ ).

**جدول ۳ خلاصه‌ای از اجزای سلولی و ملکولی PRP که به بافت عضلانی – اسکلتی ارتباط دارند.**

| | |
|---|---|
| **پلاسما** | |
| پروتئین‌ها | آلبومین، گلولین‌ها، فیبرینوژن، کمپلمان، فاکتورهای انعقادی |
| الکترولیت‌ها | کلراید، سدیم، پتاسیم، کلسیم |
| شاخص‌های زیستی | COMP، Cd1lb ، پروتئین C، میکروRNA، استئوکلسین، استئونکتین |
| هورمون‌ها | IGF-1، استروژن‌ها، پروژسترون، آندروژن ها، ACTH، HGH |

49 Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. Osteoarthritis Cartilage 2006;14:403-412.

50 Lyras DN, Kazakos K, Tryfonidis M, et al. Temporal and spatial expression of TGF-beta1 in an Achilles tendon section model after application of platelet-rich plasma. Foot Ankle Surg 2010;16:137-141.

51 Lyras DN, Kazakos K, Georgiadis G, et al. Does a single application of PRP alter the expression of IGF-I in the early phase of tendon healing? J Foot Ankle Surg 2011;50:276-282.

52 Maynard DM, Heijnen HF, Horne MK, White JG, Gahl WA. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. J Thromb Haemost 2007;5:1945-1955.

www.standardkit.com

**پلاکت‌ها**

| | |
|---|---|
| گرانول‌های آلفا | پروتئین‌های چسبندگی، فاکتورهای انعقادی،GFs، PDGF، TGF-β ، VEGF، FGF، HGF، EGF |
| اجسام متراکم | کلسیم و نوروترانسمیترها |
| لیزوزوم‌ها | آنزیم‌های لیزوزومی |

**لکوسیت‌ها**

| | |
|---|---|
| نوتروفیل‌ها | |
| گرانول‌های اولیه | میلوپراکسیداز، اسید هیدرولازها، دفنسین‌ها، سرین پروتئازها |
| گرانول‌های ثانویه | کلاژناز، لاکتوفرین، فاگوسیتین‌های باکتری کش، لیزوزیم، Cathelicidin |
| گرانول‌های ثالثیه | ژلاتیناز، پروتئاز |

**منوسیت‌ها** فاکتورهای فعال کننده پلاکت، TGF-β،VEGF ، FGF، EGF

**اریتروسیت‌ها** ATP، S- نیتروزوتیول‌ها ، نیتریک‌اکسید، سولفیدهیدروژن، هموگلوبین، رادیکال‌های آزاد

گرانول‌های آلفا، باعث ظاهر گرانولر ارغوانی پلاکت‌ها در اسمیر خون محیطی می‌شوند. پپتیدهای فاکتور رشد که از گرانول‌های آلفا رها می‌شوند عبارتند از PDGF، TGF-β1، فاکتور رشد آندوتلیال عروق، فاکتور رشد فیبروبلاستی بازی ( bFGF ) و فاکتور رشد اپیدرمی. علی رغم گزارش های اولیه IGF-1 در پلاکت‌ها ذخیره نمی‌شود بلکه در پلاسما وجود دارد. تنوع در غلظت فاکتورهای رشد رها شده از گرانول‌ها وجود دارد اما تعداد پلاکت‌ها در PRP با غلظت فاکتورهای رشد ارتباط مستقیم دارد [۵۳] [۵۴] [۵۵] PDGF نقش تلفیق کننده در تکثیر سلولی، کموتاکسی، تمایز سلولی و رگ‌زایی دارد. [۵۶]

53 Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. Am J Sports Med 2007;35:245-251. 13. Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: Optimizing the healing environment. Arthroscopy 2010;26:269-278.

54 McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. J Orthop Res 2009;27:1033-1042



www.standardkit.com

[۵۷] به عنوان مثال، Markopoulou و همکارانش [۵۸] نشان دادند PRP موجب تکثیر استئوبلاست‌های انسان به علت دارا بودن TGF-β1، b FGF و PDGF می‌شود.

افزایش تکثیر سلولی یکی از اثرات PRP در پیشبرد ترمیم ضایعات عضلانی – اسکلتی است. Chung و همکارانش نشان دادن مهارکردن PDGF-BB در یک مدل آسیب صفحه رشد در جوندگان، موجب کاهش کموتاکسی سلول‌های مزانشیمی می‌شود [۵۹]

تعدیل روند انعقاد و ترمیم عروقی توسط فاکتورهای رشد PRP به عنوان علت تسریع و بهبود زخم و ضایعات تاندون، لیگامان و استخوان مطرح شده است [۶۰] مقالات متعددی در مورد کاربرد و اثرات فاکتورهای رشد موجود در گرانول‌های آلفا در ترمیم ضایعات اسکلتی – عضلانی وجود دارد [۶۱] [۶۲]

فاکتورهای رشد از طریق اتصال به گیرنده‌های تراغشایی سلولی و تعدیل مسیرهای پیام رسان سلولی عمل می‌کنند [۶۳] یک مزیت استفاده از PRP به جای تجویز تک تک فاکتورهای رشد برونزاد این است که فاکتورهای رشد در پلاکت‌ها بصورت طبیعی ( و نه نوترکیب ) وجود دارند و احتمالا در نسبت‌های متعادل زیستی رها می‌شوند [۶۴] در آزمایشی بر روی سگ، استفاده از bFGF به تنهایی، مرحله تکثیر سلولی را در ترمیم تاندون تسریع کرد اما باعث تشکیل اسکار پری تاندونی و

---

55 Anitua E, Sánchez M, Zalduendo MM, et al. Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. Cell Prolif 2009;42:162-170.

56 Chung R, Foster BK, Zannettino AC, Xian CJ. Potential roles of growth factor PDGF-BB in the bony repair of injured growth plate. Bone 2009;44:878-885.

57 Schmidt MB, Chen EH, Lynch SE. A review of the effects of insulin-like growth factor and platelet derived growth factor on in vivo cartilage healing and repair. Osteoarthritis Cartilage 2006;14:403-412.

58 Markopoulou CE, Markopoulos P, Dereka XE, Pepelassi E, Vrotsos IA. Effect of homologous PRP on proliferation of human periodontally affected osteoblasts. In vitro preliminary study. Report of a case. J Musculoskelet Neuronal Interact 2009;9:167-172.

59 Chung R, Foster BK, Zannettino AC, Xian CJ. Potential roles of growth factor PDGF-BB in the bony repair of injured growth plate. Bone 2009;44:878-885.

60 Sánchez M, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. Am J Sports Med 2007;35:245-251.

61 Creaney L, Hamilton B. Growth factor delivery methods in the management of sports injuries: The state of play. Br J Sports Med 2008;42:314-320.

46. Sánchez M, Anitua E, Orive G, Mujika I, Andia I. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. Sports Med 2009;39:345-354.

62 Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. Am J Sports Med 2009;37:2259-2272.

63 Maffulli N, Longo UG, Denaro V. Novel approaches for the management of tendinopathy. J Bone Joint Surg Am 2010;92: 2604-2613.

64 Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: From basic science to clinical applications. Am J Sports Med 2009;37:2259-2272.



www.standardkit.com

کاهش محدوده ی حرکات مفصل شد. [۶۵] این یافته از استفاده از نسبت متعادل و تکمیلی فاکتورهای رشد موجود در PRP ( بجای تک تک فاکتورهای رشد ) حمایت می‌کند. PRP همچنین ارزان‌تر بوده، مصرف آن نسبت به فاکتورهای رشد نو ترکیب، محدودیت کمتری دارد. [۶۶]

اجسام متراکم (گرانول‌های دلتا) ارگانل هایی با اندازه ۲۵۰تا ۳۰۰ نانو متر هستند. این اجسام حاوی موادی مانند کلسیم (فاکتورIV انعقادی)، منیزیم، آدنوزین، سروتونین و هیستامین می باشندکه به پیشبرد انعقاد کمک می‌کنند.[۶۷] کمبود اجسام متراکم به اختلالات خفیف خونریزی دهنده منجر می‌گردد. گرچه سروتونین در دستگاه گوارش و مغز تولید می‌شود، اما در اجسام متراکم ذخیره می گردد، پس از رها سازی، با انقباض عروق و افزایش نفوذپذیری آن‌ها در هموستاز نقش دارد. با اینکه هنوز مطالب زیادی مشخص نشده است اما مشخص است که سروتونین به اشکال مختلف وجود دارد و می‌تواند بصورت یک هورمون یا نوروترانسمیتر عمل کند و اثرات مثبت یا منفی بر توده استخوانی داشته باشد. [۶۸]

گرانول‌های لاندا سومین نوع گرانول‌هایی هستند که محتویات آن ها طی فعال شدن پلاکت‌ها رها می‌شوند. اگر چه یافته ها در مورد گرانول‌های لاندا اندک است اما آن‌ها نقش واضحی در برداشت عوامل عفونی و بقایای سلولی دارند. با پیشرفت روند ترمیم بافت، فعال کننده پلاسمینوژن بافتی که توسط آندوتلیوم ترشح می‌شود، آنزیم‌های گرانول‌های لاندا را فعال می‌کند تا پلاسمینوژن را به پلاسمین تبدیل کنند و لخته را لیز نمایند. فعال کننده‌های پلاسیمنوژن در هموستاز رشته‌های عضلانی و ترمیم ماتریکس خارج سلولی ( از جمله ترمیم شکستگی‌ها ) نقش ایفا می‌کنند. [۶۹] [۷۰]

65 Thomopoulos S, Kim HM, Das R, et al. The effects of exogenous basic fibroblast growth factor on intrasynovial flexor tendon healing in a canine model. J Bone Joint Surg Am 2010;92:2285-2293.

66 Sun Y, Feng Y, Zhang CQ, Chen SB, Cheng XG. The regenerative effect of platelet-rich plasma on healing in large osteochondral defects. Int Orthop 2010;34:589-597.

67 Maffulli N, Longo UG, Denaro V. Novel approaches for the management of tendinopathy. J Bone Joint Surg Am 2010;92: 2604-2613.

68 Ducy P. 5-HT and bone biology. Curr Opin Pharmacol 2011;11:34-38.

69 Suelves M, Vidal B, Serrano AL, et al. uPA deficiency exacerbates muscular dystrophy in MDX mice. J Cell Biol 2007; 178:1039-1051.

70 Rundle CH, Wang X, Wergedal JE, Mohan S, Lau KH. Fracture healing in mice deficient in plasminogen activator inhibitor-1. Calcif Tissue Int 2008;83:276-284.



www.standardkit.com

## پلاسما

پلاسما جزء مایع و زرد رنگ خون است که سلول‌های خونی در آن معلق هستند. تقریبا ۲۰۰ پروتئین از جمله آلبومین، ایمونوگلبولین‌ها، کمپلمان، و فاکتورهای انعقادی در پلاسما یافت شده است.[۷۱]

از آنجا که پلاسما بصورت موقت حاوی پروتئین‌های متعدد رها شده از سلول‌ها و تولید شده طی مسیرهای متابولیک است، وجود تا ۶۷۹ پروتئین در پلاسما اثبات شده است.[۷۲] شاخص‌های زیستی بازگردشی استخوان را نیز می‌توان در پلاسما یافت، از جمله استئوکلسین و استئونکتین که هر دو توسط استئوبلاست‌ها ترشح می‌شوند. سایر ملکول‌های مربوط به بافت عضلانی – اسکلتی نیز بطور گذرا در پلاسما یافت می‌شوند. به عنوان مثال، سطح پروتئین الیگومریک ماتریکس عضروف در موارد آرتریت شدید، افزایش می‌یابد [۷۳]

سطح شاخص‌های زیستی پلاسما را می‌توان طی جراحی ارتوپدی اندازه گرفت. Hughes و همکارانش [۷۴] شاخص‌های ویژه التهاب ارتوپدیک و فعال سازی لکوسیت‌ها از جمله CRP , CD11B و پروتئین C را اندازه گرفتند و نشان دادند اندازه‌گیری دقیق تر این شاخص‌ها حین جراحی التهابی ارتوپدی عاقلانه است. از شناسایی میکرو RNA های موجود در پلاسما نیز جهت اثبات ابتلا به آرتریت روماتوئید و استئوآرتریت استفاده شده است. [۷۵] یک الگوی شاخص‌های زیستی مشابه نیز برای اثبات باز گردش بالای استخوان در زمان مبتلا به استئوپروز استفاده شده است [۷۶] . الگوی مشابه ای نیز در بیماران دچار شکستگی دیده می‌شود. همچنین مطالعات روی اسب‌ها نشان داده است الگوی شاخص‌های مشابه ای نیز در اسب‌های مسابقه قبل از ایجاد آسیب در پلاسما دیده می‌شود . [۷۷]

پروتیئن‌های پلاسما که در هموستاز دخیل هستند، بر ترمیم آسیب‌های عضلانی – اسکلتی نیز اثر می‌گذارند. پس از فعال سازی پلاک پلاکتی در هموستاز اولیه در محل آسیب و طی مرحله بلوغ لخته، ملکول‌های چسبندگی سلولی مانند فیبرین،

---

71 Haudek VJ, Slany A, Gundacker NC, Wimmer H, Drach J, Gerner C. Proteome maps of the main human peripheral blood constituents. J Proteome Res 2009;8:3834-3843.

72 Schenk S, Schoenhals GJ, de Souza G, Mann M. A high confidence, manually validated human blood plasma protein reference set. BMC Med Genomics 2008;1:41

73 Posey KL, Hecht JT. The role of cartilage oligomeric matrix protein (COMP) in skeletal disease. Curr Drug Targets 2008; 9:869-877.

74 Hughes SF, Hendricks BD, Edwards DR, Middleton JF. Tourniquet- applied upper limb orthopaedic surgery results in increased inflammation and changes to leukocyte, coagulation and endothelial markers. PLoS One 2010;5:e11846

75 Murata K, Yoshitomi H, Tanida S, et al. Plasma and synovial fluid microRNAs as potential biomarkers of rheumatoid arthritis and osteoarthritis. Arthritis Res Ther 2010;12:R86.

76 Bhattacharyya S, Siegel ER, Achenbach SJ, Khosla S, Suva LJ. Serum biomarker profile associated with high bone turnover and BMD in postmenopausal women. J Bone Miner Res 2008;23:1106-1117

77 Frisbie DD, Mc Ilwraith CW, Arthur RM, Blea J, Baker VA, Billinghurst RC. Serum biomarker levels for musculoskeletal disease in two- and three-year-old racing Thoroughbred horses: A prospective study of 130 horses. Equine Vet J 2010;42:643-651.



www.standardkit.com

فیبرونکتین و ویترونکتین، از پلاسما وارد لخته می گردند. در مطالعات آزمایشگاهی مشخص شده است این پروتئین‌ها باعث کموتاکسی سلول‌های استرومای چند ظرفیتی می‌شوند. [۷۸] این موضوع نشان می‌دهد که این ملکول‌ها ممکن است مهاجرت سلول‌های فیبروبلاست، استئوبلاست یا سایر سلول‌های ترمیم کننده ی بافت در ترمیم عضلانی – اسکلتی را تعدیل کنند.

الکترولیت‌های موجود در پلاسما به شدت از طریق آدنوزین تری‌فسفاتاز تراغشایی کنترل می‌شوند تا عملکرد سلولی و بافتی در سطح بهینه حفظ گردد. چهار یون فراوان تر موجود در پلاسما عبارتند از کلرید ( ۳۷۰-۳۴۰mg/dl)، سدیم ( ۳۱mg/dl-۳۵ )، پتاسیم ( ۱۴ mg/ld - ۲۰) وکلسیم تام ( ۸/۵mg/dl – ۱۰/۲ ).

تقریبا نیمی از کلسیم در گردش خون به آلبومین متصل است و میزان یون کلسیم را می‌توان بصورت مستقل اندازه‌گیری نمود ( ۴/۱ mg/dl -۴/۸ ). کلسیم علاوه بر آنکه به عنوان فعال کننده پلاکت عمل می‌کند، ذخایر داخل سلولی پلاکت نیز هموستاز کلسیم را حفظ می‌کنند. کلسیم یک پیام رسان ثانویه مهم در سلول‌ها است و کوفاکتور چندین واکنش خار ج سلولی می‌باشد. کاملا این موضوع اثبات شده است که در آبشار انعقادی، کلسیم پلاسما کوفاکتوری برای تشکیل کمپلکس tenase ( فاکتورX) و پروترومبیناز است. در ارتباط با ترمیم بافت عضلانی – اسکلتی، سیستم پیام رسانی کلسیم داخل سلولی برای انجام فعالیت انقباضی میوفیبروبلاست‌ها در محیط آزمایشگاهی ضروری است. [۷۹]

هورمون‌هایی مانند تیروکسین، پروژسترون، استرادیول، آدرنوکورتیکو تروپیک هورمون، آندروژن‌ها، استروژن‌ها و هورمون رشد انسانی در پلاسما حضور دارند. احتمالا IGF-1 بیشتر از سایر هورمون‌های موجود در پلاسما به بافت عضلانی- اسکلتی مربوط است. IGF-1 در مدل اسبی باعث بهبود ترمیم عضروف و تاندون شده است. [۸۰] [۸۱] فواید IGF-1 در تسهیل ترمیم آسیب‌های عضلانی اسکلتی قبلا مورد پژوهش قرار گرفته است. [۸۲] [۸۳]

78 Thibault MM, Hoemann CD, Buschmann MD. Fibronectin, vitronectin, and collagen I induce chemotaxis and haptotaxis of human and rabbit mesenchymal stem cells in a standardized transmembrane assay. Stem Cells Dev 2007;16:489-502.

79 Follonier L, Schaub S, Meister JJ, Hinz B. Myofibroblast communication is controlled by intercellular mechanical coupling. J Cell Sci 2008;121:3305-3316.

80 Fortier LA, Lust G, Mohammed HO, Nixon AJ. Coordinate upregulation of cartilage matrix synthesis in fibrin cultures supplemented with exogenous insulin-like growth factor-I. J Orthop Res 1999;17:467-474.

81 Dahlgren LA, van der Meulen MC, Bertram JE, Starrak GS, Nixon AJ. Insulin-like growth factor-I improves cellular and of flexor tendinitis. J Orthop Res 2002;20:910-919.63.

82 Orthop Res 1999;17:467-474. 64. Bachl N, Derman W, Engebretsen L, et al. Therapeutic use of growth factors in the musculoskeletal system in sports-related injuries. J Sports Med Phys Fitness 2009;49:346-357.

83 Fortier LA, Lust G, Mohammed HO, Nixon AJ. Coordinate upregulation of cartilage matrix synthesis in fibrin cultures supplemented with exogenous insulin-like growth factor-I. J Orthop Res 1999;17:467-474.



www.standardkit.com

اینکه سایر هورمون‌های موجود در PRP تا چه حد بر متابولیسم پلاکت و بافت عضلانی – اسکلتی اثر دارد، هنوز مشخص نمی‌باشد. بطور کلی، گلوکو کورتیکوییدها با کاهش تولید یا فعالیت واسطه‌های التهابی از بافت‌ها محافظت می‌کنند. تولید داخل سلولی فاکتور رشد اپیدرمی توسط تستوسترون افزایش و توسط استروژن‌ها مهار می‌شود. تجمع پلاکت‌ها و رهاسازی $TXA_2$ در محیط آزمایشگاهی در PRP با سطح فیزیولوژیک دی هیدروتستوسترون کاهش می‌یابد. [۸۴] استروژن‌ها به تنهایی به نظر نمی‌رسد بر تجمع پلاکت‌ها در PRP اثر بگذارند، اگر چه استروژن‌ها به صورت هم افزا با آدرنالین یا ADP، تجمع پلاکت‌ها را افزایش می‌دهند. [۸۵]

## لکوسیت‌ها

لکوسیت‌های پستانداران به دو گروه تقسیم می‌شوند: گرانولیست‌ها ( نوتروفیل‌ها، ائوزینوفیل‌ها، بازوفیل‌ها ) ، سلول‌های تک هسته‌ای (لنفوسیت‌ها و منوسیت‌ها یا ماکروفاژها ). سلول‌های فاگوسیتی مانند ماکروفاژها برای روند ترمیم بافتی درون بدن موجود زنده ضروری هستند [۸۶]

یک موش مدل برای نشان دادن اینکه ماکروفاژها برای برداشت بافت لیگامان آسیب دیده و رهاسازی سیتکین‌ها برای ترمیم بافتی ضروری هستند، استفاده گردید. [۸۷] وجود لکوسیت‌ها می‌تواند موجب پیشبرد مسیرهای پیام رسانی التهابی سلولی و کاتابولیسم بافت موضع شود. [۸۸] به عنوان مثال، Fortier , McCarrel نشان دادند وجود لکوسیت‌ها در PRP ارتباط منفی با تولید ماتریکس و ارتباط مثبت با کاتابولیسم ماتریکس در تاندون‌ها دارد. بنابراین غلظت بالاتر لکوسیت‌ها احتمالا برای کاربردهای عضلانی اسکلتی نامطلوب است اما برای سایر کاربردها مانند ترمیم ضایعات بزرگ و عفونی درم می‌تواند مطلوب باشد.

84 Li S, Li X, Li J, Deng X, Li Y. Inhibition of oxidative-stressinduced platelet aggregation by androgen at physiological levels via its receptor is associated with the reduction of thromboxane A2 release from platelets. Steroids 2007;72:875-880.

85 Akarasereenont P, Tripatara P, Chotewuttakorn S, Palo T, Thaworn A. The effects of estrone, estradiol and estriol on platelet aggregation induced by adrenaline and adenosine diphosphate. Platelets 2006;17:441-447.

86 Chamberlain CS, Leiferman EM, Frisch KE, et al. The influence of macrophage depletion on ligament healing. Connect Tissue Res 2011;52:203-211.

87 Chamberlain CS, Leiferman EM, Frisch KE, et al. The influence of macrophage depletion on ligament healing. Connect Tissue Res 2011;52:203-211.

88 Jacobsen LC, Sørensen OE, Cowland JB, Borregaard N, Theilgaard- Mönch K. The secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) and the secondary granule protein lactoferrin are synthesized in myelocytes, colocalize in subcellular fractions of neutrophils, and are coreleased by activated neutrophils. J Leukoc Biol 2008;83:1155-1164.



www.standardkit.com

عملکرد اصلی نوتروفیل‌ها تخریب عوامل عفونی است. ذخایر پروتیئن‌های ضد میکروبی در گرانول‌های اولیه، ثانویه و ثالثیه ی آن‌ها وجود دارد. پروتئازها نیز در سیتوپلاسم نوتروفیل‌ها یافت می‌شوند. اگر چه این ملکول‌ها در تخریب میکروب‌ها مهم هستند اما می‌توانند باعث تخریب موضعی بافت نیز بشوند. اگر هدف از استفاده از PRP، تحریک ترمیم متعادل است، افزودن نوتروفیل‌ها به PRP با این هدف در تضاد می‌باشد. برای پیشگیری از آسیب بافتی نوتروفیل‌ها، ورود نوتروفیل‌ها باید کنترل گردد. [۸۹] تعداد نوتروفیل‌ها در محیط طبیعی خود بخود کنترل می‌شود. مهار کننده‌های پروتئاز لکوسیت‌ها در میلوسیت‌ها سنتز می‌شوند، در نوتروفیل‌ها ذخیره شده، جهت محدود ساختن آسیب بافتی موضعی ناشی از سرین پروتئازها رها می‌گردند. [۹۰] بعلاوه، نوتروفیل‌ها گونه‌های واکنشگر اکسیژن را نیز رها می‌کنند که در اثر انفجار تنفسی تولید شده‌اند و برای تخریب عوامل بیماری‌زا بکار می‌روند. با این حال، واکنش انفجار تنفسی بدون یک هدف میکروبی می‌تواند به آسیب بافتی منجر شود. [۹۱]

گرانول‌های اولیه (آزوروفیل) کوچک‌تر و بیشتر از گرانول‌های ثانویه بوده، حداقل حاوی ۱۰ پپتید ضد میکروبی هستند. هنگامی که نوتروفیل فعال می‌شود، لیزوزیم، میلوپراکسیداز، اسیدهیدرولاز، آلفا – دفنسین‌ها، پروتئین افزاینده نفوذپذیری / باکتری کش و سرین پروتئازها ( شامل الاستاز نوتروفیل [ELA2]، آزوروسیدین، کاتپسینG و پروتئیناز ۳ ) از گرانول‌های اولیه رها می‌شوند [۹۲] این پروتئازها به باکتری‌ها آسیب رسانده، ماتریکس خارج سلولی را تجزیه می‌کنند و مهاجرت سلول‌ها در بافت‌ها را امکان پذیر می‌سازند.[۹۳] [۹۴] اگر چه این عملکرد برای بازسازی بافت‌ها ضروری هستند اما می‌تواند موجب تخریب بافت‌های طبیعی شوند چنانچه در مطالعات آزمایشگاهی مدل تاندون اسبی مشاهده شد. [۹۵]

گرانول‌های ثانویه ( اختصاصی ) نسبت به گرانول‌های اولیه، کوچک‌تر و کم‌تر هستند. برخی ملکول‌ها علاوه بر گرانول‌های اولیه در گرانول‌های ثانویه نیز وجود دارند (لاکتوفرین، ژلاتیناز، لیزوزیم ). [۹۶] بعلاوه، گرانول‌های ثانویه حاوی متالوپروتیئناز ماتریکس-۸ ( MMP-8 ) یا کلاژناز نوتروفیل و MMP-9 ( کلاژناز نوع IV که ژلاتیناز B نیز نامیده می‌شود) هستند که

89 Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. Immunity 2010;33:657-670.

90 Jacobsen LC, Sørensen OE, Cowland JB, Borregaard N, Theilgaard- Mönch K. The secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) and the secondary granule protein lactoferrin are synthesized in myelocytes, colocalize in subcellular fractions of neutrophils, and are coreleased by activated neutrophils. J Leukoc Biol 2008;83:1155-1164.

91 Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: Optimizing the healing environment. Arthroscopy 2010;26:269-278.

92 Borregaard N. Neutrophils, from marrow to microbes. Immunity 2010;33:657-670.

93 Faurschou M, Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. Microbes Infect 2003;5:1317-1327.

94 Wiesner J, Vilcinskas A. Antimicrobial peptides: The ancient arm of the human immune system. Virulence 2010;1:440-464.

95 McCarrel T, Fortier L. Temporal growth factor release from platelet-rich plasma, trehalose lyophilized platelets, and bone marrow aspirate and their effect on tendon and ligament gene expression. J Orthop Res 2009;27:1033-1042.

96 Borregaard N, Cowland JB. Granules of the human neutrophilic polymorphonuclear leukocyte. Blood 1997;89:3503-3521.



www.standardkit.com

موجب تخریب ماتریکس خارج سلولی می‌شوند. [۹۷] آن ها همچنین حاوی پلی پپتیدهای ضد میکروبی مانند لیزوزیم، لاکتوفرین و کاتلیسیدین هستند. مهار کننده پروتئیناز ترشحی لکوسیت نیز در تعدیل پاسخ پروتئولتییک نوتروفیل در همه بافت‌ها نقش دارد. [۹۸] [۹۹] لاکتوفرین به آهن متصل می‌شود و بر علیه قارچ‌ها، باکتری‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها عمل می‌کند. [۱۰۰] اثرات ضد ویروسی آن از طریق اتصال رقابتی به گلیکوز آمینوگلیکان‌ها و ممانعت از اتصال ویروس‌ها به سلول‌ها انجام می‌شود، بنابراین می‌تواند گلیکوز آمینوگلیکان موجود در غضروف، کاندروتین تاندون یا هالورونات سینوریال را نیز بلوک کند.

گرانول‌های ثالثیه از هر دو نوع قبلی، کوچک‌تر و کم‌تر هستند و MMP-9 وMMP-15 را همراه با پپتیدهای جدا ساز آهن و سایر فلزات مانند ژلاتئیاز نوتروفیل مرتبط با لاکتوفرین و پروتئین ماکروفاژی مرتبط با مقاومت -۱ رها می‌سازند [۱۰۱] منوسیت‌ها در خون محیطی، یافت می‌شوند و پس از مهاجرت به بافت همبندی به ماکروفاژها تمایز می‌یابند. منوسیت‌های در گردش خون از طریق رها سازی MMP-2، MMP-9، MMP-13، کاتپسین، نیتریک اکسید سنتتاز القایی، اینترلوکین - ۱ و اینترلوکین-۶ باعث پیشبرد تجزیه ماتریکس خارج سلولی می‌شوند. هم زمان منوسیت‌ها از طریق رها سازی TGF-β، VEGFو bFGF بترتیب التهاب را سرکوب کرده، رگ‌زایی را فعال می‌کنند و از سنتز کلاژن حمایت به عمل می‌آورند. ماکروفاژها مشتق از منوسیت‌ها برای هر نوع روند بازسازی بافتی لازم هستند، از جمله ترمیم بافت عضلانی - اسکلتی ( از طریق فاگوسیتوز بافت نکروزه ). ماکروفاژهای فعال شده احتمالا در ترمیم استخوان زیر غضروف مفصلی نیز نقش دارند. [۱۰۲] ائوزینوفیل‌ها عمدتا در ایمنی نقش دارند. این سلول‌ها حاوی پروتئین بازی اصلی -۱ هستند که در بازوفیل و ماست سل هم یافت می‌شوند و در کشتن انگل‌ها نقش دارد. پراکسیداز ائوزینوفیل‌ها تنها در ائوزینوفیل‌ها یافت می‌شود و از طریق اکسیداسیون، عوامل بیماری‌زا را غیر فعال می‌کند. ریبونوکلنازهای ائوزینوفیل‌ها اثرات ضد ویروسی و ضد انگلی دارند. [۱۰۳]

97 Lopez-Vidriero E, Goulding KA, Simon DA, Sanchez M, Johnson DH. The use of platelet-rich plasma in arthroscopy and sports medicine: Optimizing the healing environment. Arthroscopy 2010;26:269-278.

99 Jacobsen LC, Sørensen OE, Cowland JB, Borregaard N, Theilgaard- Mönch K. The secretory leukocyte protease inhibitor (SLPI) and the secondary granule protein lactoferrin are synthesized in myelocytes, colocalize in subcellular fractions of neutrophils, and are coreleased by activated neutrophils. J Leukoc Biol 2008;83:1155-1164.

100 Wiesner J, Vilcinskas A. Antimicrobial peptides: The ancient arm of the human immune system. Virulence 2010;1:440-464.

101 Faurschou M, Borregaard N. Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. Microbes Infect 2003;5:1317- 1327

102 Hoemann CD, Chen G, Marchand C, et al. Scaffold-guided subchondral bone repair: Implication of neutrophils and alternatively activated arginase-1_ macrophages. Am J Sports Med 2010;38:1845-1856.

103 Wiesner J, Vilcinskas A. Antimicrobial peptides: The ancient arm of the human immune system. Virulence 2010;1:440-464.



www.standardkit.com

## ایتروسیت‌ها

فرآیند سانتریفوژ جهت تهیه PRP بطور معمول تعداد ایتروسیت‌ها را کاهش می‌دهد یا به صفر می‌رساند. از آنجایی که غالبا مقداری از ایتروست‌ها وجود دارند، بحث در مورد آن ها مهم می‌باشد.

عملکرد اصلی ایتروسیت‌ها حمل اکسیژن است که برای ترمیم بافت ضروری است. ایتروسیت‌ها فاقد اکثر اجزای سلولی، مانند هسته، رتیکولوم آندو پلاسمیک و میتوکندری هستند. در برابر سلول‌های هسته دار که تقریبا بیش از ۲۰/۰۰۰ نوع پروتئین دارند، ایتروسیت‌ها حاوی حدود ۷۵۰ نوع پروتئین هستند. [۱۰۴] ایتروسیت‌ها همچنین حامل برخی کمپلکس‌های ایمنی می باشند. [۱۰۵] در بدن موجود زنده، اریتروسیت‌ها موادی مانند ATP، اکسید نیتریک، S نتیروزوتیول ها و سولفید هیدروژن را رها می‌سازند که باعث اتساع عروق می‌شوند. مطالعات نشان می‌دهد اکسید نیتریک باعث عدم حساسیت نسبت به IGF-1 در غضروف آسیب دیده می‌شود. [۱۰۶] [۱۰۷]

هموگلوبین، اکسیژن را حمل می‌کند و از لحاظ تکنیکی نوع متالوپروتئیناز و از ۴ ملکول هم کوچک‌تر و متصل به پروتئین تشکیل یافته است. تحت شرایط استرس اکسداتیو، هم می‌تواند آزاد شود و اثر سیتوتوکسیک داشته باشد. آهن موجود در ملکول هم، ساخت رادیکال‌های آزاد را کاتالیز می‌کند و در تخریب عوامل بیماری زا نقش دارد. با این حال، رادیکال‌های آزاد می‌توانند در واکنش التهابی موجب القای آپوپتوز در سلول‌های میزبان نیز شوند. به علت وجود این ویژگی‌های تخریبی، محدود ساختن تعداد از ایتروسیت‌ها در فرآورده PRP استفاده در ترمیم بافت عضلانی– اسکلتی، منطقی به نظر می‌رسد.

---

104 Goodman SR, Kurdia A, Ammann L, Kakhniashvili D, Daescu O. The human red blood cell proteome and interactome. Exp Biol Med (Maywood) 2007;232:1391-1408.

105 Pasini EM, Kirkegaard M, Mortensen P, Lutz HU, Thomas AW, Mann M. In-depth analysis of the membrane and cytosolic proteome of red blood cells. Blood 2006;108:791-801.

106 Studer RK, Decker K, Melhem S, Georgescu H. Nitric oxide inhibition of IGF-1 stimulated proteoglycan synthesis: Role of cGMP. J Orthop Res 2003;21:914-921.

107 Studer RK. Nitric oxide decreases IGF-1 receptor function in vitro; glutathione depletion enhances this effect in vivo. Osteoarthritis Cartilage 2004;12:863-869.



www.standardkit.com

**ارتباطات بالینی**

آگاهی از اجزای PRP مورد استفاده به شناخت فاکتورهای مهم دخیل در اثرات این روش درمانی ترمیمی کمک می‌کند ( جدول ۴ ).

**جدول ۴ . نکاتی درباره استفاده از PRP**

| |
|---|
| CBC را روی خون وریدی و فرآورده PRP انجام دهید تا مطمئن شوید فرآورده مورد استفاده واقعا PRP است. |
| استریل بودن PRP را همیشه حفظ کنید. |
| ههنگام تزریق PRP، آن را در خارج از محدوده ضایعه تزریق نکنید. |
| به منظور جلوگیری از فعال سازی پلاکت‌ها، با ملایمت با فرآورده PRP کار کنید. |
| در انتخاب زمان تهیه PRP، فاکتورهای دارویی، فردی و شبانه‌روزی را در نظر بگیرید. |

به عنوان مثال، ۵ مقاله جدید در مورد آرتروسکوپی و ترمیم رباط صلیبی قدامی با استفاده از PRP و مقایسه آن با گروه کنترل منتشر شده‌اند. [۱۰۸ ۱۰۹] ارزیابی بیماران با کمک MRI طی ۳ تا ۲۴ ماه پس از انجام جراحی انجام شده، اما نتایج این کارآزمایی‌ها متنوع بوده است. در چندین نامه به نگارنده این مقاله به وجود اختلاف نظر در مورد استفاده از PRP در این کارآزمایی اشاره شده و بر نیاز به انجام کارآزمایی‌های مرحله I برای تعیین کارایی PRP تاکید شده است. [۱۱۰ ۱۱۱] از میان این مقالات، یک مقاله به تعداد پلاکت‌ها در PRP مورد استفاده اشاره کرد، اما شمارش لکوسیت‌ها در فرآورده PRP در هیچ کدام گزارش نشده است. در ۴ عدد از این ۵ مقاله، سیستم مورد استفاده جهت تهیه PRP گزارش شده اما این سیستم در همه مقالات متفاوت بوده است. برای ارزیابی اینکه PRP چرا کارآیی دارد یا ندارد، چه بیمارانی از آن نفع می‌برند و چه زمانی استفاده از آن با بیشترین نفع همراه است، شناخت PRP ضروری می‌باشد.

108 Orrego M, Larrain C, Rosales J, et al. Effects of platelet concentrate and a bone plug on the healing of hamstring tendons in a bone tunnel. Arthroscopy 2008;24:1373-1380.

109 Figueroa D, Melean P, Calvo R, et al. Magnetic resonance imaging evaluation of the integration and maturation of semitendinosus-gracilis graft in anterior cruciate ligament reconstruction using autologous platelet concentrate. Arthroscopy 2010;26:1318-1325.

110 Vogrin M, Rozman P, Haspl M. Concerns about the effects of platelet concentrate. Arthroscopy 2009;25:941-942, author reply 942.

111 Dines JS. Growth factor confusion. Arthroscopy 2010;26: 1144, author reply 1145-1146.



www.standardkit.com

**نتیجه گیری**

PRP یک روش درمان ترمیمی برای بسیاری از آسیب‌های عضلانی- اسکلتی است. درک این مطلب مهم است که PRP تنها از پلاکت تشکیل نشده، بلکه حاوی فاکتورهای متعدد زیستی است که در مسیرهای آنابولیک، کاتابولیک، پیش التهابی و ضد التهابی عمل می‌کنند. برخی اجزای PRP نیز در تعدیل پاسخ ایمنی نقش دارند. ترکیب دقیق غلظت پلاکت‌ها، لکوسیت‌ها و سایر اجزای پلاسمای برای بهینه سازی ترمیم بافت عضلانی – اسکلتی اکنون مشخص نمی‌باشد و پزشک باید بداند اثرات PRP تنها به غلظت پلاکت‌های آن مربوط نیست. یک غلظت حداکثر پلاکت‌ها ممکن است وجود داشته باشد که غلظت پلاکتی بیشتر، فایده بالینی ندارد. اگر چه عملکرد بسیاری از پروتئین‌های موجود در PRP بر بافت عضلانی – اسکلتی مشخص نیست، اما احتمالا آن ها در روند ترمیم زیستی نقش دارند. در نهایت توجه به این نکته توسط افراد طراح مطالعات بالینی ضروری است که تنوع شبانه روزی در تعداد پلاکت‌ها وجود دارد و در برخی شرایط در برخی افراد نمی‌توان PRP تهیه کرد. اگر چه PRP مفهومی بیش از صرفا پلاکت است، اما پزشک باید قبل از استفاده از این فرآورده مطمئن شود فرآورده حاصل از خون محیطی، واقعا طبق تعریف PRP است.

## Platelet-Rich Plasma: A Milieu of Bioactive Factors

Stacie G. Boswell, Brian J. Cole, Emily A. Sundman, Vasili Karas, Lisa A. Fortier

*Arthroscopy: The Journal of Arthroscopic and Related Surgery, Vol 28, No 3 (March), 2012: pp 429-439*

Standard kit
The new generation of PRP kits

"این مقاله با حمایت مالی شرکت نوآوران سلامت ارژنگ، عرضه کننده کیت استاندارد پی آر پی ترجمه و منتشر شده است"