مروری بر فیبرین غنی از پلاکت و کاربرد آن در درمان بیماری‌ها

کلهر، ناصر* محسن شیخ حسن** فاطمه نصیری*** آذر شیخ‌الاسلامی****

چکیده

دو دهه می‌گذرد از زمانی که فیبرین غنی از پلاکت (PRF) ایجاد شد. هدف اصلی، ایجاد روش درمانی با واردکردن پلاکت غلیظ شده به محل زخم‌ها با استفاده از ظرفیت طبیعی بدن و بهبود آن‌ها است. این ماده با جمع‌آوری فاکتورهای رشدی که به طور طبیعی در خون وجود داشت، حاصل می‌شد. پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) و پلاکت‌های غنی از فاکتور رشد(PRGF) تجاری سازی شده بودند؛ اما هردوی آن‌ها حاوی محصولات جانبی غیر طبیعی و ناشناخته بودند که بهبود زخم‌ها را مهار می‌کردند. بعدها با حذف ضد انعقاد ها و اصلاح پروتکل‌های سانتریفیوژ،PRF ها با پتانسیل قابل توجه در بسیاری از زمینه‌های پزشکی و دندانپزشکی معرفی شدند. بازسازی بافت، شامل جنبه‌های مختلفی است، نقش کلیدی فیبرین به اندازهٔ آزاد سازی مقدماتی فاکتورهای رشد در دورهٔ زمانی طولانی از PRF است. با اضافه کردن گروهی از سلول‌ها به پلاکت تغلیظ شده تأثیر قابل توجهی در بازسازی بافت‌ها والتیام زخم‌ها مشاهده شد. در ابتدا اصلاحات بیش‌تر در سرعت و زمان سانتریفیوژ، PRF را بهبود بخشید. محققان تکنیک‌های جراحی را با درمان مطلوب بیماران به کمک PRF و پیشرفت نتایج کلینیکی بهبود دادند. دراین مقاله،کشفPRF و مطالعات مربوط به اولین کاربرد آن درregenerative medicine و به‌خصوص بر روی نقش آن در بهبود زخم و فواید آن به نسبت نمونه‌های قبلیِ پلاکت تغلیظ شده و افزایش پتانسیل بازسازی آن تمرکز می‌شود.

واژگان کلیدی: فیبرین گلو، پلاسمای غنی از پلاکت، پلاکت‌های غنی از فاکتور رشد، فیبرین‌های غنی از پلاکت.

* گروه سلول‌های بنیادی مزانشیمال، جهاد دانشگاهی قم (naserkalhor@gmail.com).

** محسن شیخ حسن، دانشجوی دکترا گروه سلول‌های بنیادی مزانشیمال، جهاد دانشگاهی قم.

*** گروه سلول های بنیادی مزانشیمال،جهاددانشگاهی قم.

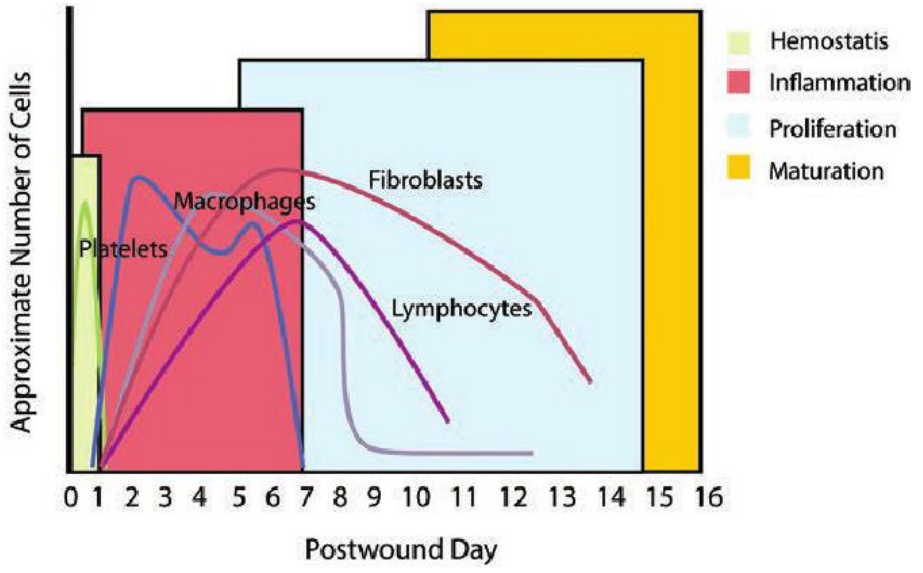
**** گروه سلول های بنیادی مزانشیمال،جهاددانشگاهی قم.

مقدمه

التیام زخم‌ها، فرآیند بیولوژیکی پیچیده‌ای است که در آن، وقایع سلولی زیادی، همزمان برای ترمیم یا بازسازی بافت‌های آسیب دیده همکاری می‌کنند[۱ , ٤]. تلاش‌های بسیاری در زمینهٔ بازسازی بافت با هدف ترمیم، بازسازی و بازیابی بافت‌های آسیب دیده یا بیمار انجام شده است[همان]. این اعمال شامل به کارگیری استراتژی‌هایی با مواد خارجی چون آلوگرافت‌ها، زنوگرافت‌ها یا آلوپلاست‌های سنتز شده برای بازسازی بافت‌های میزبان است[همان]؛ در حالی بسیاری از این مواد در زمینه‌های مختلف پزشکی بازساختی کاربرد دارند. باید به این نکته توجه کرد که این مواد وارد شده به بافت‌های میزبان انسانی، در بدن نسبت به خود واکنشی ایجاد می‌کنند.

پلاکت تغلیظ شدهٔ جمع‌آوری شده از خون سالم، ۲۰ سال پیش برای اولین بار معرفی شد. این امر با هدف به کارگیری پروتئین‌های خون انسان به عنوان منبع فاکتورهای رشد برای رگزایی و رشد بافت بر اساس این مفهوم که رسیدن خون برای بازسازی بافت ضروری است؛ توسعه داده شد [٥]. التیام زخم شامل ٤ مولفهٔ کلیدی برای بازسازی موفقیت آمیز بافت است که در شکل ۱/۱ توضیح داده شده است. این مولفه‌ها عبارتند: ۱. هموستازی، ۲. التهاب، ۳. تکثیر، ٤. بلوغ. هر فاز شامل انواع مختلفی سلول است. یکی از مضرات اصلی این مواد زیستی مورد استفاده در مهندسی بافت این است که اکثر آن‌ها به صورت طبیعی آواسکولار یا مرگ سلولی (نکروز) ناشی از تداخل در خونرسانی می‌شوند. بنابراین، رگ‌های ضروری برای بازسازی موفقیت‌آمیز بافت‌های نرم یا سخت ایجاد نمی‌شوند. [٥].

شکل ۱-۱. چهار فاز بهبود زخم، شامل ۱. هموستازی، ۲. التهاب، ۳. تکثیر و ۴. بلوغ . این نکته قابل توجه است که بین هر یک از فاز ها و تعداد سلول‌ها در آن‌ها روابطی وجود دارد. لنفوسیت‌ها در ۷ روز به حداکثر می‌رسند. توانایی PRF در تهیه تعداد زیادی از این سلول‌ها در روز اول، باعث افزایش سرعت ترمیم در این فرآیند می‌شود.



تـو

جه به این نکته لازم است که بهبود زخم‌ها به ارتباط پیچیده بین سلول‌های مختلف با یک ماتریکس خارج سلولی سه بعدی و همچنین فاکتورهای رشد محلول با قابلیت تسهیل بازسازی بافت نیازمند است[٦]. مطمئناً یکی از زمینه‌های تحقیقاتی که اخیراً به شدت مورد توجه قرار گرفته، مطالعه بر روی فاکتورهای رشد نوترکیب است که برای بازسازی بافت‌های نرم و سخت مورد استفاده قرار می‌گیرند [٩٧].جدول ١/١ نمایه‌ای از فاکتورهای رشد تأیید شده را به انضمام نقش آن‌ها در بازسازی بافت و علائم بالینی آن‌ها نشان می‌دهد. به طور مشابه barrier membraneها با عملکرد ها و خواص جذبی متفاوت که از مواد مصنوعی یا حیوانی ساخته شده‌اند، در دندانپزشکی بازساختی به کارگرفته می‌شوند[١٠] .

جدول ١ـ١ : نمایه‌ای از فاکتورهای رشد مورد استفاده در بازسازی نقص‌های فرااستخوانی پریودنتال به همراه مزایا و معایب آن

فاکتور رشد	مزایا	معایب
فاکتور مشتق شده از ماتریکس Enamel	ـ نمو ریشه‌ای را تقلید می‌کند. ـ پروتئین‌های آملوژنین چسبندگی سلول‌های PDL و تکثیر و تمایز را بهبود می‌بخشند ـ تا چهار هفته پس از جراحی به سطح ریشه جذب می‌شود ـ با تشکیل فیبرهای Sharpey باعث بازسازی پریودنتال می‌شود	– فرمولاسیون ژل نمی‌تواند از فروپاشی (collapse) جلوگیری کند. ـ میزان جذب آن به مواد دیگر نامطلوب است.
فاکتور رشد کنترل کننده پلاکت	- فاکتورهای رشدی با قوی‌ترین پتانسیل برای احیای سلول‌های progenitor - توانایی تکثیر بالا	- نیاز به وجود یک سیستم حامل نداشتن عملکرد خاص در بازسازی پریودنتال
پروتئین‌های مورفوژنتیک استخوان	- فاکتور رشد با بالاترین توانایی برای بازسازی استخوان‌های حفره دار - پتانسیل استفاده برای سلول‌های مزانشیمی و تکثیر سلولی	-تمایل شدید به ankylosis -کمبود تکنیک‌های کلینیکی نشان دهندهٔ تأثیر آن در بازسازی پریودنتال
فیبرین و پلاسمای غنی از فیبرین	-غلظت فوق العادهٔ فاکتورهای رشد – داشتن منبع اتولوگ -وجود تولید کننده‌های مختلف و	- وجود ضد انعقاد - نیاز به استفاده از مواد گرافت استخوانی

	فرآوری ساده	
فاکتور۵ رشد و تمایز	-امنیت و کارایی بالای کلینیکی - بهبود بازسازی پریودنتال	-احتیاج به تکنیک‌های کلینیکی بیش‌تر برای تأیید نتیجه

هرساله مواد پیوند استخوان به بازار عرضه می‌شوند و هریک فواید و مضرات خاص خود را در بازسازی بافت‌ها دارد. مشخص شده است که هریک از مواد زیستی پیش گفته، پروتئین‌هایی ضروری را برای ترمیم و بازسازی بافت‌های مختلف حفره دهانی داشته و تعداد کمی از فرآیند ها توانایی بهبود در رگزایی و رساندن خون به بافت‌های آسیب دیده را دارند.

پلاکت‌ها یکی از اجزای کلیدی تأثیرگذار بر فازهای اولیهٔ بازسازی بافت هستند که در هموستازی و توده‌ای شدن فیبرین‌ها اهمیت دارند[٦]. همچنین مشخص شده است که پلاکت‌ها فاکتورهای رشدی از قبیل فاکتور رشد مشتق شده پلاکت (PDGF) ، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (VEGF) ، فاکتورهای انعقادی، مولکول‌های چسبنده ، سیتوکین‌ها و کموسیتوکین‌ها، و انواع دیگری از فاکتورهای رگزایی مستعد در تحریکِ تکثیر و فعال سازی سلول‌هایی چون فیبروبلاست‌ها، نوتروفیل‌ها،ماکروفاژ ها، و سلول‌های بنیادی مزانشیمی (MSCs) را ترشح می‌کنند [۱۱].

از اواسط تا اواخر دههٔ ۱۹۹۰ ، دو استراتژی جداگانه برای بازسازی بافت‌های انسانی وجود داشت: ابتدا فاکتور رشد اصلی ترشح شده از پلاکت‌ها (PDGE) به صورت یک فاکتور رشد نوترکیب (rhPDGFBB) تجاری سازی شده بود و توسط FDA برای بازسازی بافت‌های متعدد انسانی، چون نقص های استخوانی در پریودنتولوژی مورد پذیرش واقع شده و دومین استراتژی در همان زمان به جمع‌آوری دوزهای فرافیزیولوژیکی پلاکت توسط سانتریفیوژ پرداخته بود. از آن جا که خون به صورت طبیعی پس از چند دقیقه لخته می‌شود، مواد ضد انعقاد برای نگه داشتن غلظت خون به این فرآیند اضافه شدند. همبستگی مثبت بین تعداد پلاکت‌ها و روند بازسازی در بهبود زخم‌ها وجود دارد. در واقع، مشخص شده است که ترکیبات ساده مواد پیوندی استخوان و خون، باعث افزایش رگزایی و شکل گیری استخوان جدید می‌شوند [۱۲]. براساس این یافته‌ها، گروه‌های تحقیقاتی زیادی در دهه ۱۹۹۰ و در بسیاری از حوزه‌های پزشکی، مطالعهٔ تأثیرات پلاکت غلیظ شده بر روی بهبود زخم‌ها را با استفاده از تکنیک‌های متفاوت سانتریفیوژ و پروتوکل‌ها با هدف پیشرفت بازسازی بافت آغاز کردند.

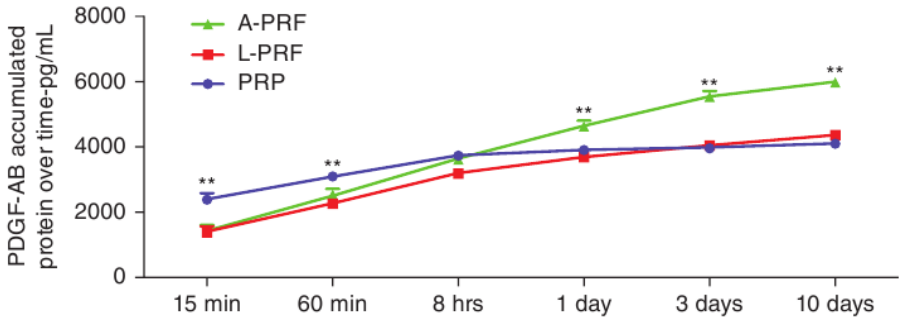
۲ـ ۱. تاریخچهٔ مختصر پلاکت غلیظ شده

استفاده از پلاکت غلیظ شده تا زمانی که PRF کشف شد، از رونق فراوانی برخوردار بود و فاکتورهای رشد خون برای بیش از دو دهه در پزشکی مورد استفاده قرار گرفتند [۱۳]. اولین تلاش‌ها برای استفاده از فاکتورهای رشد پلاکت غلیظ شده به این علت بود که دوزهای فرا فیزیولوژیکی آن می‌توانست ترمیم زخم‌ها و عواقب جراحی را بهبود بخشد [۱۴, ۱۵] . این مفاهیم بعدها به "پلاسمای غنی از پلاکت" (PRP) تغییر پیدا کرد. پلاسمای غنی از پلاکت در دهه ۱۹۹۰ در دندان پزشکی از سوی دانشمندان و پزشکانی همچون Whitman و marx ساخته شد[۱۶,۱۷]. هدف اصلی PRP جداکردن مقدار زیادی پلاکت و فاکتور رشد و استفاده مجدد از آن‌ها در جراحی‌ها بود. پروتکل‌ها بر اساس شیوه جمع‌آوری، به ۳۰ دقیقه تا بالای ۱ ساعت زمان احتیاج داشت. به خوبی مشخص شده بود که ۹۵% ترکیبات این ماده از پلاکت‌ها، سلول‌های تأثیرگذار بر روی استئوبلاست‌ها، سلول‌های بافت همبند، سلول‌های عضلانی پریودنتال و سلول‌های اپیتلیال تشکیل شده است [۱۸,۱۹].

با وجود این موفقیت روزافزون و استفاده از PRPها در سال‌های اولیه پس از کشف آن؛ چند مورد از محدودیت‌های آن نیز گزارش گردید. این تکنیک زمان بر بود. بنابراین، به استفاده از فاکتورهای ضد انعقادی برای جلوگیری از توده‌ای شدن نیاز داشت. برای این کار از ترومبین گاوی و CaCl۲ استفاده می‌شد که هردو آن‌ها مهارکنندهٔ بهبود زخم بودند. این تکنیک با وجود این ایرادها در ترکیبات و زمان آماده سازی طولانی مکررا در جراحی‌های استخوانی صورت مورد استفاده قرار گرفت؛ با وجود این که پزشکان و دندان پزشکان به علت زمان طولانی آماده سازی در برابر آن مقاومت می‌کردند.

یکی دیگر از مشکلات PRP این بود که این ماده به صورت طبیعی مایع است. بنابراین، ترکیبات آن باید با یک ماده زیستی دیگر، مانند گرافت استخوان انسانی (آلوگرافت) یا محصولات حیوانی (زنوگرافت) و دیگر محصولات غیرطبیعی ترکیب شوند. بسیاری از اطلاعات کنونی به دست آمده از آزمایشگاه‌ها آزادشدن ناگهانی فاکتورهای رشد از PRP را نشان می‌دهند (شکل۱و۲) [۲۰].

به طور خلاصه، این محدودیت‌های موجود، محققان را به یافتن یک مدل دیگر برای کمک به بازسازی موفق بافت‌ها وادار کرد. پلاکت تغلیظ شده نسل دوم، بدون استفاده از مواد ضد انعقاد با زمان آماده سازی کوتاه‌تر فیبرین غنی از پلاکت (PRF) نام گرفت [۲۳]. در این روش، بسیاری از سلول‌ها (که امروزه شامل لوکوسیت‌های اضافه شده می‌باشند) به همراه پلاکت‌ها در ماتریکس فیبرینی به دام می افتند .PRF[۲۴] (که بعدها به علت وجود محتوای لوکوسیتی L-PRF یا PRF لکوسیت نام گرفت) از سلول‌های مختلفی تشکیل شده است که بر فرایند بازسازی بافت مؤثر است.



شکل ۲ـ۱. فاکتورهای رشد آزاد شده از PDGT-AB از A-PRF ، L-PRF و PRP.

در ابتدا فاکتورهای رشد آزاد شده از PRP بالاست، در حالی که پس از ۱۰ روز ، فاکتورهـای رشـد آزاد شـده از A-PRF (P<۰/۰۱) به طورقابل توجهی بیش‌تر است. (Kobayashi و همکاران، [۲۰]۲۰۱۶).

۳ـ۱. تهیه و جداسازی PRP و PRF

به منظور تهیه PRP، حدود ۸/۵ سی سی نمونه خون از ورید فرد اخذ گردیده و در داخل لوله‌های حاوی مواد ضـد انعقاد به مقدار ۱/۵ سی سی ریخته شد. سپس کل نمونه (۱۰ سی سی) به مدت ۱۰ دقیقه بـا دور ۱۸۰۰ در دقیقـه تحت سانتریفوژ قرار گرفت. پلاسمای کدر فوقانی در لوله دیگری که حاوی ۰/۵ سی سی ماده ضد انعقـاد اسـت، اضافه می‌شود و مجدداً ۱۰ دقیقه تحت سانتریفوژ ۳۶۰۰ دور در دقیقه و به مـدت ۱۰ دقیقـه قـرار گرفـت. پـس از انجام سانتریفوژ، لایه بالایی تشکیل شده در لوله دور ریختـه شـد و حـدود ۱ سـی سـی آن‌هـایی کـه حـاوی PRP حاصله است، مورد استفاده قرار می‌گیرد.

جهت تهیه PRF، حدود ۱۰ سی سی خون وریدی از فـرد دریافـت و در لولـه بـدون مـاده ضـد انعقـاد اضـافه می‌شود. نمونه خون تحت سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه، به مدت ۱۰ دقیقـه قـرار گرفـت و سـپس لختـه PRF ایجاد شده توسط پنس استریل جدا می‌شود و مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۳ـ۲ برتری‌های PRF نسبت به PRP

در اوایل سال ۲۰۰۰، تمرکز تحقیقات بر Pain Clinic in Nice, France ، تلاش برای حل مشکلات بیماران دارای جراحت‌های عمیق بود که اغلب زخم‌های بزرگ و مزمنی را باقی می‌گذارنـد. در ایـن زمـان، گروه‌هـای تحقیقـاتی خاصی پیشنهاد کردند PRP که برای به کارگیری دوزهای فرافیزیولوژیک فاکتورهای رشد مورد استفاده قرار می‌گیرد،

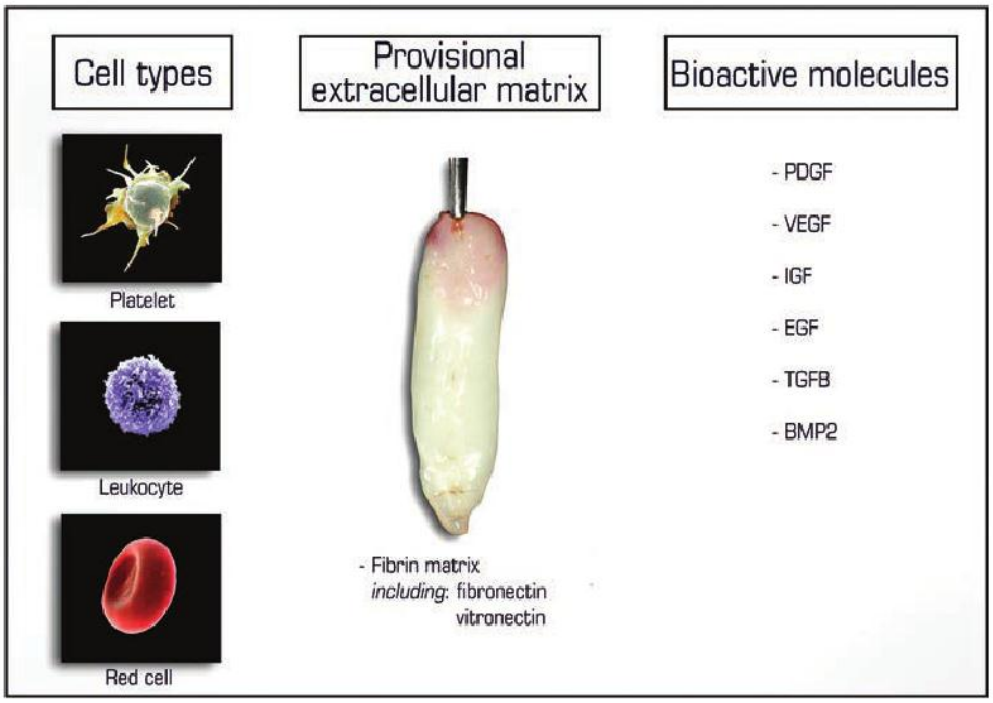
ممکن است بتواند بر بهبود جراحات مؤثر باشد. با وجود این، میل به بهبود بخشیدن به پلاکت غلیظ شده جدید و بدون ضد انعقاد (که بهبود زخم را مهار می‌کرد) هدف اصلی بود. تحقیقات بعدی در همان سال‌ها، باعث پیشرفت پلاکت غلیظ شدهٔ نسل دوم بدون استفاده از ضد انعقاد شد[۲۳] . پروتکل جدید از یک روش سانتریفیوژ ساده‌تر استفاده می‌کرد که فقط به یک چرخهٔ ۱۲ دقیقه‌ای در rpm ۲۷۰۰ (۷۵۰g) نیاز داشت. هدف اصلی چرخیدن در سانتریفیوژ با سرعت بالا جداسازی گلبول‌های قرمز و مایع شفاف رویی، شامل پلاسما و لکوسیت‌ها بود. از آن جا که هیچ ماده ضد انعقادی مورد استفاده قرار نگرفته بود، در نتیجهٔ این کار، یک داربست سه بعدی فیبرینی به وجود آمد که PRF نامیده شد[۲۵،۲۷].

تحقیقات بعدی گروه‌های مختلف در سراسر جهان، تأثیر گلبول‌های سفید خونی موجود در ماتریکس فیبرینی را بر فرآیند بهبود زخم‌ها نشان می‌دهند. زمانی که در جراحی‌ها از PRF استفاده می‌شد، ایمنی نسبت به پاتوژن‌های خارجی بهبود می‌یافت و نتایج کلینیکی سطح پایین‌تری از عفونت را نشان می‌داد [۲۸،۳۳]. به علاوه، ماکروفاژها و نوتروفیل‌های موجود در PRF، اولین سلول‌هایی هستند که به طور طبیعی در زخم دارای عفونت پدیدار می‌شوند. به همین دلیل، استفاده از PRF در جراحی‌ها، تعداد آن‌ها را در مراحل اولیه بهبود افزایش می‌دهد و در فاگوسیت کردن زواید، میکروب‌ها و بافت‌های مرده و کمک به بازسازی بافت در آینده، از طریق آزاد سازی سیتوکین‌ها و فاکتورهای رشد، نقش اساسی ایفا می‌کند.

ترکیبات اصلی PRF، به عنوان ترکیباتی کلیدی برای ترمیم بافت‌ها به شمار می‌روند. همان طور که در شکل ۱ـ۳ نشان داده شده است، PRF ها نه تنها شامل سلول‌های میزبان هستند، بلکه از یک ماتریکس فیبرینی ۳ بعدی که فاکتورهای رشد را به همراه دارد نیز تشکیل شده است. این عوامل یک فاکتور بتای تغییر شکل یافته (TGF-beta) ، PDGF و VEGF ، فاکتور رشد انسولین (IGF) و فاکتور رشد اپیدرم (EGF) را شامل می‌شوند. تحقیقات اخیر نشان می‌دهند که لکوسیت‌ها باعث فرآیند بهبود زخم و رگزایی و شکل‌گیری بافت‌ها می‌شوند [۲۵،۲۷،۳۰،۳۴].

اخیراً مشخص شده است که PRF بر بهبود جراحات صعب‌العلاج پا، همچون زخم‌های دیابتی پا، زخم‌های سیاهرگی و جراحات مزمن پا تأثیر به سزایی دارند [۳۵ , ۳۹]. همچنینPRF نتایج مثبتی در بهبود جراحات دست [۴۰]، مشکلات بافت‌های نرم صورت[۴۱]، [۴۲]laparoscopic cholecystectomy، شکاف عمیق بینی، مناطق کم عمق قدیمی به جا مانده، آسیب‌های صورت، ریتیدهای سطحی و جای جوش‌ها نشان دادند[۴۳]. همچنین کاربرد آن‌ها در کلاژناز پوستی [۴۴]، ترمیم افتادگی واژینال [۴۵]، ترمیم فیستول [۴۶،۴۷] ، روش‌های جراحی لیپوساختار[۴۸] ، بهبود روتاتورکاف مزمن [۴۹] ، و آسیب دیدگی گوش و حلق و بینی مزمن [۵۰] تأیید شده

است. با افزایش رسیدن خون به محل آسیب دیده، بدون توجه بـه علـت آن، بهبـود زخـم و تـرمیم بافـت افـزایش می‌یابد. PRF سه ویژگی مهم برای بازسازی بافت‌ها دارد: ۱. ایجاد یک داربست سه بعدی؛ ۲. وجـود سـلول‌هایی از قبیل لوکوسیت‌ها، ماکروفاژ ها، نوتروفیل‌ها و پلاکت‌ها؛ ۳. محافظت از فاکتورهای رشدی که ممکـن اسـت در یک دوره ۱۰ تا ١٤ روزه آزاد شوند. هم‌اکنون تحقیقات نشان می‌دهند که تمـام ایـن ویژگی‌هـا بـرای بهبـود زخـم و بازسازی بافت توسط PRF دارای اهمیت اند.



شکل ۳/۱. سه جزء اصلی PRF شامل ۱. انواع سلول ها(پلاکت‌ها، لکوسـیت‌ها و گلبول‌هـای قرمـز)؛ ۲. یـک مـاتریکس خارج سلولی موقتی داربستی و سه بعدی، مشتق شده از فیبرین (شامل فیبرونکتین و ویترونکتین)؛ ۳. بـیش از صـد مولکـول فعـال زیستی مانند PDGF ، VEGF، IGF، EGF، TGF-beta ، و BMP۲ . (منبع: Miron و همکاران، [٥٤]۲۰۱٦).

٤ـ۱. مهم‌ترین سلول‌های موجود در PRF

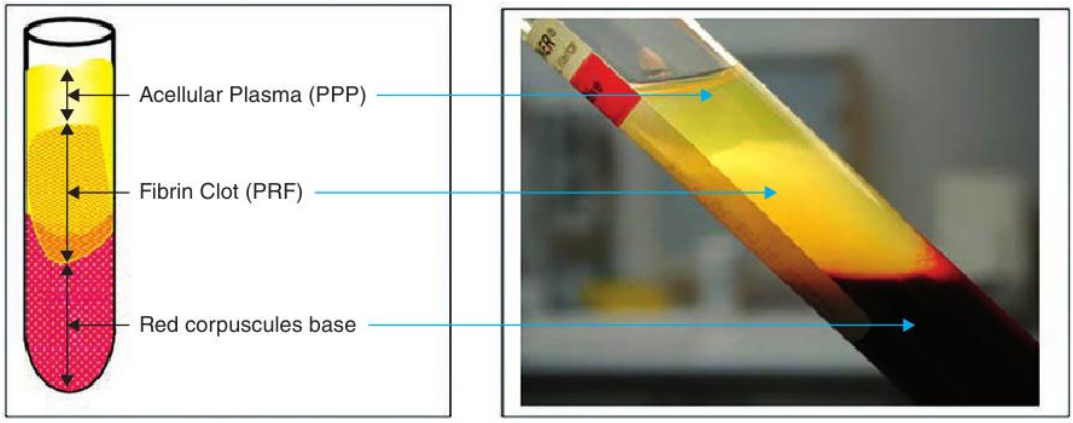
PRF از پلاکت‌ها، لکوسیت‌ها، ماکروفاژ ها، گرانولوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها تشکیل شده است. طی سانتریفیوژ، اکثر این سلول‌ها در ماتریکس سه بعدی فیبرینی به دام می‌افتند. تنها اضافه کردن خون به مواد زیستی استخوانی، بهبـود رگزایی زخم را نشان می‌دهد [۱۲]. یکی از تفاوت‌های اصلی بین PRF و PRP استفاده شده، وجـود لکوسـیت‌ها در PRF است که چندین مطالعه مقاومت آن‌ها را در برابر پاتوژن‌ها در مبارزه با عفونت و اهمیت آن‌ها در تنظیم ایمنـی

نشان می‌دهند. [۵۱ ,۵۳]؛ به علاوه آن‌ها نقشی کلیدی در اتصال مواد زیستی به بافت‌های میزبان ایفا می‌کنند. [۵٤,۳۳,۳۱]. با توجه به فواید گفته شده در مورد لوکوسیت‌ها، عجیب نیست که عصارهٔ یک سوم مولار آن، عفونت‌های استئومیلیت را تا ۱۰ برابر کاهش داده و باعث بهبود زخم‌ها شده است [۵۵]. بنابراین، تأثیر سلول‌های اتولوگ موجود در PRF ، به خصوص لکوسیت‌ها، یکی از مزیت‌های اصلی آن در درمان به شمار می‌رود.

٤ـ۲. ماتریکس فیبرینی طبیعی و اهداف بیولوژیک آن

دومین تفاوت عمدهPRF با PRP ، فقدان مادهٔ ضد انعقاد به دلیل وجود ماتریکس فیبرینی است (شکل٤ــ ۱) . به صورت طبیعی، در نبود ضدانعقاد ها، خون لخته می‌شود و به همین علت خون باید بلافاصله بعد از سانتریفیوژجمع‌آوری شود. پروتکل‌های اولیه به این صورت بودند که ml ۱۰ خون جمع‌آوری و به مدت ۱۲ دقیقه در rpm ۲۷۰۰ (۷۵۰g) سانتریفیوژ می‌شد.

بنابراین، ماتریس فیبرینی به عنوان حامل فاکتورهای رشد و سلول‌ها از ویژگی‌های اصلی PRF به شمار می‌رود و به شکل یک عامل کلیدی در بهبود زخم‌ها عمل می‌کند.



شکل ٤ـ۱. توده شکل گرفتهٔ فیبرین غنی از پلاکت(PRF)، پس از سانتریفیوژ در بالاترین لایه

۴ ـ ۳. سیتوکین‌ها از اجزای PRF هستند

سومین مزیت PRF این است که این ماده فاکتورهای رشد طبیعی یافت شده در خون را شامل می‌شود. PRF حاوی TGF-beta است که یک عامل شناخته شدهٔ مسئول در تکثیر سریع انواع سلول‌ها در حفرهٔ دهانی است [۵۷,۵٦]. فاکتور رشد اصلی دیگر، PDGF است که یک تنظیم کنندهٔ حیاتی برای مهاجرت، تکثیر و بقای سلول‌های مزانشیمی است. سومین فاکتور رشد مهم موجود در PRF ، VEGF است که مسئول رگزایی و خون رسانی به

بافت‌های آسیب دیده است[۵۸]. PRF همچنین فاکتورهای رشد اپیدرمال و فاکتور رشد شبه انسولین را شامل می‌شود که این فاکتورها مسئول تنظیم تکثیر و تمایز انواع سلول‌ها هستند.

PRF ترکیبی است از: ۱. سلول‌های میزبان، ۲. ماتریکس فیبرینی سه بعدی، ۳. فاکتورهای رشدی که به بهبود سریع‌تر و بهتر زخم و بازسازی بافت کمک می‌کنند.

٤ـ٤. تأثیر PRF بر روی رفتار پریستئوم

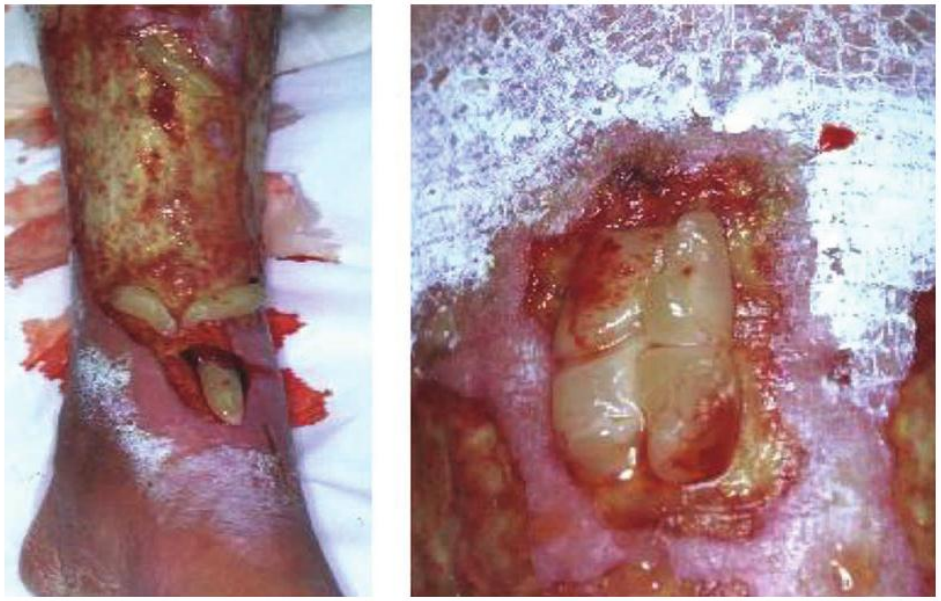
یکی از ویژگی‌های بیولوژیکی مشاهده شده در بیش‌تر تکنیک‌های جراحی به کمک PRF ، تحریک قابلیت ارائه خون در پریستئوم بود. در حضورPRF، ارائه خون به بافت‌های نرم کراتینی بافت‌های استخوانی زیرین بهبود می‌یابد و یکی از فعالیت‌های کلیدی PRF است که به وسیله آن تولید فاکتورهای رشد تحریک و در یک دوره طولانی در قسمت مربوط رها می‌شود.

٥ـ١. اولین نمونه‌های درمان شده با PRF

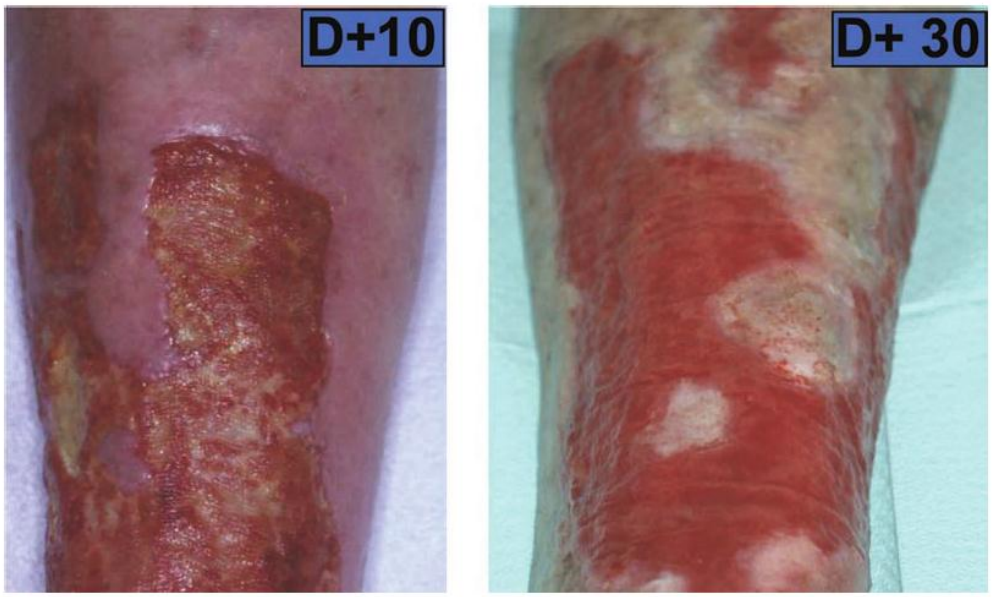
زخم‌های پا در بیماران دیابتی، معمولاً به قطع عضو منجر می‌شود. بیماری با نکروز پوستی به علت سندورم Lyell با درمان آنتی بیوتیکی بارها شکست خورده است (شکل ۱/۵). پس از سال‌ها، علم نشان داد که عفونت، اغلب یک مشکل ثانویه است که از ارائهٔ ضعیف خون ناشی می‌شود. بنابراین، برای بهبود نتایج درمانی، تلاش می‌شود که از توده‌های PRF در درمان این نقص‌ها استفاده شود (شکل ۱/٦). ایده مورد استفاده برای این روش آن بود که با استفاده از دوز های فرافیزیولوژیکی فاکتورهای رشد خون، توانایی تولید خون در این بافت‌ها افزایش یابد. زخم‌هایی که در ابتدا با PRF و تارهای پلاستیکی Saran پوشانده شدند، در ده روز اول بهبود را شروع کردند و عفونت در آن‌ها ناپدید شد. طی ۳۰ روز بهبود کلینیکی به خوبی مشاهده شد که دستیابی به آن فقط با به کارگیری PRF، حتی در غیاب آنتی بیوتیک‌ها ممکن شده بود (شکل ۱/۷). نتایج کلینیکی مشابهی نیز در بهبود دیگر زخم‌های صعب‌العلاج پا مشاهده شد. به کار بردن PRF به تنهایی می‌تواند تولید دوبارهٔ خون در این بافت‌های آسیب دیده و در نتیجه افزایش قابل توجه ترمیم و بازسازی آن‌ها را باعث شود. (شکل ۱/۸ و ۱/۹). نکتهٔ قابل توجه در این روش، توانایی طبیعی بدن در درمان آسیب‌ها به کمک خون است.

به دنبال این درمان‌های اولیه، کاربرد های PRF در بسیاری از حوزه‌های پزشکی مشخص شد. متخصصان تلاش می‌کنند از PRF در شیوه‌های مختلفی در دندانپزشکی استفاده کنند.

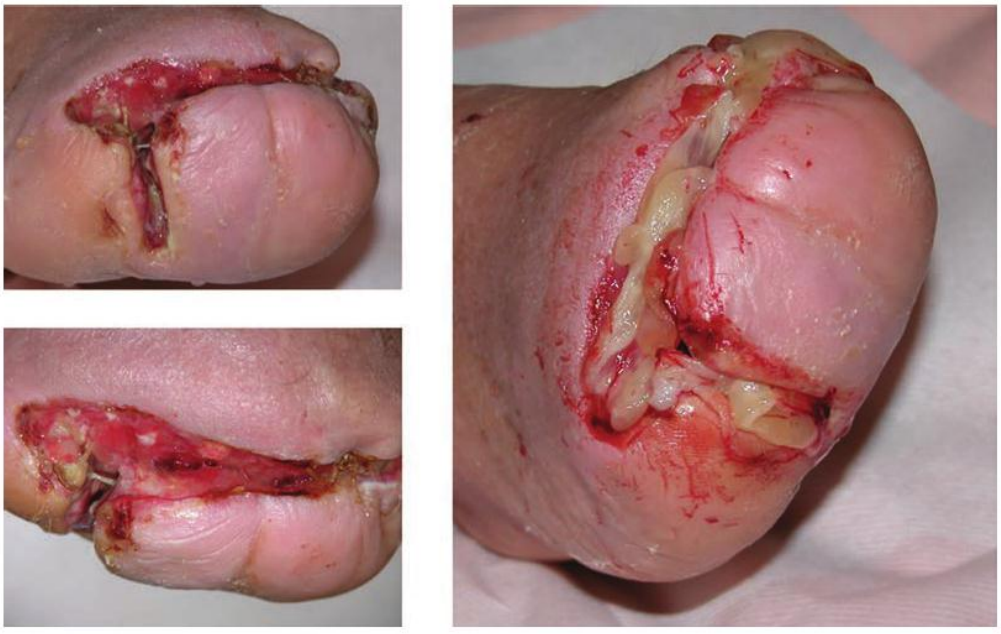
شکل ۵ ـ۱. بیمار حاضر در Pain Clinic در Nice ، با سندروم Lyell. درمان با آنتی بیوتیک در همهٔ موارد اثربخش نیست. (نمونه تحت نظر Dr . JosephChoukroun).



شکل ٦ـ۱. بیمار شکل ۱/۵ دارای سندروم Lyell تحت درمان با PRF. غشاهای PRF بر روی زخم قرار داده و با یک پوشش پلاستیکی پوشیده و به آن فرصت داده شد بدون استفاده از آنتی بیوتیک‌ها درمان شود (نمونه تحت نظر Dr. JosephChoukroun).



شکل ۷ـ۱. بیمار شکل ۱/۵ و ۱/۶ دارای سندروم Lyell درمان شده با PRF. بعد از ۱۰ و ۳۰ روز درمان. به رگزایی و بهبود زخم‌ها در بافت توجه کنید (بیمار تحت نظر Dr. JosephChoukroun).



شکل ۸ ـ۱. قطع عضو دیابتی پا بعد از ۱۵ روز. عکس سمت راست تودهٔ PRF به کاربرده شده در زخم را نشان می‌دهد (نمونه تحت نظر Dr. JosephChoukroun).

شکل۹ـ ۱. قطع عضو دیابتی پا (بیمار شکل ۱/۸)، ۷ روز و ۳۰ روز پس از درمان (نمونه تحت نظر Dr. JosephChoukroun).

٦ـ۱. نتیجه

استفاده از PRF، هم اکنون نسبت به اولین استفادهٔ کلینیکی آن در درمان زخم‌های صعب العلاج پا و جراحات، بسیار گسترش یافته و طرفداران فراوانی پیدا کرده است. یکی از مزیت‌های اصلی نسل دوم پلاکت تغلیظ شده، عدم ضد انعقاد یا هر محصول غیرطبیعی دیگری برای جلوگیری از انعقاد است. بنابراین، این ماده کاملاً اتولوگ و طبیعی است.PRF از سه بخش مهم برای بازسازی بافت‌ها تشکیل شده است: ۱. سلول‌های میزبان؛ ۲. ماتریس فیبرینی سه بعدی؛ ۳. مجموعه‌ای از فاکتورهای رشد. آثار قابل توجه آن نیز در دندانپزشکی و بهبود بافت‌های نرم بسیار قابل توجه است. تحقیقات برای دستیابی به ترکیبات بهتر PRF و تکنیک‌های کلینیکی برای گرفتن نتایج بهتر از بازسازی بافت‌ها همچنان ادامه دارد.

References

۱. Coury AJ. Expediting the transition from replacement medicine to tissue engineering. Regenerative biomaterials. ۲۰۱٦; ۳(۲):۱۱۱–۳.

۲. Dai R, Wang Z, Samanipour R, Koo KI, Kim K. Adipose-Derived Stem Cells for Tissue Engineering and Regenerative Medicine Applications. Stem cells international. ۲۰۱٦; ۲۰۱٦:٦۷۳۷۳٤٥.

۳. Rouwkema J, Khademhosseini A. Vascularization and Angiogenesis in Tissue Engineering: Beyond Creating

Static Networks. Trends Biotechnol. ۲۰۱٦.

٤. ZhuW, Ma X, GouM, Mei D, Zhang K, Chen S. ۳D printing of functional biomaterials for tissue engineering. Current opinion in biotechnology. ۲۰۱٦; ٤۰:۱۰۳–۱۲.

٥. Upputuri PK, Sivasubramanian K, Mark CS, Pramanik M. Recent developments in vascular imaging techniques in tissue engineering and regenerative medicine. BioMed research international. ۲۰۱٥; ۲۰۱٥:۷۸۳۹۸۳.

٦. Guo S, Dipietro LA. Factors affecting wound healing. J Dent Res. ۲۰۱۰;۸۹(۳): ۲۱۹–۲۹.

۷. Gosain A, DiPietro LA. Aging and wound healing.World journal of surgery. ۲۰۰٤;۲۸(۳):۳۲۱–٦.

۸. Eming SA, Brachvogel B, Odorisio T, Koch M. Regulation of angiogenesis: wound healing as a model. Progress in histochemistry and cytochemistry. ۲۰۰۷;٤۲(۳):۱۱٥–۷۰.

۹. Eming SA, Kaufmann J, Lohrer R, Krieg T. [Chronic wounds. Novel approaches in research and therapy]. Der Hautarzt; Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete. ۲۰۰۷;٥۸(۱۱): ۹۳۹–٤٤.

۱۰. Zhang Y, Zhang X, Shi B, Miron R. Membranes for guided tissue and bone regeneration. Annals of Oral &

Maxillofacial Surgery. ۲۰۱۳;۱(۱):۱۰.

۱۱. Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. Thrombosis and haemostasis. ۲۰۱۱;۱۰٥ Suppl ۱:S۱۳–۳۳.

۱۲. BarbeckM, Najman S, Stojanovic S, Mitic Z, Zivkovic JM, Choukroun J, et al. Addition of blood to a phycogenic bone substitute leads to increased in vivo vascularization. Biomedical materials (Bristol, England). ۲۰۱٥;۱۰(٥):۰٥٥۰۰۷.

۱۳. de Vries RA, de Bruin M, Marx JJ, Hart HC, Van deWiel A. Viability of platelets collected by apheresis versus the platelet-rich plasma technique: a direct comparison. Transfusion science. ۱۹۹۳; ۱٤(٤):۳۹۱–۸.

۱٤. Anfossi G, Trovati M, Mularoni E, Massucco P, Calcamuggi G, Emanuelli G. Influence of propranolol on platelet aggregation and thromboxane B۲ production from platelet-rich plasma and whole blood. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. ۱۹۸۹;۳٦(۱):۱–۷.

۱٥. Fijnheer R, Pietersz RN, de Korte D, Gouwerok CW, DekkerWJ, Reesink HW, et al. Platelet activation during preparation of platelet concentrates: a comparison of the platelet-rich plasma and the buffy coat methods. Transfusion. ۱۹۹۰;۳۰(۷):٦۳٤–۸.

۱٦. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. Journal of oral and maxillofacial surgery. ۱۹۹۷;٥٥(۱۱): ۱۲۹٤–۹.

۱۷. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology. ۱۹۹۸;۸۵(٦): ٦۳۸–٤٦.

۱۸. Jameson C. Autologous platelet concentrate for the production of platelet gel. Lab Med. ۲۰۰۷;۳۸:۳۹–٤۲.

۱۹. Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons. ۲۰۰٤;٦۲(٤):٤۸۹–۹٦.

۲۰. Kobayashi E, Fluckiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. Clinical oral investigations. ۲۰۱٦.

۲۱. Lucarelli E, Beretta R, Dozza B, Tazzari PL, O'Connel SM, Ricci F, et al. A recently developed bifacial platelet-rich fibrin matrix. European cells & materials. ۲۰۱۰; ۲۰:۱۳–۲۳.

۲۲. Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. Annals of maxillofacial surgery. ۲۰۱۱;۱(۱):٥۳–۷.

۲۳. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunit´e en paro-implantologie: le PRF. Implantodontie. ۲۰۰۱;٤۲(٥٥):e٦۲.

۲٤. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell

composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. Journal of periodontology. ۲۰۱۰;۸۱(٤):٥٤٦–٥٥.

۲٥. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. ۲۰۰٦; ۱۰۱(۳):e٥٦–٦۰.

۲٦. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. ۲۰۰٦;۱۰۱(۳):e۳۷–٤٤. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. ۲۰۰٦;۱۰۱(۳):e٤٥–٥۰.

۲۷. Martin P, Leibovich SJ. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. Trends in cell biology. ۲۰۰٥; ۱٥(۱۱):٥۹۹–٦۰۷.

۲۸. Tsirogianni AK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM.Wound healing: immunological aspects. Injury. ۲۰۰٦;۳۷ Suppl ۱:S٥–۱۲.

۲۹. Adamson R. Role of macrophages in normal wound healing: an overview. Journal of wound care. ۲۰۰۹;۱۸(۸):۳٤۹–٥۱.

۳۰. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, ClafshenkelWP, Cairone JV, et al. Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: workable options for every size practice. The Journal of oral implantology. ۲۰۱٤;٤۰(٤):٥۰۰–۱۰.

۳۱. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, ClafshenkelWP, Cairone JV, et al. Platelet-rich preparations to improve healing. Part II: platelet activation and enrichment, leukocyte inclusion, and other selection criteria. The Journal of oral implantology. ۲۰۱٤;٤۰(٤):٥۱۱–۲۱.

۳۲. Ghasemzadeh M, Hosseini E. Intravascular leukocyte migration through platelet thrombi: directing

leukocytes to sites of vascular injury. Thrombosis and haemostasis. ۲۰۱۵;۱۱۳(٦):۱۲۲٤–۳٥.

۳۳. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? Oral

surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. ۲۰۰٦;۱۰۱(۳): e٥۱–٥.

۳٤. Danielsen P, Jorgensen B, Karlsmark T, Jorgensen LN, AgrenMS. Effect of topical autologous platelet-rich fibrin versus no intervention on epithelialization of donor sites and meshed split-thickness skin autografts: a randomized clinical trial. Plastic and reconstructive surgery. ۲۰۰۸;۱۲۲(٥):۱٤۳۱–٤۰.

۳٥. O'Connell SM, Impeduglia T, Hessler K, Wang XJ, Carroll RJ, Dardik H. Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers.Wound repair and regeneration : official publication of theWound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society. ۲۰۰۸; ۱٦(٦):۷٤۹–٥٦.

۳٦. Steenvoorde P, van Doorn LP, Naves C, Oskam J. Use of autologous platelet-rich fibrin on hard-to-heal wounds. Journal of wound care. ۲۰۰۸; ۱۷(۲):٦۰–۳.

۳۷. Jorgensen B, Karlsmark T, Vogensen H, Haase L, Lundquist R. A pilot study to evaluate the safety and clinical performance of Leucopatch, an autologous, additive-free, platelet-rich fibrin for the treatment of recalcitrant chronic wounds. The international journal of lower extremity wounds. ۲۰۱۱; ۱۰(٤):۲۱۸–۲۳.

۳۸. Londahl M, Tarnow L, Karlsmark T, Lundquist R, Nielsen AM, Michelsen M, et al. Use of an autologous leucocyte and platelet-rich fibrin patch on hard-to-heal DFUs: a pilot study. Journal of wound care. ۲۰۱٥;۲٤(٤):۱۷۲–٤, ٦–۸.

۳۹. Chignon-Sicard B, Georgiou CA, Fontas E, David S, Dumas P, Ihrai T, et al. Efficacy of leukocyte- and platelet-rich fibrin in wound healing: a randomized controlled clinical trial. Plastic and reconstructive surgery. ۲۰۱۲;۱۳۰(٦):۸۱۹e–۲۹e.

٤۰. Desai CB, Mahindra UR, Kini YK, Bakshi MK. Use of Platelet-Rich Fibrin over Skin Wounds: Modified Secondary Intention Healing. Journal of cutaneous and aesthetic surgery. ۲۰۱۳;٦(۱):۳٥–۷.

٤۱. Danielsen PL, Agren MS, Jorgensen LN. Platelet-rich fibrin versus albumin in surgical wound repair: a randomized trial with paired design. Annals of surgery. ۲۰۱۰;۲٥۱(٥):۸۲٥–۳۱.

٤۲. Sclafani AP. Safety, efficacy, and utility of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery. Archives of facial plastic surgery. ۲۰۱۱;۱۳(٤):۲٤۷–٥۱.

٤۳. Sclafani AP, McCormick SA. Induction of dermal collagenesis, angiogenesis, and adipogenesis in human skin by injection of platelet-rich fibrin matrix. Archives of facial plastic surgery. ۲۰۱۲;۱٤(۲):۱۳۲–٦.

٤٤. Gorlero F, Glorio M, Lorenzi P, Bruno-Franco M, Mazzei C. New approach in vaginal prolapse repair: mini-invasive surgery associated with application of platelet-rich fibrin. International urogynecology journal. ۲۰۱۲;۲۳(٦):۷۱٥–۲۲.

٤٥. Soyer T, CakmakM, AslanMK, Senyucel MF, Kisa U. Use of autologous platelet rich fibrin in urethracutaneous fistula repair: preliminary report. International wound journal. ۲۰۱۳;۱۰(۳):۳٤٥–۷.

٤٦. Guinot A, Arnaud A, AzzisO, Habonimana E, Jasienski S, Fremond B. Preliminary experience with the use of an autologous platelet-rich fibrin membrane for urethroplasty coverage in distal hypospadias surgery. Journal of pediatric urology. ۲۰۱٤;۱۰(۲):۳۰۰–٥.

٤۷. Braccini F, Chignon-Sicard B, Volpei C, Choukroun J. Modern lipostructure: the use of platelet rich fibrin (PRF). Revue de laryngologie-otologie-rhinologie. ۲۰۱۳;۱۳٤(٤-٥):۲۳۱–٥.

۴۸. Zumstein MA, Rumian A, Lesbats V, Schaer M, Boileau P. Increased vascularization during early healing after biologic augmentation in repair of chronic rotator cuff tears using autologous leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF): a prospective randomized controlled pilot trial. Journal of shoulder and elbow surgery/American Shoulder and Elbow Surgeons [et al]. ۲۰۱٤;۲۳(۱):۳–۱۲.

۴۹. HabesogluM, Oysu C, Sahin S, Sahin-Yilmaz A, Korkmaz D, Tosun A, et al. Platelet-rich fibrin plays a role on healing of acute-traumatic ear drum perforation. The Journal of craniofacial surgery. ۲۰۱٤;۲۵(٦): ۲۰۵٦–۸.

۵۰. Kawazoe T, Kim HH. Tissue augmentation by white blood cell-containing platelet-rich plasma. Cell transplantation. ۲۰۱۲;۲۱(۲-۳): ٦۰۱–۷.

۵۱. Perut F, Filardo G, Mariani E, Cenacchi A, Pratelli L, Devescovi V, et al. Preparation method and growth factor content of platelet concentrate influence the osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. Cytotherapy. ۲۰۱۳;۱۵(۷): ۸۳۰–۹.

۵۲. Pirraco RP, Reis RL, Marques AP. Effect of monocytes/macrophages on the early osteogenic differentiation of hBMSCs. Journal of tissue engineering and regenerative medicine. ۲۰۱۳;۷(۵):۳۹۲–٤۰۰.

۵۳. Miron RJ, Bosshardt DD. OsteoMacs: Key players around bone biomaterials. Biomaterials. ۲۰۱٦;۸۲:۱–۱۹.

۵٤. Hoaglin DR, Lines GK. Prevention of localized osteitis in mandibular third-molar sites using platelet-rich fibrin. International journal of dentistry. ۲۰۱۳;۲۰۱۳:۸۷۵۳۸۰.

۵۵. BorderWA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. The New England journal of medicine. ۱۹۹٤; ۳۳۱(۱۹):۱۲۸٦–۹۲.

۵٦. Bowen T, Jenkins RH, Fraser DJ. MicroRNAs, transforming growth factor beta-۱, and tissue fibrosis. The Journal of pathology. ۲۰۱۳;۲۲۹(۲):۲۷٤–۸۵.

۵۷. Shamloo A, Xu H, Heilshorn S. Mechanisms of vascular endothelial growth factor-induced pathfinding by

endothelial sprouts in biomaterials. Tissue engineering Part A. ۲۰۱۲;۱۸(۳-٤): ۳۲۰–۳۰.

A review of platelet-rich fibrin and its application in the treatment of diseases

Abstract

Two decades have passed since platelet rich fibrin (PRF) was first introduced. The primary objective was to develop a therapy where platelet concentrates could be introduced into wounds by effectively utilizing the body's natural healing capacity. This was achieved by collecting growth factors derived from blood in a natural way. Platelet rich plasma (PRP) and platelet rich growth factor (PRGF) had been commercialized, yet both contained secondary byproducts that were both unnatural and known inhibitors of wound healing. By removing these anti-coagulants and modifying centrifugation protocols, PRF was introduced some years later with the potential to markedly impact many fields of medicine including dentistry. Many aspects important for tissue regeneration have since been revealed including the important role of fibrin as well as the preferential release of growth factors over longer periods of time from PRF. Furthermore, by introducing a new set of cells into platelet concentrates, a marked impact on tissue regeneration and wound healing was observed. Further modifications to centrifugation speed and time have additionally improved PRF into a concept. Investigators began to modify surgical techniques to favorably treat patients with PRF with improved clinical outcomes. In this first chapter, we highlight the discovery of PRF and the studies leading to its first use in regenerative medicine. We focus specifically on its properties for wound healing and how its presented advantages over previous versions of platelet concentrates have favorably enhanced the regenerative potential of platelet concentrates in dentistry.

Keywords: Fibrin glue, Platelet−rich plasma, Platelet-rich fibrin, Platelets rich in growth factor.