دراسة تأثير البلازما الغنية بالصفيحات على درجة الالتهاب نسيجياً

مازن يحيى زيناتي*

الملخص

هدف هذه الدراسة هو تقييم ردود الفعل الالتهابية نسيجيّاً للبلازما الغنية بالصفيحات PRP عند حقنها ضمن النسيج الضام الحي.

المواد والطرائق: بعد إحداث جرح في شفة خروف (6 خراف) أعمارهم سنة إلى سنة ونصف حُقِنَتْ 11 شفة بالسيروم الملحي، و11 شفة بالجهة المقابلة حقنت بالبلازما الغنية بالصفيحات بعد سحب 10 مل من دم الخروف. أخذت 22 خزعة من الخراف بعد أسبوع وبعد أسبوعين للدراسة النسيجية. استخدم اختبار Mann-Whitney U للدراسة الإحصائية (p=o.o5).

النتائج: نسيجياً لم تحدث البلاسما الغنية بالصفيحات رد فعل التهابياً عنيف نسيجياً، وقد بلغت قيمة U=8 بعد أسبوع وU= 3 بعد أسبوعين، وهكذا لم توجد فروق دالة إحصائياً بين المجموعتين المدروستين مهماً كانت المدة المدروسة، ممّا يجعلنا نعتقد أنّ البلاسما الغنية بالصفيحات ليس لها دور أيضاً في التقليل من شدّة رد الفعل الالتهابي إن كان سيحصل، ومن ثمَّ فإنّ رد الفعل المناعي الذاتي للجسم هو المرجّح في هذا الموضوع .

الاستنتاج: يبدو أنَّ البلازما الغنية بالصفيحات لا تؤثر في العملية الالتهابية وإذا كان الهدف هو التأثير في ردود الفعل الالتهابية فلا داعي لاستخدام البلازما الغنية بالصفيحات.

* أستاذ مساعد – قسم جراحة الفم والفكين – كلية طب الأسنان – جامعة دمشق

A Histological Study of the Influence of PRP on the Inflammation Degree

Mazen Zenati*

Abstract

The aim of this study was to evaluate the effect of PRP on the histological inflammatory reactions after injecting it in the connective tissue .

Materials and methods: after making a surgical incision in the lips of 6 sheep (1-1.5 years old), 11 right lips were injected with sodium chloride serum, and 11 left lips were injected with PRP after with drawaling 10ml of the blood and preparing PRP.

22 biopsies of lips were studied (11 with prp , 11 without prp) after one week and two weeks , Mann-Whitney U test was performed (p=o.o5) .

Result was : PRP did not cause severe inflammatory reactions and also did not reduce the severity of that reactions when had happened , **Mann-Whitney U** was U = 8 after one week , U=3 after 2 weeks , no important differences related to the effect of the PRP in the two samples were observed.

So the immune response of the body seems to be the decisive factor .

Conclusion: there is no need to use PRP if the aim is to influence on the inflammatory reactions .

Key words : PRP , inflammation

* Ass. Prof. Dept. of Oral and Maxillofacial Surgery. Faculty of Dentistry-Damascus University

المقدمة:

تعّد العلقة الدموية نواة لبدء حدوث جميع فعاليات التئام الأنسجة الرخوة والتجدد العظمي، وتلتئم الجروح الطبيعية عادة بفضل تكوّن العلقة التي تحتوي على الصفيحات الدموية التي تشكل 5% من محتوى العلقة. تحتوي البلازما الغنية بالصفيحات والتي هي خثرة دموية طبيعية ذاتية على تراكيز عالية من الصفيحات الدموية 94% و5% كريات حمراء و1% كريات بيضاء؛ وهذا بدوره سيزيد من تركيز عوامل النمو، وبالمقارنة تحتوي الخثرة العادية على 94%كريات حمراء و6% صفيحات دموية ونسبة أقل من 1% كريات بيضاء [1].

كثُر الحديث في المدة الأخيرة عن استعمال الـ PRP مضافاً في بعض التقنيات الجراحية أو محقوناً مباشرة كاستعمال علاجي مباشر، وقد لاقى نجاحاً سريرياً في عدة مجالات طبية مثل: جراحة القلب والأعصاب والعظام والوجه والفكين والجراحة اللثوية وحول السنية. وقد افترضت بعض الدراسات أنّ هذا المركّب يعمل على تحريض رد فعل التهابي بشدّة معيّنة يكون بدوره محفّزاً لتتابع سريع لآليات الشفاء والترمّم (2,3).

تحتوي البلازما الغنية بالصفيحات على العديد من عوامل النمو الموجودة في الصفيحات من عوامل النمو المشتقة من الصفيحات Platelet-derived Growth Factors PDGFs, PDGEaa, PDGFbb, PDGFab وعوامل النمو هذه هي الموجودة أكثر في شفاء الجروح وعوامل النمو المحولة Transforming Growth Factors (TGFB1 TGFB2), والتي تشابه عوامل النمو المشتقة من الصفيحات وتنبّه الاستجابة الخلوية ويمكن أن تحرض تشكل العظم أو الغضروف[5]، ومنها عامل النمو الوعائي البطاني Vascular Endothelial Growth Factor الذي له تأثير محدود في الخلايا البطانية وفي التشكل الوعائي الجديد وعامل النمو البشري: Epithelial Growth Factor والذي يمتلك

تأثيراً محدوداً في الخلايا القاعدية للجلد والغشاء المخاطي. تعتمد البلازما الغنية بالصفيحات على تحفيز الخلايا الموجودة في الأنسجة الرخوة بما في ذلك الخلايا المولدة لليف fibroblast على إطلاق الكولاجين؛ ولذلك فإنَّ حقن البلاسما الغنية بالصفيحات المستخرجة من الشخص نفسه تحت الجلد تعمل كسقالة لتشكيل شبكة ثلاثية البعد، وتعمل على إطلاق عوامل النمو، وعلى إحداث جذب

كيماوي للخلايا بالعة الكبير والخلايا الجذعية الموجودة (Chemo attraction of macrophages and resident stem cells وتعمل على تكاثر الخلايا الجذعية، كما تعمل على انقسام الخلايا الجذعية [6,7,8] .

الهدف من البحث:

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم تأثير البلازما الغنية بالصفيحات PRP في ردود الفعل الالتهابية نسيجيّاً عند حقنها ضمن النسيج الضام عند الأحياء.

المواد والطرائق:

عينة البحث:

تألفت عينة البحث من 6 خراف (العواس) أعمارهم 1-1.5 سنة، وانتُقِيَتِ الخراف الخالية من الأمراض، التي يزيد وزنها على 35 كغ، ولم يتم وصف صادات بعد العمل.

تم العمل في عيادة الطب البيطري بريف دمشق، وقد قمنا بالنسبة إلى كلّ خروف بإحداث جرح في الشفة العلوية والسفلية في الجهتين اليمنى واليسرى بطول 1,5 سم، وعمق 1 سم، ثم وزعت العيّنة بالشكل الآتي:

حُقِنَ11 جرحاً مباشرة بنصف ملل سيروم ملحي لكل جرح، و11 جرحاً بالجهة المقابلة بالمقدار نفسه من البلازما الغنية بالصفيحات (بعد تفعيلها بكلور الكالسيوم)،

وقد تم الحقن في الجهة اليمنى واليسرى للشفة العلوية والسفلية، أي أربع مناطق عند كل خروف، بحيث يخصص القسم الأيمن العلوي والسفلي لحقن السيروم، والقسم الأيسر العلوي والسفلي لحقن البلازما الغنية بالصفيحات وخروف واحد تم حقنه في الجهة اليمنى واليسرى للشفة العلوية أي، منطقتين فقط، ولم نحقن في الشفة السفلية لهذا الخروف فقط وتركناها لنرى الشفة الطبيعية لدى الخراف تحت المجهر.

تحضير البلازما الغنية بالصفيحات:

بعد سحب 10 مل من دم الخروف من أجل فصل البلازما الغنية بالصفيحات أُجريَ الفصل على مرحلتين:

التنبيذ الأولي :first centrifuge

وُضِعَ 10 مل+ 2,5 مل سترات الصوديوم المأخوذة من دم الخروف ضمن أنبوبين، كل أنبوب يتسع 5 مل ومدة 10 دقائق عل سرعة 2400 دورة في الدقيقة، وكانت نتيجة التنبيذ الأول الحصول على 3 طبقات.

- الطبقة الأولى: تكونت في السطح وهي ذات اللون الأصفر وهي طبقة البلازما.
- الطبقة الثانية: وهي التي ترسبت في قاع الأنبوب وهي عبارة عن كريات الدم الحمراء.
- الطبقة بين الطبقتين السابقتين: وهي قليلة الكمية وتحوي على الصفيحات والكريات البيضاء، وهي طبقة Buffy coat.

سُحِبَتِ الطبقة الأولى الصفراء مع الطبقة الوسطى مع 0,5 ملم من كريات الدم الحمراء الذي يوافق أعلى الطبقة الثانية ووضعت في أنبوب واحد.

التنبيذ الثاني: Second Centrifuge

أجرينا التنبيذ بالجهاز نفسه الذي أجرينا به التنبيذ الأول، إذْ نضع الأنبوب المستحصل من المرحلة الأولى بعد السحب السابق الذكر، ونضعه على سرعة الدوران 3000 دورة في الدقيقة مدة 10 دقائق.

وبعد الانتهاء من التنبيذ تُسحَبُ الطبقة العليا وهي طبقة البلازما الفقيرة بالصفيحات والتخلص منها، وأبقينا على الطبقة الموجودة في قاع الأنبوب التي توافق البلازما الغنية بالصفيحات مع كمية بسيطة من البلازما الفقيرة بالصفيحات 0,5 مل تقريباً، وذلك لتسهيل سحب طبقة البلازما الغنية بالصفيحات. ومن ثمّ حُقِنَتِ البلازما الغنيّة بالصفيحات ضمن الجروح المحدثة .

الدراسة النسيجية:

أخذت 22 خزعة من الخراف بعد أسبوع وبعد أسبوعين للدراسة النسيجية. تم تثبيتها بالفورمول 10% وتلوينها بالهيماتوكسيلين أيوزين. كما تمت مراقبة هذه الخراف عيانياً أيضاً خلال المدة السابقة.

تمت مراقبة درجة الالتهاب لكل خزعة من الخزعات المدروسة في عينة الدراسة النسيجية، وتم إعطاء المتغير المدروس قيماً متزايدة تصاعدياً وفقاً لشدة المتغير المدروس، كما في الجدول الآتي:

جدول رقم (1)

يبيّن الدرجات المعتمدة للمتغير المدروس في عينة الدراسة النسيجية والقيم الموافقة المعطاة لكل درجة.

درجة الالتهاب	القيمة المعطاة
لا يوجد التهاب	0
يوجد التهاب خفيف	1
يوجد التهاب شديد	2

وقد تعمّدنا هذا التقسيم لأنّ وضع تصنيف درجة متوسطة قد لا يكون دقيقاً دائماً، فبعضهم قد يعدُّ بعض الحالات المتوسطة أميل لتصنّف على أنّها خفيفة، وبعضهم قد يميل إلى تصنيف بعض الحالات المتوسّطة على أنّها شديدة، لذلك خرجنا من احتمال الخلاف إذْ إنّ الحالة إذا لم تظهر صورة نسيجيّة واضحة في شدّتها فهي خفيفة، وإذا لم تظهر أيّ مظهر التهابي مميّز فإذا لا يوجد التهاب، وهذا طبعاً بالاعتماد على نوعيّة الخلايا وكثافتها في الساحات المدروسة.

- الدراسة الإحصائية:

استخدم اختبار Mann-Whitney U للدراسة الإحصائية (p=o.o5).

النتائج:

– دراسة درجة الالتهاب:

× نتائج مراقبة درجة الالتهاب في عينة الدراسة النسيجية وفقاً للمادة المستخدمة في الحقن والمدة الزمنية المدروسة:

بلغ عدد الخزعات بعد أسبوع من الحقن، التي لم تبدِ التهاباً في كلتا العينتين سواء في عيّنة السيروم الملحي أم في عيّنة البلازما خمس خزعات لكل مجموعة، وكانت هناك خزعة واحدة أظهرت حالة التهاب خفيفة في مجموعة السيروم، وحالة واحدة أيضاً في مجموعة البلازما، كما أبدت خمس خزعات درجة شديدة من الالتهاب في مجموعة السيروم، وكذلك خمس خزعات في مجموعة البلازما، في حين بعد أسبوعين من الحقن وجدنا تسع خزعات من عيّنة السيروم وتسع خزعات من عيّنة البلازما لم يظهر فيهم التهاب، وكان لدينا حالتان فقط في كل مجموعة أظهرت التهاباً خفيفاً ولم يظهر لدينا التهاب شديد في أيّ من المجموعتين كما هو موضّح في الجدول رقم (2):

جدول رقم (2)

يبيّن نتائج مراقبة درجة الالتهاب في عينة الدراسة النسيجية وفقاً للمادة المستخدمة في الحقن والمدة الزمنية المدروسة

مدة المراقبة	درجة الالتهاب	عدد الخزعات	
		البلازما الغنية بالصفيحات	سيروم ملحي
بعد أسبوع	لا يوجد التهاب	5	5
	يوجد التهاب خفيف	1	1
	يوجد التهاب شديد	5	5
	المجموع	11	11
بعد أسبوعين	لا يوجد التهاب	9	9
	يوجد التهاب خفيف	2	2
	يوجد التهاب شديد	0	0
	المجموع	11	11

إذاً في كلتا المحموعتين بعد أسبوع أظهرت 5 خزعات (45%) علامات الالتهاب الحاد، خزعة واحدة (10%) أظهرت علامات الالتهاب الخفيف و 5خزعات (45%) لم تبدِ أي علامة التهاب، في حين بعد أسبوعين وفي كلتا المجموعتين 9 خزعات (82%) لم تبدِ أيّ علامة التهاب، وأظهرت خزعتان فقط (18%) علامات الالتهاب الخفيف .

ولدراسة الفروق الإحصائية لدرجة الالتهاب بين المجموعين المدروستين استعمل **اختبار Mann-Whitney U**

جدول رقم (3)

يبيّن نتائج اختبار Mann-Whitney

المتغير المدروس	المدة الزمنية المدروسة	قيمة U	قيمة مستوى الدلالة المقدرة	دلالة الفروق
درجة الالتهاب	بعد أسبوع	8.0	1.000	لا توجد فروق دالة
	بعد أسبوعين	3.0	1.000	لا توجد فروق دالة

يبيّن الجدول رقم (3) أن قيمة مستوى الدلالة المقدرة أكبر كثيراً من القيمة 0.05 مهما كانت المدة الزمنية المدروسة، أي أنه عند مستوى الثقة 95% لا توجد فروق دالة إحصائياً في درجة

الالتهاب بين مجموعة خزعات البلازما الغنية بالصفيحات ومجموعة خزعات السيروم الملحي، ولا تأثير للمادة المستخدمة في الحقن على درجة الالتهاب في عينة الدراسة النسيجية مهما كانت المدة الزمنية المدروسة (بعد أسبوع، بعد أسبوعين).

- دراسة مظاهر رد الفعل الالتهابي عيانياً:

خلال أسبوعين من مراقبة مظاهر رد الفعل الالتهابي في جروح الشفة عند الخراف وجدنا أنّه عند حقن السيروم الملحي لم يكن هناك مظاهر التهابية في 6 حالات، في حين أبدت خمس حالات مظاهرَ التهابية ظاهرة للعيان وكان لدينا الأعداد نفسها عند المراقبة العيانيّة بعد حقن البلازما الغنية بالصفيحات، كما يوضّح الجدول رقم (4)

جدول رقم (4)

يبيّن نتائج مراقبة حدوث الخمج في عينة الدراسة وفقاً للمادة المستخدمة في الحقن

المادة المستخدمة في الحقن	المظهر	عدد الحالات
سيروم ملحي	لا يوجد مظاهر واضحة	6
	يوجد مظاهر واضحة	5
	المجموع	11
بلازما غنية بالصفيحات	لا يوجد مظاهر واضحة	6
	يوجد مظاهر واضحة	5
	المجموع	11

المناقشة:

قمنا في هذه الدراسة بتحري التغيّرات النسيجية الالتهابية التالية لحقن البلازما الغنية بالصفيحات مقارنة بالسيروم الملحي وبيّنت دراستنا النسيجية أنه في كلتا المجموعتين و بعد أسبوع من الحقن أظهرت (45%) من الخزعات علامات الالتهاب الحاد، و10% أظهرت علامات الالتهاب الخفيف و45% من الخزعات لم تبد أي علامة التهاب، بينما بعد أسبوعين وفي كلتا المجموعتين 9 خزعات (82%) لم تبدِ أيّ علامة التهاب وأظهرت خزعتان فقط (18%) علامات الالتهاب الخفيف. ويعود حصول الالتهاب -بحد ذاته- إلى رد فعل الجسم الطبيعي تجاه إحداث الشق وتجاه عملية حقن السيروم والـ PRP، ولكن لم نجد فروقاً دالة إحصائياً في درجة الالتهاب بين مجموعة خزعات السيروم الملحي ومجموعة خزعات البلازما الغنية بالصفيحات ولا تأثير لـ PRP في درجة الالتهاب في عينة الدراسة النسيجية مهما كانت المدة الزمنية المدروسة (بعد أسبوع، بعد أسبوعين) .

وعند مقارنة نتائجنا بدراسات سابقة نجد أنّ بعض الدراسات وجدت أنّ الـ PRP تثبّط الالتهاب والمظاهر الالتهابية، ومن هنا تأتي فائدتها السريريّة، وكأننّا نطبّق الكورتيزون (12)، بينما وجدت دراسات أخرى أنّ الـ PRP تحسّن الحالة سريريّاً. عن طريق دعمها وتسريعها لآليات الشفاء بتحريض رد فعل التهابي من شدّة معيّنة بحيث يقدح زناد تتابع آليات الشفاء بشكل سريع فتتحسّن الحالة سريريّاً. وهكذا نجد أنّ Woodall J Jr **و** Tucci M **و** Mishra A, عام 2007 وجدوا أنّه بعد حقن الـ PRP حصل رد فعل خلوي تظاهر بتثبيط بالعات الكبير Macrophage cell والتخفيف من المظاهر الالتهابية (13) وهذا يدعم دراسات كان قد قام بها Mishra A **و** Pavelko T تحدّثوا فيها عن تخفيف واضح في الألم والمظاهر الالتهابية بعد حقن الـ PRP (14) وكذلك أوضحت دراسات و Mishra A. **و** Woodall J Jr, **و** Vieira الفوائد السريريّة للمعالجة بالبلازما الغنيّة بالصفيحات (12) بينما وجد Kajikawa Y, **و** Morihara **T,**

و Sakamoto H, 2008 أنّ الـ PRP تعمل على جذب الخلايا إلى منطقة الإصابة وأنّها بحد ذاتها تثير رد فعل التهابياً وبهذه الآلية، ومن ثمَّ تسهم في تسريع آليات الشفاء (15)، وهذا ما يتفق مع دراسة Sánchez عام 2007 الذي أثبت أيضاً أنّ البلازما الغنية بالصفيحات تسرّع من آليّات الشفاء بعد العمليّات الجراحية (16). وقد يعود الاختلاف بين الدراسات برأينا إلى أنّ رد الفعل المناعي الذاتي للجسم يرجّح أحد الاتجاهين فإذا كان رد الفعل الذاتي قويّا منذ البداية كان الاتجاه نحو إحداث رد الفعل الإل تهابي الدفاعي، ومن ثمَّ تعمل الـ PRP على تعزيز هذا الأمر والانطلاق منه نحو تسريع آليّات الشفاء. أمّا إذا كان رد الفعل الدفاعي الأوّلي للجسم بطيئاً فإنّ الـ PRP حينذاك ستعمل على تثبيط المظاهر الالتهابية وتخفيف مظاهر الألم والالتهاب بصورة عامّة.

وربّما تؤكّد متابعتنا العيانيّة للشفاه المحقونة بالسيروم والمحقونة بالبلازما هذا الأمر إذ كانت لدينا أعداد متشابهة من الشفاه التي أظهرت مظاهر التهابيّة واضحة، والتي لم تظهر مظاهر التهابية واضحة سواء في مجموعة السيروم أو في مجموعة الـPRP عيانياً، وأنّ رد الفعل الدفاعي الذاتي من الجسم هو الموجّه الحقيقي لهذا الاتجاه أو ذاك.

وبالخلاصة إنّ إضافة البلازما الغنية بالصفيحات بحد ذاتها لا تؤثّر في درجة رد الفعل الالتهابي نسيجيّا.

References

1- Pablo Galindo-Moreno, Gustavo? vila, Juan Emilio Fernandez-Barbero et al (2007). Evaluation of sinus floor elevation using a composite bone graft mixture. Clinical Oral Implants Research Volume 18 Issue 3, p. 376 – 382

2 - Ferenc Döri, Tamás Huszár, Dimitris Nikolidakis et al (2007). Effect of platelet-rich plasma on the healing of intra-bony defects treated with a natural bone mineral and a collagen membrane. Journal of Clinical Periodontology, Volume 34 Issue 3, p. 254 – 261

3- Misumi T, Kiso I, Nagumo M, Takahashi R, Onoguchi K, Itoh T. Effect of autologous platelet rich plasma on adult open heart surgery , Nippon Kyobu Geka Gakkai Zasshi. 1995 Jan;43(1):6-9.

4 - Karen K Hirschi, Stephanie A Rohovsky and Patricia A D'Amore. (1997). Cell-cell interactions in vessel assembly: a model for the fundamentals of vascular remodeling. Transplant Immunology, Volume 5, Issue 3, P. 177-178

5- Robert E.Marx, Arun K. Garg. Dental and Craniofacial Applications of Platelet – Rich Plasma, Quintessence Publishing Co, China, 2005, p:3-9 : 37-43: 58:135

6-Saltz, R Update: Tissue sealants in plastic surgery. Aesthetic surg journal 19:168,1999

7-Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, McDermott WG, Jacobson MS, Santangelo KS, et al . Platelet-rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. J Orthop Res 2007;25:230-40.

8- Chajchir A, Fabrizio D, Chajchir G, Celi E. Growth factors in plastic surgery. Aesth Plast Surg 2005;29:295-9.

9-Pourzarandian A, Watanabe H, Ruwanpura SM, Aoki I, Ishikawa I. Effect of low level Er:YAG laser irradiation on cultured human gingival fibroblasts. J Periodontol 2005;76:187-93

10-Yu HY, Chen DF, Wang Q, Cheng H. Effects of lower fluence pulsed dye laser irradiation on production of collagen and the mRNA expression of collagen genes in cultured fibroblasts in vitro. Chin Med J Engl 2006;119:1543-7

11- Carlson ER , Marx RE, Eichstaedt RM , schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR . Platelet rich plasma : growth factors enhancement for bone grafts . oral surg oral med oral pathol 1998 , 85 638-646

12 - Mishra A, Woodall J Jr, Vieira A.Treatment of tendon and muscle using platelet-rich plasma . Clin Sports Med. 2009 Jan;28(1):113-25.

13 - Woodall J Jr, Tucci M, Mishra A, Benghuzzi H. Biomed Sci Instrum. Cellular effects of platelet rich plasma: a study on HL-60 macrophage-likeCells2007;43:266-71.

14 - Mishra A, Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma. Am J Sports Med. 2006 Nov;34 (11):1774-8.

15 - Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, Matsuda K, Oshima Y, Yoshida A, Nagae M, Arai Y, Kawata M, Kubo T. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendonhealing J Cell Physiol. 2008 Jun;215(3):837-45.

16-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 Feb;35(2):245-51.

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2009/6/3.
تاريخ قبوله للنشر 2010/2/4.