

مقایسه ژل پلاسمای غنی از پلاکت اتولوگ و زنولوگ در ترمیم تجربی قطع تاندون در مدل حیوانی خرگوش

*دکتر ایرج کریمی، **دکتر امین بیغم صادق، ***دکتر احمد عریان، ****زهره رحمانی

«دانشگاه شهرکرد»

خلاصه

پیش‌زمینه: پارگی تاندون از آسیب‌های متداول می‌باشد. علی‌رغم درمان جراحی تاندون آسیب دیده، نتایج حاصل مطلوب نبوده و در بهترین حالت، تاندون ترمیم یافته، تقریباً نیمی از خواص مکانیکی را بعد از مدتی به دست می‌آورد. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر ژل پلاکتی زنولوگوس بر روند ترمیم و مقایسه آن با ژل پلاکتی اتولوگوس در مدل حیوانی خرگوش بود.

مواد و روش‌ها: ۴۵ خرگوش بالغ در محدوده سنی ۷ ماه تا ۱ سال به ۳ گروه اتولوگ، زنولوگ و شاهد تقسیم شدند. بعد از قطع تاندون خم کننده سطحی انگشتان و بخیه به روش مایر، ۰/۵ سی سی ژل پلاکتی اتولوگ یا زنولوگ - بسته به گروه مربوطه - در محل تزریق شد. در گروه شاهد هیچ ماده‌ای تزریق نشد. در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۱ پنج حیوان از هر گروه معدوم و تاندون آنها برداشته شد. سپس آزمایش بیومکانیک و هیستوپاتولوژیک بر روی آنها انجام گردید. نتایج حاصل از نظر آماری بررسی شدند.

یافته‌ها: در فاکتورهای بیومکانیکی سه گروه، در روز ۷ و ۲۸ تفاوت آماری معنی‌دار مشاهده شد. این فاکتورها در گروه اتولوگ و زنولوگ بهتر از گروه شاهد و در گروه اتولوگ بهتر از گروه زنولوگ بود. از نظر فاکتورهای هیستوپاتولوژی اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌های اتولوگ و شاهد و همچنین اتولوگ و زنولوگ در میزان بلوغ فیبروبلاست‌ها در هفته‌های مختلف مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: ژل پلاکتی زنولوگ روند مثبتی بر روند ترمیم دارد، اما اثر آن بهتر از ژل پلاکتی اتولوگ نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: پلاکت خون، پیوند اتولوگ، آسیب تاندون، خرگوش

دریافت مقاله: ۷ ماه قبل از چاپ؛ مراحل اصلاح و بازنگری: ۲ بار؛ پذیرش مقاله: ۱۵ روز قبل از چاپ

Comparison between the Effects of Autologous and Zenologous Platelet – Rich Plasma Gel in Tendon- Injury Healing in Rabbit

*Iraj Karimi, PhD; **Amin Bigham-Sadegh, PhD; ***Ahmad Oryan, PhD; ****Zohre Rahmani, DVM

Abstract

Background: Rupture of tendons is a common injury. The outcome of surgical repair of injured tendon is often unsatisfactory. At best, the restored tendon is about half of its initial mechanical properties. In this study the effect of zenologous and autologous platelet gel were compared in rabbit model.

Methods: 45 rabbits in the age range of 7 months to 1 year old were divided into autologous, zenologous and control groups. Superficial digital flexor tendon was cut transversely and then sutured with Mayer stitch pattern. Then 5cc of either autologous or zenologous platelet gel was injected to the incision area. The control group had no material injection. On 7th, 14th, and 28th post-operative days, five rabbits of each group were euthanized and tendons were harvested for histopathological and biomechanical evaluations. The results were analyzed statistically.

Results: Biomechanical factors were significantly superior in the autologous and zenologous groups than the control group. In histopathological examination the autologous groups showed a significant difference in fibroblast maturation in all the tested weeks. The collagen fiber alignment at 7th postoperative day and collagen accumulation on 7th and 28th postoperative days were superior in autologous compared with zenologous and control groups.

Conclusions: Utilization of zenologous platelet gel has a positive effect on tendon healing, but not as good as autologous platelet gel.

Keywords: Blood platelets; Autologous transplantation; Tendon injury; Rabbit

Received: 7 months before printing ; Accepted: 15 days before printing

*Veterinary pathologist, School of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, IRAN.

**Veterinary Surgeon, School of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, IRAN.

***Veterinary pathologist, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, IRAN.

****Veterinary physician, School of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, IRAN.

Corresponding author: Iraj Karimi, PhD

Dep Veterinary Patobiology, School of Veterinary Med, Shahrekord University, PC:8818634141, PO Box: 115. Shahrekord, Iran

E-mail: irkarimi@yahoo.com

مقدمه

تاندون‌ها بافت‌های آناتومیکی سفید درخشان بین استخوان و عضلات هستند که مقاومت زیادی در برابر فشار مکانیکی از خود نشان می‌دهند^(۱). امکان حرکت مفاصل را مثل ساختارهای الاستیک- فیبروزی که نیروی ایجادی عضلات را بدون اتلاف انرژی به استخوان منتقل می‌کنند، فراهم می‌کند^(۲). هر چه نیروی تولیدی توسط عضله بیشتر باشد، استرس وارده به تاندون نیز افزایش می‌یابد. تاندون‌ها بسیار مقاوم هستند و توان تحملشان به اثبات رسیده است^(۳). آسیب‌های تاندونی یک بحث بالینی مهم برای جراحان ارتوپدی است. پارگی تاندون به علت اعمال نیروی بیش از حد یا به علت بریدگی با اجسام تیز، از آسیب‌های متداول تاندون به حساب می‌آیند^(۴). جراحان دست ایالات متحده گزارش کرده‌اند که نزدیک به یک سوم آسیب‌های تاندونی در تاندون خم‌کننده انگشتان رخ می‌دهند^(۵). علی‌رغم درمان جراحی تاندون آسیب دیده، نتایج حاصل مطلوب نبوده و در بهترین حالت تاندون ترمیم یافته تقریباً نیمی از خواص مکانیکی خود را بعد از گذشت ماه‌ها به دست می‌آورد^(۶). ترمیم تاندون روند آهسته‌ای دارد و زمان زیادی برای آن نیاز دارد. موارد ضربه به تاندون زیاد اتفاق می‌افتد. از جمله این موارد تصادف با ماشین و سایر موقعیت‌های مرتبط که مواد فلزی سخت و تیز در پوست نفوذ کرده و باعث پارگی تاندون می‌شود^(۷). رایج‌ترین عوارض بعد از ترمیم تاندون خم‌کننده، پارگی، چسبندگی تاندون و انقباض مفصل می‌باشند^(۸). تاندون‌ها خون‌رسانی و توان ترمیم پایین و ضعیف دارند، بنابراین مدیریت آسیب تاندون ضروری است^(۹). استفاده از محرک ترمیم، یکی از روش‌های مهندسی بافت است که به چهار دسته گلیکوزآمینوگلیکان، فاکتورهای رشد، واسطه‌های پیش التهابی و عوامل ترمیم تقسیم می‌شوند^(۲).

تعریف کلاسیک پلاسمای غنی از پلاکت، عبارت است از حجمی از پلاسمای که تعداد پلاکت موجود در آن از تعداد پایه در خون کامل بیشتر باشد^(۱۰). پلاسمای غنی از پلاکت اساساً به‌عنوان یک مخزن فاکتورهای رشد از جمله فاکتورهای کموتاکسی، رگ‌زایی و میتوزن در محل کاربرد، عمل می‌کند و

مقایسه ژل پلاسمای غنی از پلاکت اتولوگ و زئولوگ در ترمیم قطع تاندون

در واقع به‌عنوان روشی برای وارد کردن غلظت بالای فاکتورهای رشد و سایر ملکول‌های زیستی به بافت آسیب‌دیده برای بهینه‌سازی محیط ترمیمی بافت، پذیرفته شده است^(۲). هدف از انجام مطالعه حاضر ارزیابی اثر ژل پلاکتی زئولوگوس (تهیه شده از خون گاو در این تحقیق) بر روند ترمیم و همچنین مقایسه آن با ژل پلاکتی اتولوگوس در مدل حیوانی خرگوش است.

مواد و روش‌ها

تهیه ترومبین گاوی

ابتدا از گاوهای سالم به میزان کافی خون‌گیری شد. سپس نمونه خون سیترا تهیه شد. به‌منظور جداسازی پلاسمای، نمونه با دور $2000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. مایع رویی حاوی پلاسمای بود. برای تهیه ترومبین، کلسیم گلوکونات ۱۰ درصد و پلاسمای عاری از پلاکت جدا شده به نسبت ۱ به ۵ با یکدیگر مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند. پس از تشکیل لخته، نمونه با دور $2000 \times g$ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی که حاوی ترومبین بود در لوله جداگانه جمع‌آوری گردید^(۱۱).

تهیه ژل پلاکتی

ابتدا خون‌گیری از گاو به منظور تهیه ژل پلاکتی زئولوگ، و از خرگوش‌ها به‌منظور تهیه ژل پلاکتی اتولوگ انجام شد. از خرگوش‌ها مستقیم از قلب و از هر کدام بسته به وزن حدوداً ۲ تا ۳ سی‌سی خون گرفته شد. سپس از نمونه‌های اخذ شده، نمونه خون سیراته تهیه گردید. نمونه‌های خون با دور $220 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی پلاسمای غنی از پلاکت بود که مجدداً به منظور جداسازی پلاکت‌ها با دور $480 \times g$ به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. مایع رویی جدا شد که از نظر تراکم سلولی حاوی $10^9 \times 8/3$ پلاکت بود. سپس ۵۰ میکرولیتر از این مایع به منظور تهیه ژل پلاکتی با $0/25$ واحد ترومبین گاوی ترکیب شد و 1000 IE/ml کلسیم کلراید ۱۰ درصد به آن اضافه شد. این ژل پلاکتی در دمای ۴ درجه به مدت ۲۴ ساعت قابل نگهداری بود^(۱۲).

روش جراحی

مطالعه حاضر در اردیبهشت سال ۱۳۹۴ در سالن جراحی و بخش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد انجام گرفت. ابتدا خرگوش‌ها با تزریق آسپرومازین ۲٪ با دوز ۰/۰۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم آرام بخشی داده شدند و ناحیه تارس تراشیده شد. با تزریق کتامین ۱۰٪ با دوز ۳۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم بیهوشی القا شد و با تزریق عضلانی نصف دوز الفای، بیهوشی ادامه یافت. ناحیه بالای تارس با بتادین ضدعفونی شد. ناحیه تاندون آشیل شان‌گذاری شد و با برش پوست در سطح جانبی، تاندون خم‌کننده سطحی انگشتان در معرض دید قرار گرفت. لازم به ذکر است؛ از آنجا که آسیب‌های خم‌کننده در معرض آسیب بیشتری هستند^(۵) و مدل قطع تاندون خم‌کننده سطحی انگشتان نیز در خرگوش در مطالعات متعددی انجام شده^(۹،۱۳-۱۵)، لیکن در این مطالعه از این مدل استفاده گردید. تاندون مذکور به‌طور کامل قطع شد و با نخ بخیه نایلون ۲/۰ با الگوی مایر بخیه و به یکدیگر متصل گردید. در محل بخیه تاندون ۱۵ عدد از خرگوش‌ها، ژل پلاکتی زنولوگ (۰/۵ سی‌سی)، و در محل بخیه ۱۵ خرگوش دیگر، ژل پلاکتی اتولوگ (۰/۵ سی‌سی) تزریق شد. ۱۵ خرگوش به‌عنوان شاهد انتخاب شدند و هیچ‌گونه مواد زیستی تزریق نشد. بخیه پوست به‌صورت ساده سرتاسری و با نخ بخیه سیلک ۲/۰ انجام شد. خرگوش‌ها در قفس‌های انفرادی استاندارد نگهداری می‌شدند تا از راه‌رفتن و حرکت‌های جهشی ناگهانی آنها جلوگیری و حرکتشان محدود گردد؛ ولی گچ‌گیری اندام مورد مطالعه صورت نگرفت.

نمونه‌گیری

در روزهای ۷، ۱۴ و ۲۸ بعد از عمل، از هر گروه ۵ عدد خرگوش به شکل تصادفی انتخاب شدند و به روش انسانی با تزریق دوز بالای کتامین معدوم، و جهت ارزیابی پاتولوژیکی به آزمایشگاه ارسال شدند. سپس تاندون خم‌کننده سطحی انگشتان جدا شد و در تامپون آغشته به سدیم کلراید ۰/۹ درصد به آزمایشگاه بیومکانیک انتقال داده شد. لازم به توضیح است که تست بیومکانیک تنها در هفته‌های اول و آخر صورت گرفت.

ارزیابی هیستوپاتولوژی

پس از انجام تست بیومکانیک، نمونه‌ها در فرمالین بافر ۱۰٪ تثبیت شدند و پس از حصول اطمینان از ثبات بافت‌ها، مراحل عمل‌آوری آنها به‌وسیله دستگاه tissue processor (شاندون، انگلستان)، آماده رنگ‌آمیزی شدند. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-اוזین و میسون تری کروم روی آنها انجام گرفت. در ارزیابی هیستوپاتولوژی فاکتورهای شدت التهاب، میزان بلوغ فیبرو-بلاست‌ها، میزان انباشت رشته‌های همبندی، جهت‌یابی رشته‌های همبندی و میزان عروق‌زایی، طبق مقیاس «مشیری» و همکاران نمره‌دهی شدند^(۱۳). در ارزیابی هیستوپاتولوژی، نمره‌دهی متغیرها بدین شرح بود:

به میزان عروق‌زایی در فیلد با بزرگنمایی ۴۰ به ترتیب به ازای ۰-۳ رگ ۱ نمره، ۳-۶ رگ ۲ نمره، و به ازای ۶ رگ به بالا ۳ نمره تعلق گرفت.

برای جهت‌یابی رشته‌های بافت همبندی، بر اساس درصد رشته‌های عمود بر محل برش تاندون، به ترتیب درجه ۱ (۲۵٪)، درجه ۲ (۵۰٪)، درجه ۳ (۷۵٪) و درجه ۴ (۱۰۰٪) در نظر گرفته شد.

انباشت رشته‌های بافت همبندی براساس میزان فضای اشغالی با رشته‌های کلاژن، به ترتیب درجه ۱ (۲۵٪)، درجه ۲ (۵۰٪)، درجه ۳ (۷۵٪) و درجه ۴ (۱۰۰٪) بود.

از نظر بلوغ فیبروبلاست‌ها، به ترتیب درجه ۱: (بیشتر سلول‌ها فیبروبلاست‌ها دارای هسته روشن درشت گرد یا بیضی، درجه ۲: غالبیت با فیبروبلاست‌های سیگاری شکل با هسته‌های روشن، درجه ۳: بیشتر سلول‌ها کشیده و دارای هسته تیره بودند

شدت التهاب به ترتیب: درجه ۱ (بدون التهاب)، درجه ۲ (التهاب خفیف) و درجه ۳ (التهاب شدید) بودند.

ارزیابی بیومکانیک

به منظور انجام تست بیومکانیکی، از تست کششی استفاده شد. فاکتورهای بیومکانیکی Strain، Yield Strength، با حداکثر مقاومت کششی^۱ بررسی شدند. بدین منظور از دستگاه Instron

فیروبلاست‌ها در گروه اتولوگ بیش از گروه شاهد بود. همچنین در هفته‌های اول، دوم و چهارم از نظر میزان بلوغ فیروبلاست‌ها، اختلاف معنی‌داری در دو گروه اتولوگ و زنولوگ، مشاهده گردید ($p < 0/05$) به طوری که میزان بلوغ فیروبلاست‌ها در گروه اتولوگ بیش از گروه زنولوگ بود.

از نظر انباشت رشته‌های همبندی، در هفته دوم ($p = 0/0102$) و هفته چهارم ($p = 0/0156$)، بین دو گروه اتولوگ و شاهد، و همچنین بین دو گروه اتولوگ و زنولوگ اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد و از این نظر گروه اتولوگ از گروه شاهد و زنولوگ بهتر بود.

در هفته دوم از نظر جهت‌یابی رشته‌های همبندی اختلاف آماری معنی‌دار بین دو گروه اتولوگ و شاهد و همچنین بین دو گروه اتولوگ و زنولوگ مشاهده شد ($p = 0/0069$) که گروه اتولوگ از نظر جهت‌یابی رشته‌های همبندی از گروه شاهد و زنولوگ بهتر بود. در بررسی هیستوپاتولوژی، از نظر شدت التهاب، در هفته‌های مختلف بین سه گروه اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد. از نظر میزان عروق‌زایی، در هفته‌های مختلف بین سه گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل‌های ۱-۳).

مدل STM-20 ساخت شرکت SANTAM ایران و نرم افزار STM Series Machines Control and Report Software استفاده شد. بافت‌ها با سرعت ۱۰ میلی‌متر بر دقیقه تحت کشش قرار گرفتند. نمودار Force-Extension ترسیم گردید و داده‌های لازم استخراج شدند.

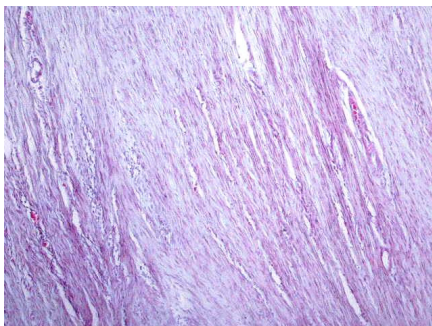
تحلیل آماری

داده‌های حاصل از ارزیابی هیستوپاتولوژی با آزمون‌های غیرپارامتری «کروسکال والیس»^۱ و «یو من ویتنی»^۲؛ و داده‌های ارزیابی بیومکانیک با استفاده از آزمون پارامتری تحلیل واریانس بررسی شدند. تحلیل داده‌ها با نرم افزار آماری SPSS انجام، و سطح آماری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

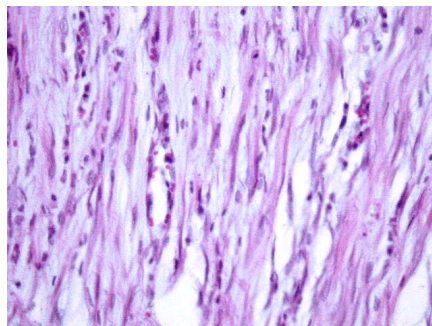
یافته‌ها

در میزان بلوغ فیروبلاست‌های گروه‌های اتولوگ و زنولوگ و همچنین اتولوگ و شاهد در هفته‌های اول، دوم و سوم اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد. در مقایسه هفته به هفته گروه شاهد و دو گروه تیمار، در گروه‌های مختلف و در هفته‌های مختلف، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد. در هفته‌های اول ($p = 0/0003$)، دوم ($p = 0/0007$) و چهارم ($p = 0/0182$) از نظر میزان بلوغ فیروبلاست‌ها، در دو گروه اتولوگ و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و میزان بلوغ

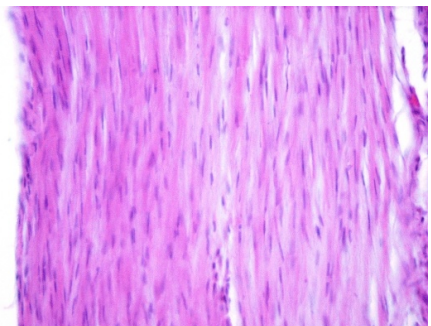
1. Kruskal Wallis
2. U-Mann Whitney



شکل ۳. اشغال نسبتاً کامل محل برش با رشته‌های همبندی و حضور تعداد زیادی فیروسیست و جهت‌گیری رشته‌های همبندی در روز ۲۸ در گروه شاهد (H&E, X40).



شکل ۲. انباشت خوب رشته‌های همبندی همراه با ضخیم شدن رشته‌ها و جهت‌گیری صحیح آنها و بلوغ خوب فیروبلاست‌ها در روز ۲۸ در گروه زنولوگ. تعداد کمی انوزینوفیل هم در محل ترمیم دیده می‌شود (H&E, X40).



شکل ۱. انباشت کامل رشته‌های همبندی همراه با جهت‌گیری صحیح رشته‌ها و بلوغ فیروبلاست‌ها در روز ۲۸ در گروه اتولوگ (H&E, X10).

استفاده از ژل پلاکتی نسبت به پلاسما غنی از پلاکت به دلیل آهسته رهش فاکتورهای رشد در روند ترمیم تاندون وجود دارد. «ساتو»^۱ و همکاران در سال ۲۰۱۲، اثرات استفاده از ژل پلاکتی بر ترمیم تاندون‌های خم کننده داخل ساینویالی در یک مدل خرگوش در محیط درون تنی را بررسی کردند و نشان دادند که ژل پلاکتی شدت ترمیم را در دو هفته بعد از قطع تاندون به طور قابل توجهی افزایش می‌دهد و نیز موجب اثرات جانبی مانند تورم یا چسبندگی انگشت اطراف تاندون‌ها نمی‌شود. ژل پلاکتی با افزودن ترومبین به پلاسما غنی از پلاکت به دست می‌آید و مزیت آن نسبت به PRP، به دلیل آهسته رهش فاکتورهای رشد، در روند ترمیم است. در حالی که استفاده از PRP به تنهایی اثرات مهمی را در روند ترمیم تاندون قطع شده نشان نداد^(۱۶). به عنوان مثال در مطالعه‌ای که بر روی ۳۰ بیمار با آسیب‌های تاندونی در انسان صورت گرفت، تزریق موضعی PRP، در روند بهبودی آسیب تاندونی در مقایسه با گروه کنترل، هیچ تاثیری نداشت^(۱۷). همچنین در مطالعه‌ای که «فوکاوا»^۲ و همکاران در سال ۲۰۱۵ جهت ترمیم قطع تاندون آشیل خرگوش با استفاده از PRP انجام دادند، بین گروه PRP و کنترل اختلاف معنی‌داری وجود نداشت^(۱۸). البته در استفاده از PRP در ترمیم استخوان، مفصل، تاندون، رباط و زخم، به‌طور کلی هم نتایج مثبت و هم نتایج منفی گزارش شده است^(۱۹).

از نظر میزان بلوغ فیبروبلاست‌ها، در هفته‌های مختلف بین دو گروه اتولوگ و زنولوگ اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. با افزایش میزان بلوغ فیبروبلاست‌ها، ادامه روند ترمیم و در نتیجه تسریع ترشح رشته‌های همبندی صورت می‌پذیرد. نتایج مطالعه حاضر نیز نشان‌دهنده تسریع روند ترمیم با استفاده از ژل پلاکتی اتولوگ بود. با توجه به این که میزان بلوغ فیبروبلاست‌ها در گروه زنولوگ در هفته‌های مختلف به‌طور معنادار پایین‌تر از گروه اتولوگ بود، می‌توان نتیجه گرفت که استفاده از ژل پلاکتی زنولوگ نسبت به ژل پلاکتی اتولوگ اثر مثبتی بر میزان بلوغ فیبروبلاست‌ها ندارد. میزان بلوغ فیبروبلاست‌ها در گروه اتولوگ

در مقایسه هر سه گروه در طی هفته اول، دوم و چهارم، از نظر میزان انباشت رشته‌های همبندی، بین هفته‌های اول و چهارم، در دو گروه اتولوگ و زنولوگ اختلاف آماری معنی‌داری ($p < 0.0001$) مشاهده شد که در هفته چهارم میزان انباشت رشته‌های همبندی بیش از هفته اول بود.

در مقایسه هر سه گروه در طی هفته اول، دوم و چهارم، از نظر میزان جهت‌یابی رشته‌های همبندی، بین هفته‌های اول و چهارم در دو گروه اتولوگ و زنولوگ اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده شد ($p < 0.05$) که در هفته چهارم میزان جهت‌یابی رشته‌های همبندی بیش از هفته اول بود.

نتایج حاصل از ارزیابی بیومکانیکی

از نظر میانگین فاکتور ultimate strength در هفته اول بین سه گروه اختلاف معنی‌داری وجود داشت و در گروه اتولوگ و زنولوگ بیش از گروه شاهد بود (جدول ۱).

جدول ۱. میانگین و انحراف معیار سه گروه از نظر فاکتور ultimate strength			
هفته	زنولوگ (۵ نمونه)	اتولوگ (۵ نمونه)	شاهد (۵ نمونه)
اول	۳۴/۳۲±۱۰/۴۱	۳۶/۸۲±۱۶/۱۱	۳۰/۵۳±۴/۰۸
چهارم	۴۹/۷۸±۱۱/۹۹	۳۷/۳۱±۱۸/۷۳	۳۰±۲۲/۱۱

میزان stress در گروه اتولوگ بیش از دو گروه شاهد و زنولوگ، و در گروه زنولوگ بیش از گروه شاهد بود. در هفته چهارم، میزان stress در گروه اتولوگ بهتر از گروه‌های شاهد و زنولوگ بود. میزان strain در گروه‌های اتولوگ و زنولوگ، که پلاسما غنی از پلاکت تزریق شده بود، بهتر از گروه شاهد بود. در هر دو هفته اول و چهارم، گروه اتولوگ بهتر از گروه زنولوگ بود.

بحث

مطالعه حاضر به منظور بررسی اثر ژل پلاکتی زنولوگ بر ترمیم تاندون خرگوش و مقایسه آن با اثرات پلاسما غنی از پلاکت اتولوگ انجام شد. گزارش‌های متعددی مبنی بر مزیت

آنجا که بین اتولوگ و زنولوگ اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد، فقط می‌توان گفت استفاده از ژل پلاکتی زنولوگ همانند اتولوگ از نظر بیومکانیکی اثر مثبتی بر روند ترمیم دارد.

از نظر strain، در هفته اول و چهارم مقاومت بیشتر بافت ترمیمی در مقابل افزایش طول در اثر کشش و در نتیجه قوام بیشتر بافت ترمیمی در گروه‌های اتولوگ و زنولوگ نسبت به گروه شاهد دیده شد. باتوجه به نتایج بررسی‌های میکروسکوپی و تشکیل بهتر بافت ترمیمی در گروه اتولوگ نسبت به گروه زنولوگ، علت این اختلاف را شاید بتوان به باقی ماندن نخ بخیه در ناحیه ترمیم در گروه زنولوگ نسبت داد که این امر می‌تواند بر روی مقاومت در مقابل افزایش طول در آزمون بیومکانیک تاثیر بگذارد.

در مطالعه «عریان» و «مشیری» در سال ۲۰۱۱ به یکی دیگر از روش‌های بازگردانی ویژگی‌های بیومکانیکی و مورفولوژی تاندون خم کننده سطحی انگشتان آسیب دیده در خرگوش با تجویز زیرپوستی مکرر basic fibroblast growth factor اشاره شد^(۲۲).

در این مطالعه، فاکتورهای بیومکانیکی تا ۴ هفته بعد از جراحی مورد بررسی قرار گرفتند. اگرچه برخی از فاکتورهای بیومکانیکی معنی‌دار بودند، شاید برای معنادار شدن سایر فاکتورها، نیاز به زمان بیشتری باشد. در مطالعه «عریان» و همکاران در سال ۲۰۱۲، با وجود آن که بین ویژگی‌های بیومکانیکی، مورفولوژی و کلینیکی تاندون در روز ۱۴ و ۸۴ بعد از جراحی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد، ولی هنوز با شرایط تاندون نرمال فاصله داشت^(۱۳).

در مطالعه حاضر، در هفته اول از نظر Ultimate Strength بین دو گروه اتولوگ و شاهد و همچنین بین دو گروه زنولوگ و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید. این یافته نشان می‌دهد در گروه اتولوگ و زنولوگ نسبت به گروه شاهد استحکام بیشتری ایجاد شد. جهت‌یابی تصادفی رشته‌های کلاژن، پر سلول بودن و وجود تعداد زیادی فیبروبلاست، لنفوسیت، پلاسماسل و ماکروفاژ در هفته‌های اول باعث می‌شود خصوصیات بیومکانیکی، تفاوت مشخصی با تاندون نرمال داشته

در هفته‌های مختلف، به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه شاهد بود؛ پس می‌توان گفت گروه اتولوگ اثر مثبتی بر بلوغ فیبروبلاست‌ها دارد. ژل پلاکتی اتولوگ احتمالاً به دلیل آزاد کردن فاکتورهای رشد، باعث تسریع بلوغ فیبروبلاست‌ها شده است. استفاده از ژل پلاکتی زنولوگ نیز اثر معنی‌داری نسبت به گروه شاهد در میزان بلوغ فیبروبلاست‌ها ندارد. «رجبی» و همکاران در یک بررسی نشان دادند استفاده از PRP آلورژنیک در آسیب تاندونی خرگوش باعث افزایش فیبروبلاست‌ها و سلول‌ها و کلاژن در ناحیه آسیب تاندونی می‌شود^(۲۰).

از نظر شدت التهاب و میزان عروق‌زایی، در هفته اول، دوم و چهارم بین گروه‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. هر چند ارزیابی هیستوپاتولوژی نشان‌گر بهتر بودن عروق‌زایی در گروه‌های اتولوگ و زنولوگ نسبت به گروه شاهد بود. در مطالعه «اسوار»^۱ و همکاران بر روی ترمیم زخم پوستی با استفاده از پلاسمای غنی از پلاکت در خرگوش، میزان عروق‌زایی در ناحیه زخم در گروه پلاسمای غنی از پلاکت بیش از گروه کنترل بود^(۲۱).

گروه اتولوگ نسبت به گروه شاهد و زنولوگ اثر بهتری بر روی انباشت رشته‌های همبندی در ناحیه آسیب دیده داشت، که در روند ترمیم یکی از عوامل بسیار موثر می‌باشد.

در مجموع، با توجه به ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک، استفاده از ژل پلاکتی زنولوگ اثر بهتر و یا همتایی نسبت به ژل پلاکتی اتولوگ نداشت ولی در برخی فاکتورهای ترمیم نسبت به گروه شاهد بهتر بود؛ اگرچه تفاوت‌ها معنی‌دار نبود. علت این امر می‌تواند ایجاد حساسیت و واکنش بافتی بدن در برابر ژل پلاکتی زنولوگ باشد و موید این مطلب می‌تواند مشاهده تعداد زیادی ائوزینوفیل در محل آسیب ترمیم در تعدادی از خرگوش‌های تیمار شده با ژل پلاکتی زنولوگ در مطالعه حاضر باشد.

از نظر بیومکانیکی، در هفته اول فاکتور ultimate strength بین سه گروه اختلاف معنی‌داری نشان داد و در گروه اتولوگ و زنولوگ نسبت به گروه شاهد استحکام بیشتری ایجاد شد. از

کلاژن در ارزیابی میکروسکوپ الکترونی در گروه‌های مختلف، از محدودیت‌های مطالعه حاضر بود که در بررسی‌های بعدی در نظر گرفته خواهد شد.

نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر حاکی از تاثیر مطلوب ژل پلاکتی اتولوگ نسبت به گروه زنولوگ و گروه شاهد می‌باشد و از آنجا که استحصال ژل پلاکتی اتولوگ آسان بوده و خطر انتقال بیماری و بروز واکنش‌های ایمنی بعد از تزریق وجود ندارد، می‌تواند در ترمیم آسیب‌های تاندونی، کاربرد بالینی داشته باشد.

باشد. به تدریج تراکم رشته‌های همبند در تمام گروه‌ها بیشتر می‌شود به طوری که در هفته چهارم معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه، اختلاف مشاهده نگردید.

PRP زنولوگ همانند اتولوگ، به دلیل داشتن فاکتورهای رشد، به روند ترمیم کمک می‌کند و از نظر فاکتورهای بیومکانیکی PRP زنولوگ همانند اتولوگ بهتر از گروه شاهد عمل کرد. اما به دلیل ایجاد حساسیت در بدن خرگوش نسبت به خون بیگانه، اثر PRP زنولوگ کمتر از گروه اتولوگ است که این نتیجه با رویت شدن اتوزینوفیل‌ها در بررسی هیستوپاتولوژی هم‌خوانی دارد. عدم اندازه‌گیری میزان تشکیل هیدروکسی پرولین در نمونه‌های مورد مطالعه و همچنین عدم مقایسه میزان شکل‌گیری

References

- Kannus P.** Structure of the tendon connective tissue. *Scand J Med Sci Sports*. 2000;10(6):312-20.
- Moshiri A, Oryan A.** Role of tissue engineering in tendon reconstructive surgery and regenerative medicine: current concepts, approaches and concerns. *Hard Tissue*. 2012;1-2:11. doi: 10.13172/2050-2303-1-2-291.
- Franchi M, Trirè A, Quaranta M, Orsini E, Ottani V.** Collagen structure of tendon relates to function. *Scien World J*. 2007;7:404-20.
- Kuwada GT.** Diagnosis and treatment of Achilles tendon rupture. *Clin Podiatr Med Surg*. 1995;12(4):633-52.
- Pennisi E.** Tending tender tendons. *Science*;295 (5557): 1011.
- Beredjikian PK.** Biologic aspects of flexor tendon laceration and repair. *J Bone Joint Surg Am*. 2003;85-A(3):539-50.
- Khan RJ, Fick D, Keogh A, Crawford J, Brammar T, Parker M.** Treatment of acute achilles tendon ruptures. A meta-analysis of randomized, controlled trials. *J Bone Joint Surg Am*. 2005;87(10):2202-10.
- Rouhani A, Tabrizi A, Ghavidel E.** Effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs on flexor tendon rehabilitation after repair. *Arch Bone Jt Surg*. 2013;1(1):28-30.
- Oryan A, Moshiri A, Meimandi Parizi A.** Alcoholic extract of tarantula cubensis improves sharp ruptured tendon healing after primary repair in rabbits. *Am J Orthop (Belle Mead NJ)*. 2012;41(12):554-60.
- Middleton KK, Barro V, Muller B, Terada S, Fu FH.** Evaluation of the effects of platelet-rich plasma (PRP) therapy involved in the healing of sports-related soft tissue injuries. *Iowa Orthop J*. 2012;32:150-63.
- Turaga KK, Chakradhara Rao P, Sripad G.** Rapid purification of high purity thrombin and preparation of a novel hemostat for clinical purposes. *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2008;24(2):54-8. doi: 10.1007/s12288-008-0029-4.
- Man D, Plosker H, Winland-Brown JE.** The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg*. 2001;107(1):229-37.
- Oryan A, Moshiri A, Meimandi-Parizi AH.** Short and long terms healing of the experimentally transverse sectioned tendon in rabbits. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol*. 2012;4(1):14. doi: 10.1186/1758-2555-4-14.
- Oryan A, Moshiri A.** A long term study on the role of exogenous human recombinant basic fibroblast growth factor on the superficial digital flexor tendon healing in rabbits. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2011;11(2):185-95.
- Bigham AS, Shadkhast M, Nourani H, Shahbazkia HR, Kosha S, Asgharzadeh S, Shafiei Z.** Fresh autogenous and allogeneous tendon graft in rabbit model. *Comp Clin Path*. 2011;20-2:109-13.
- Sato D, Takahara M, Narita A, Yamakawa J, Hashimoto J, Ishikawa H, Ogino T.** Effect of platelet-rich plasma with fibrin matrix on healing of intrasynovial flexor tendons. *J Hand Surg Am*. 2012;37(7):1356-63. doi: 10.1016/j.jhsa.2012.04.020.
- De Carli A, Lanzetti RM, Ciompi A, Lupariello D, Vadalà A, Argento G, Ferretti A, Vulpiani MC, Vetrano M.** Can platelet-rich plasma have a role in Achilles tendon surgical repair? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2016;24(7):2231-7. doi: 10.1007/s00167-015-3580-1.
- Fukawa T, Yamaguchi S, Watanabe A, Sasho T, Akagi R, Muramatsu Y, Akatsu Y, Katsuragi J, Endo J, Osone F, Sato Y, Okubo T, Takahashi K.** Quantitative Assessment of Tendon Healing by Using MR T2 Mapping in a Rabbit Achilles Tendon Transec-

tion Model Treated with Platelet-rich Plasma. *Radiology*. 2015;276(3):748-55. doi: 10.1148/radiol.2015141544.

19. Fu W, Li Q, Li J. Application of platelet-rich plasma in clinical orthopedics. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2014;28(10):1311-6. Chinese.

20. Rajabi H, Sheikhan Shahin H, Norouzi M, Mehrabani D, Dehghani Nazhvani S. The Healing Effects of Aquatic Activities and Allogenic Injection of Platelet-Rich Plasma (PRP) on Injuries of Achilles Tendon in Experimental Rat. *World J Plast Surg*. 2015;4(1):66-73.

21. Ostvar O, Shadvar S, Yahaghi E, Azma K, Fayyaz AF, Ahmadi K, Nowrouzian I. Effect of platelet-rich plasma on the healing of cutaneous defects exposed to acute to chronic wounds: a clinico-histopathologic study in rabbits. *Diagn Pathol*. 2015;10:85. doi: 10.1186/s13000-015-0327-8.

22. Moshiri A, Oryan A. Structural and functional modulation of early healing of full-thickness superficial digital flexor tendon rupture in rabbits by repeated subcutaneous administration of exogenous human recombinant basic fibroblast growth factor. *J Foot Ankle Surg*. 2011;50(6):654-62. doi: 10.1053/j.jfas.2011.05.002.