

מאמר סקירה: שימוש במיצוי פלסמה עשירה בטסיות (PRP – Platelet Rich Plasma) לטיפול בפציעות ספורט אורתופדיות

ד"ר אורן צביאלי, ד"ר אהוד ראט, ד"ר אייל עמר, פרופ' עופר לוי

פציעות ספורט של מערכת השלד והשריר (מוסקולוסקלטליות) הן בין הפגיעות הנפוצות כיום ועשויות לגרום לכאבים וסבל ארוכי טווח, פגיעה באיכות החיים ובפרודוקטיביות בעבודה ואף לנכויות¹.

כיום נוסף השימוש במיצוי פלסמה עשירה בטסיות (PRP) כאפשרות טיפולית משמעותית בניהול של פציעות ספורט במטרה לחזור לפעילות ספורטיבית ולאיימונים. הרעיון מאחורי השיטה הוא למנף את תהליכי הריפוי הטבעי של הגוף להשגת החלמה מהירה וטובה יותר באמצעות טכנולוגיות ביולוגיות כגון תרפיה באמצעות תאים (Cell Therapy) הנדסת רקמות ומיצוי מרכיבים בדם עצמי (Autologous Blood concentrates). המטרה היא לגרות החלמה של רקמות רכות וקשות ע"י גירוי מנגנוני הצמיחה והתיקון.

רקע

מיצוי פלסמה עשירה בטסיות (PRP) הנו לרוב נזל פלסמה מועשר בריכוז גבוה של טסיות. דגימת דם טרייה נלקחת מהמטופל ועוברת תהליך הכולל סירכוז להפרדת מרכיבי הדם השונים. הנזל העשיר בטסיות מוזרק בצורתו הנוזלית או ספוג בג'ל ביולוגי (פיברין) לאיזור הפצוע כדי לקדם החלמה. הנוחות והזמינות של PRP בשימוש לצד מיטת החולה בניתוח או לחליפין במרפאה הפכים אותו לאטרקטיבי אף יותר.

שימוש במיצוי טסיות בעירוי מוכר בספרות בנסינות טיפול בדימום כתוצאה מחסר בהם (טרומבוציטופניה)². שימוש במוצרי דם אחרים כגון פיברין כדבק ביולוגי להפחתת דימום בניתוח אורתופדי³. שימוש ב-PRP מתועד כיעיל לריפוי פצעים⁴, לתיקון המניסקוס^{5,6}, לחיזוק שחזור של הרצועה הקדמית הצולבת⁷. סיוע בטיפול בכוויות⁸, בכיבים סכרתיים^{9,10}, ניתוחי פה ולסת^{11,12}, שיקום עצבי¹³, טיפול בהתקרחות¹⁴ ועוד.

השימוש במיצוי פלסמה עשירה בטסיות (PRP) לריפוי שנוי במחלוקת בספרות. פופולריות השימוש במיצוי פלסמה עשירה בטסיות (PRP) התחזקה ב-2009 כשיצא מאמר ב-New York Times¹⁵ שבו נחשף לקהל רחב הטיפול בספורטאי צמרת. עם זאת קיימים הבדלים משמעותיים באופן ההכנה, בריכוז הטסיות, בתאי דם לבנים ואדומים, בריכוז ואיכות גורמי הגדילה השונים בין ערכות שונות של PRP. למעשה מדובר בשם כוללני למוצרים שונים המתיימרים להיות דומים בכך שריכוז הטסיות במוצר גבוה. יש המשרים שפעול של הטסיות בדרכים שונות ויש המזריקים PRP ללא יזימתו. ההיסטוריה של PRP החלה בפרסום בשנות התשעים¹² בתחום השחזור הניתוחי בפה ולסת. קדם לכך שימוש בדבק פיברין^{16,17}.

ריפוי עצם

שימוש ב-PRP לאוגמנטציה של חיבור עצם¹⁸ צובר תאוצה למרות היותו שנוי במחלוקת. מגוון הטכניקות מקשה על ההשוואה בינהן ועל מדידת ההצלחה. ריפוי עצם מחולק באופן מסורתי לארבעה שלבים: שלב ההמטומה, הקאלוס הרך, הקאלוס הקשה, ועיצוב מחדש (Remodeling). בעקבות ההמטומה בא השלב האינפלמטורי, ולאחריו צמיחת כלי דם (נאווסקולריזציה), המאפשר את יצירת הקאלוס הרך. השלב האינפלמטורי מווסת ע"י ציטוקינים פרו-אינפלמטורים אשר מופרשים ממאקרופג'ים, תאים לבנים פולימורפונוקלארים ולימפוציטים¹⁹. הביטוי של TNF- α ואינטרלוקין-1 (IL-1) מגיע לשיאו כיממה לאחר הטראומה, ומשפעל מפלים שניונים המכוונים את היווצרות הקאלוס²⁰. הטסיות מופעלות בשלב המוקדם של הטראומה ויחד עם פיברין מייצרות את ההמטומה, מפרישות מגוון של ציטוקינים המקדמים את הריפוי והיווצרות הקאלוס²¹, במקרה של שבר עקב תפקידן המשמעותי ביצירת ההמטומה הטסיות מהוות את עיקר יצרניות הציטוקינים המשפעלים את יצירת הקאלוס¹⁸.

ריפוי פציעות רקמה רכה

פציעות ספורט כוללות סוגים רבים של פגיעה ברקמות הרכות: גידים, שריר, רצועות, עצבים וכן הלאה. בדומה לשלבים בריפוי עצם גם ברקמה הרכה 4 שלבים²². שלב ההמוסטזיס, שלב אינפלמטורי, שלב הפרוליפרציה, ושלב ארגון מחדש. בשלב ההמוסטזיס, נוצר קריש דם מטטיות, פיברין וקסקדת הקרישה. שלב זה מפעיל את יכולות ההיצמדות והאגרגציה של הטטיות ע"י חשיפה שלהן למטריקס הבין תאי והקולגן. גרנולות אלפא מופרשות²³, ומתוכן גורמי צמיחה, כימוקינים, ציטוקינים ומתווכים פרו-אינפלמטוריים (סרוטונין, בראדיקינין, פרוסטגלנדינים, פרוסטציקלינים, טרומבוקסאן, והיסטמין)²⁴; בשלב האינפלמטורי ישנה תגובה של אודם, בצקת, כאב, הפרשת ציטוקינים וגורמי דלקת מקומית. המתווכים הכימוטקטיים מושכים אל איזור הפצע ניטרופילים ולאחר מכן מאקרופאגים הממשיכים את עבודת ההטרייה הניקיון והפיקוח על הפצע. הם גם מגייסים תאים פיברובלסטים ותאי אנדותל. תאי החיסון האחרונים להופיע בשלב האינפלמטורי הם הלימפוציטים²². לאחר מספר ימים מתחיל שלב ההבראה שמאופיין בפרוליפרציה והתמיינות של תאים מקומיים. שלב חשוב זה מגייס תאים פלורופוטנטים ותאי גזע מהרקמות השכנות לתהליך הריפוי. פיברובלסטים מתמיינים ומתחלקים ליצור צלקת לכיוון הפצע, ומתחילה אנגיוגנזיס ורקמת גרנולציה. בטווח הארוך ממשיך השלב האחרון של עיצוב מחדש של הרקמה המצולקת – remodeling. בתהליך זה מתקיימת "החלפה זוחלת" (creeping substitution) של קולגן מסוג 3, פיברונקטין, ופרוטיאוגליקן לקולגן סוג 1²². לגורמים רבים יש השפעה על תהליך זה: איסכמיה, זיהום מקומי, מצב מטבולי (סכרת), היפוקסיה של הרקמה ומצב תזונתי. יתרונות השימוש ב-PRP ניכרים בשלב זה.

שרירים

רקמת שריר מעורבת בלפחות חצי ממקרי הפציעה ברפואת ספורט. לרוב מדובר בקונטוזיות או בעבודת יתר של השריר הנוטה להחלמה איטית ולפעמים אף מצטלק, עובדה אשר מביאה לחזרה לא אופטימלית לשגרה²⁵. נמצא שפעילות פרוסטגלנדין E2 משפיעה במשוב שלילי על ביטוי TGFβ בפציעות שרירים. TGFβ משרר פרוליפרציה של פיברופלסטים בשריר ולכן נוצרת צלקת פיברוטית²⁶. עובדה זו הביאה לניסוי של מתן PRP יחד עם Losartan כדי לאפשר אינהיביציה של TGFβ, וכך נצפתה החלמה ו-Remodeling טובים יותר²⁷. כאשר מדובר בפציעת עומס יתר (Strain) הזרקת PRP הניבו תוצאות קליניות טובות לעומת הזרקת פלסבו²⁸.

גידים

פציעות גידים הינה פציעה נפוצה בספורט. הפגיעה יכולה להתבטא במתיחה, קרע, או ניוון של הגיד. החלמה של קרע בגיד, בעיקר גיד אשר היה ברטרקציה היא ארוכה, ומערבת רקמת צלקת שחוזקה נחות מחוזק הגיד המקורי²². למרות שבדגימות היסטולוגיות לא נמצאה רקמת דלקת בגידים מנוונים נפוץ הטיפול בנוגדי דלקת סטרואידים ולא סטרואידים, ויעילות הטיפולים שנוייה במחלוקת. קיימים מספר מחקרים המראים כי ל-PRP יש אפקט מרפא. תרבויות טנוציטים הגיבו בפרוליפרציה מוגברת ובהתמיינות לטנוציטים פעילים²⁹ ל-PRP במבחנה³⁰. במחקר בו הוזרק PRP לגיד פטלרי תקין של ארנבת³¹ נמצא אנגיוגנזיס מוגבר כתוצאה מביטוי גבוה של VEGF. לאנגיוגנזיס בגיד הפטלרי האפקט עשוי להיות מחד של החלמה או מאידך חולשה של הגיד. בניסוי בעכברים הזרקת PRP לגיד הפטלרי הנבה תוצאות קליניות משופרות והפחתה בכאב מדלקת³². השימוש ב-PRP כאוגמנטציה לתיקון גידי השרוול המסובב: למרות שאין עדות סטטיסטית ליתרון היסטולוגי של תיקון הגיד בנוכחות PRP קיימים מחקרים המראים יתרון סטטיסטי בניהול כאב בתר ניתוח³³⁻³⁶.

רצועות

הזרקת PRP לליגמנטים נמצאה כמשפרת את החלמת הרצועה, במנגנון של נאווסקולריזציה בתיאור VEGF. מכך בוצע מחקר באוגמנטציה של שחזור רצועה קדמית ACL מהזרקת PRP. מסקנת המחקר היא שהזרקת PRP לשחזור רצועה צולבת קדמית משפר את החוזק והמבנה³⁷.

מפרקים

במטה אנליזה³⁸ של ספרות השימוש ב-PRP למחלת ניוון מפרקים (אוסטיאוארתריטיס) בברכיים נמצא שלמרות פערי טכניקה וניסוח, יש סבירות ביולוגית לשימוש ב-PRP ככלי טיפולי ב-OA. ניסוי מבחנה (In Vitro)

של PRP הראו עלייה בחיות הכונדרוציטים, שגשוג ויכולת סינתטית וכי יש ל-PRP השפעה מעכבת על המפל הדלקתי באוסטיאוארתריטיס. מחקרים קליניים (In vivo) הראו כי PRP משפר גם את קשיחות הסחוס והופעה היסטולוגית של רקמת תיקון סחוס במפרק, במיוחד פרוטאוגליקן וקולגן מסוג II³⁹⁻⁴². בסקירה זו רק 2 מחקרים דיווחו על תופעות לוואי בעת הזרקת PRP (אי נוחות, flare, כאב מקומי – חלפו בטווח זמן קצר לאחר ההזרקה). התוצאות מראות כי הזרקת PRP ל-OA בברך היא יעילה עד 6 חודשים; עם זאת, פוטנציאל שינוי המחלה לטווח הארוך ופוטנציאל הקלה סימפטומטית יותר מ-6 חודשים עדיין לא ידועים. יתר על כן, מוצגות ראיות מצטברות (מתונות בלבד) ש-PRP עשוי להיות טוב יותר מאשר הזרקת חומצה היאלורונית. לא נמצאו מחקרים השוואתיים של PRP למול אמצעים לא חודרניים כגון פיזיותרפיה או ירידה במשקל, או מחקרים להשוואה סינרגיסטית של PRP בשילוב עם חומצה היאלורונית.

על הטסיות

הטסיות אשר נוצרות מהתפצלות של מגהקרוציטים במח העצם משתחררות למחזור הדם. בטסיות קיימים שלושה סוגים עיקריים של וקואולות: גרנולות אלפא, גרנולות בעלות צפיפות גבוהה וליזוזומים. גרנולות אלפא המהוות כ-10% מנפח הטסיות מפרישות עם שפעולה מגוון רחב של גורמי גדילה, גורמי היצמדות וחלבוני שפעול ממברנליים, כולל ציטוקינים⁴³. הגרנולות בעלות הצפיפות הגבוהה מפרישות בעיקר חומרים המעודדים היצמדות, יוני סידן ואדנוזין דיפוספט⁴⁴. הליזוזומים משחררים אנזימים מאכלים⁴⁵. המאזן בין כל אלו הוא שמשפיע על היווצרות רקמת החלמה, והיחסים הסינרגיסטיים בין הציטוקינים השונים. מעבר להיצמדות הטסיות לתאי האנדותרל בתיווך גליקופרוטאינים מגרנולות האלפא (פיברונקטין, ויטרונקטין, טרומבוספונדין, פקטור וון וילברנד (fibronectin, vitronectin, thrombospondin, von Willebrand factor), ויטרונקטין מקדם גם היצמדות והתפשטות של תאים אוסטיאוגנים (תאי עצם)⁴⁶. אורך חייהן של הטסיות במחזור הדם הנו רק 8-10 ימים, אם כן כיצד מספיקות הטסיות לקחת חלק פעיל בייצור ושפעול מפל החלמה? התשובה היא שככל הנראה החלבונים המופרשים נלכדים בתוך המטריקס הבין תאי ובפברין¹⁸.

גורמי הצמיחה

גורמי הצמיחה (Growth Factors) משרים את השפעתם דרך היקשרות לליגנדים על רצפטורים ממברנליים בתאי המטרה. אלו מעבירים את המסר לפנים התא ומשפעלים חלבונים תוך תאיים הנקשרים למולקולות טירוזין (phosphorylated tyrosine). המסר התוך תאי ממשיך לעבור ולהשפיע על גרעין התא לייצר חלבונים המעודדים נדידה של התא, התחלקות והתמיינות⁴⁷. גורמי צמיחה אשר נמצאו בעלי חשיבות לריפוי של שבר:

platelet-derived growth factor (PDGF)	חשיבותו ביכולת להשרות כימוטקסיס של תאי אב (Stem Cells) מזנכימליים ⁴⁸ , ותת התמיינות (מיטוגנזיס) של תאי רקמת חיבור. מעורבותו באנגיוגנזיס ובכימוטקסיס משני של נאוטרופילים ומקרופאגים כמקור משני להפרשת גורמי צמיחה ותמיכה בריפוי עצם.
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	אחד הציטוקינים הפוטנטיים בהשראת אנגיוגנזיס. גורם להפרשת מטאלופורטאזות המאכלות רקמת חיבור ומפלטות נתיב ליצירת כלי דם חדש. השפעה חזקה על תאי אנדותרל להתמיינות והתחלקות ⁴⁹ . חשיבות האנגיוגנזיס הנה כמובן ביכולת לספק חמצן לאיזור ההמטומה האיסכמי. בנוסף קיימים רצפטורים ל VEGF על גבי כונדרוציטים באפיפיזות, מה שמרמז על תפקיד חשוב בהארכת העצם והתגרמות אנכונדרלית ⁵⁰ .
Hepatocyte growth factor (HGF)	מוערך כמשתתף עקיף בהגברה של סיגנל VEGF לאנגיוגנזיס, וליצירת משוב חיובי ל BMP, המשרה יצירת עצם (אוסטיאוגנזיס) ⁵¹ .
Transforming growth factor β 1, β 2 and β 3 (TGF- β 1, - β 2, - β 3)	קבוצת גורמי צמיחה עם מאפיינים דומים מבחינה תפקודית ומבנית. תפקידים ביולוגיים המשפיעים על גדילת תאים, התמיינות, היצמדות, נדידה, אפופטוזיס. בקבוצה TGF- β 1, - β 2, - β 3, BMP (Bone Morphogenic Factor), growth differentiation factors (GDF), activins, inhibins ⁵² . חלבוני TGF- β משתתפים בהשראת התמיינות כונדרוגנית ואוסטיאוגנית, עידוד אפופטוזיס ואינהיביציה של

אוסטיאוקלסטים מתבטאים בשלב האנכונדרלי של ריפוי שברים ¹⁸ .	
קבוצת חלבונים אשר נמצאו כאוסטיאואינדוקטיבים פוטנטיים ⁵³ . BMP 2-4-6-7 נמצאו כמופרשים בסדרי גודל קטנים ע"י הטסיות. התכשירים המוכרים היום בשוק של BMP משחררים ריכוזים גבוהים בהרבה על מנת לקבל אינדוקציה של העצם. לכן לא ברורה החשיבות הקלינית של הפרשת BMP ע"י הטסיות ¹⁸ .	Bone morphogenetic proteins (BMP)
גורמי הצמיחה ממשפחת FGF נמצאו בביטוי בתהליכי אוסטיאובלסטוגנזיס ועיצוב מחדש Remodeling. רצפטורים ל-FGF מתבטאים על גבי ממברנות של אוסטיאובלסטים (FGFR1 FGFR2) במהלך שלב הקאלוס הקשה ¹⁸ . משערים כי FGF-2 משתתף בתהליכי השראת אנגיוגנזה אם באופן ישיר ואם ע"י משוב חיובי לביטוי של VEGF.	Fibroblast growth factor (FGF)
מופרש מתוך העצם (Bone Matrix), תאים אנדותליים, אוסטיאובלסטים, כונדרוציטים וטסיות בהשראת ציטוקינים ממשפחת BMP. IGF גורם לפרולפירציה והתבגרות, היפרטרופיה במסלול האנכונדרלי, וייתכן בשלבים המאוחרים יותר של התבגרות העצם ועיצובה מחדש.	Insulin-like growth factor (IGF)

שיטות הכנה של PRP

הכנה של מנת PRP מתחילה בדגימת דם טרי, למבחנה עם נוגד קרישה. נוגדי הקרישה בשימוש הם למשל מבוססי ציטראט Acid-citrate-dextrose solution A (ACD-A) או סודיום ציטראט. ACD-A משמר את יכולת התקשורת הציטוקינית בין הטסיות ולכן גם את תגובתיות הטסיות. Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) נמצא בשימוש אך מונע אגרגציה שלהן ולכן פחות בשימוש בהכנת PRP.

קיימות מכוונות של מיון טסיות Plateletpheresis ושל סינון, אך השיטה הנפוצה ביותר להכנה הינה בצנטריפוגה. בצנטריפוגה מדורגת Two step מבצעים הפרדה ראשונית של נוזל הפלסמה מאריתרוציטים ורוב הלויקוציטים, ולאחר מכן צנטריפוגה עדינה להפרדה של הטסיות משארית הלויקוציטים. בצנטריפוגה One step קיימים קיטים המאפשרים ברמה זו או אחרת הפרדה של הדם לשלוש שכבות: פלסמה, Buffy coat ואריתרוציטים. שכבת Buffy coat מכילה טסיות ולויקוציטים ואותה בוצרים ל-PRP. לכל ערכה יש יכולת שונה להפרדה בין סוגים שונים של לויקוציטים, אריתרוציטים וטסיות, מה שגורם למעשה למגוון פרפרטים המכונים PRP. מושג זה, פלסמה עשירה בטסיות מתכוון בספרות לריכוז טסיות הגבוה מהפיסילוגי. ריכוז ממוצע בדם של הטסיות הוא סביב 200×10^9 וכל ריכוז גבוה ממנו בין פי 2 ל-8 עשוי להיחשב כ-PRP. הפרמטרים לצנטריפוגה צריכים להיות כאלו אשר אינם פוגעים בטסיות ונעים בין 160-3000g למשך 3-20 דקות. עלות המירוץ להשגת התכשיר הטהור והמדויק ביותר של טסיות היא סכנה של ירידה בתפקודן ע"י שבירתן, והפעלה מוקדמת שלהן, ירידה באיכות וכמות גורמי הגדילה כדוגמת $TGF-\beta^{54}$.

הטסיות דורשות שפעול¹⁸, השיטה הפשוטה ביותר היא להשאיר את דגימת ה-PRP במצבה ללא אקטיבציה (anticoagulated state) בהנחה שהמגע עם הרקמות ישפעל אותן. קיימות גם שיטות הפעלה בעודן במבחנה ex vivo בטרם תוזרק הדגימה לגוף. יזימה באמצעות טרומבין מן החי נוסתה אך נתקלה בסיבוכים, קיים תיאור של שפעול באמצעות טרומבין אוטוגני. לכן המשפעל הקיים הוא באמצעות יוני סידן (קלציום כלוריד)⁵⁵. זהו עוד תחום שבו נדרש עוד מחקר השוואתי.

ריכוז הלויקוציטים ב-PRP

אחד הגורמים המקשים על השוואה בין השיטות השונות כי ההבדלים הקיימים בהרכב הלויקוציטים הם גדולים ולפעמים אין התייחסות למרכיב זה. נמצא כי אריתרוציטים גורמים לאפופטוזיס מוגבר בפיברופלסטים⁵⁶, ולכן בערכות PRP מסחריות יש בדרך כלל ניסיון לסנן אותם. כמות הלויקוציטים המדווחת ב-Buffy coat נעה בין פי 0.13 לפי 5.6 מריכוזם בדם^{57,18}. בניגוד לפולימורפונוקלארים אשר ריבויים משרה אינהיביציה לפרולפירציה⁵⁷, נוכחות של תאי דם לבנים מונוקלארים משרים משוב חיובי אנאבולי⁵⁸. אחת המחשבות שהועלו היא לנצל ריכוזים שונים של לויקוציטים ב-PRP למטרות שונות, למשל הגברת תכולת לויקוציטים בתערובת למניעת זיהום בניתוחים⁵⁹, או הפחתת התגובה האינפלמטורית ברקמת שריר באמצעות

סינום מהתערובת⁶⁰, סינון מבוקר של טסיות עם מונוקלארים וללא פולימורפונוקלארים לחיבור עצם וגיד⁵⁸.
 הפירין כמדיום או כשלב להזרקת PRP מגיע בצורות שונות של הכנה⁶¹.

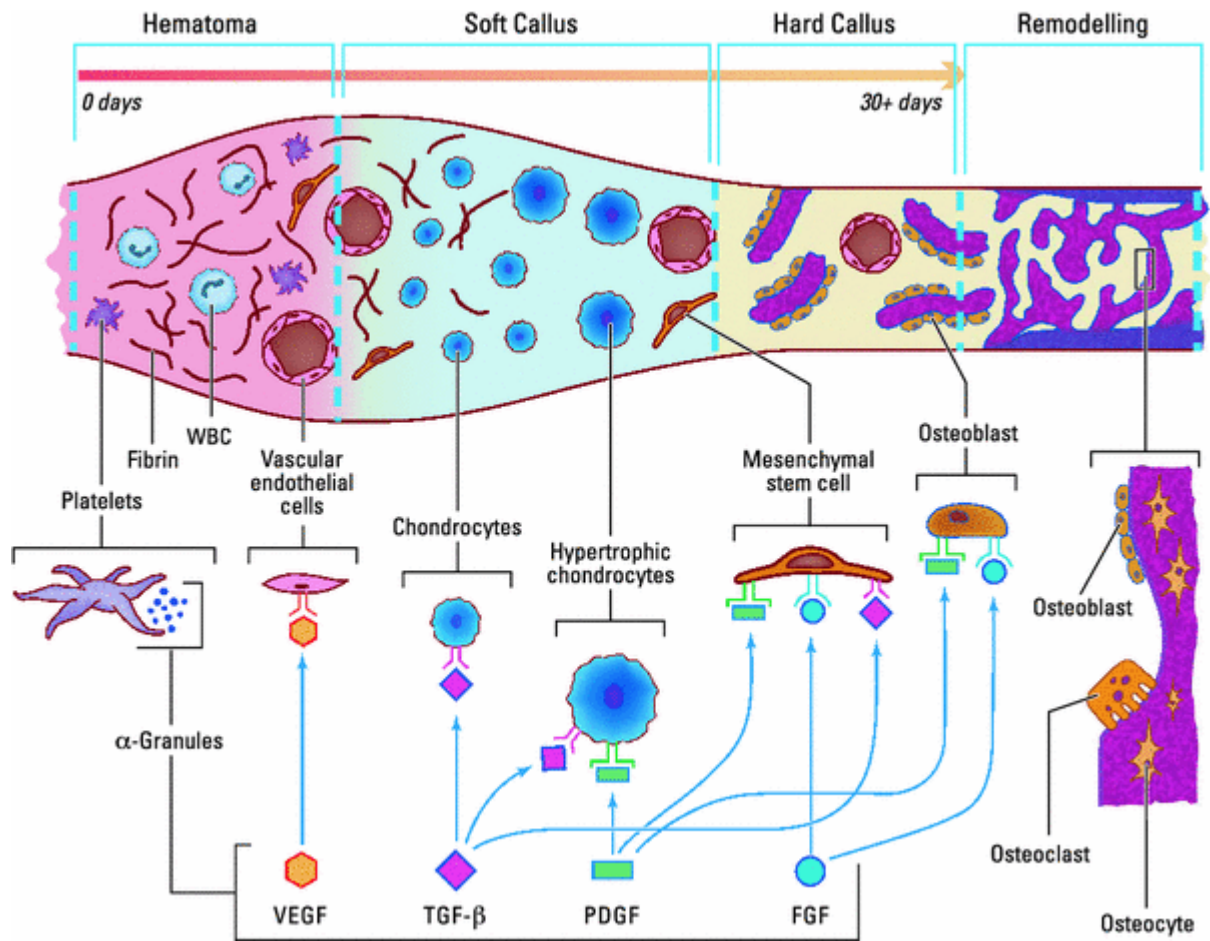


Figure 1: מתוך Malhotra et Al¹⁸ גורמי הצמיחה לאורך קו הזמן בתהליך ריפוי שבר

מסקנות

המושג PRP הנו שם לסל תרכובות מגוון וקיימת שונות גדולה במרכיבים מלבד ריכוז הטסיות. עובדה זו מקשה על סטנדרטיזציה של המחקר של PRP. בניסיון להגדיר תרכובות שונות של PRP ראוי לציין את ריכוז הטסיות, ריכוז הלויקוציטים, רמת פיברינוגן, וצורת השפעול. מכיוון שהשם PRP הוא למעשה מטרייה רחבה למגוון של פרפרטים למטרות שונות, ראוי לדייק ולהגדיר את מטרות הטיפול בספרות.

יתרונות: אוטולוגי, גורמי צמיחה טבעיים מן הגוף, סיכוי נמוך לתגובה או העברת מחלה. ריכוז יחס ביולוגי מאוזן של גורמי הגדילה. עד כה לא קיים בספרות תיעוד של השראת היפרפלזיה או גידול סרטני בעקבות PRP. קיימות ערכות רבות בשוק המאפשרות שימוש במוצר בתנאי מרפאה פשוטה, ומערכות סגורות פשוטות למניעת העברת זיהום.

התוויות אפשריות ברפואת ספורט: הזרקה למפרקים (ברך ניוונית – אוסטיאוארתריטיס, פובאלגיה⁶²), גידים דלקתיים (גיד פטלרי, מרפק טניס או גולף), אוגמנטציה של תיקון גיד (השרוול המסובב בכתף), תסמונת הצביטה, פגיעה בשרירים – קונטוזיה או קרע, כאבים מעומס יתר.

התוויות נגד: טרומבוציטופניה, מחלת אי תפקוד טסיות, אי יציבות המודינמית, ספטיסמיה, זיהום באיזור ההזרקה, שימוש בנוגדי דלקת לאחר הטיפול בטווח של 48 שעות עד 6 שבועות.

REFERENCES

- .1 Woolf AD, Pflieger B. Burden of major musculoskeletal conditions. *Bull World Health Organ.* 2003;81: 646-56.
- .2 Daly PA, Schiffer CA, Aisner J, Wiernik PH. Platelet transfusion therapy. One-hour posttransfusion increments are valuable in predicting the need for HLA-matched preparations. *Jama.* 1980;243: 435-8.
- .3 Levy O, Martinowitz U, Oran A, Tauber C, Horoszowski H. The use of fibrin tissue adhesive to reduce blood loss and the need for blood transfusion after total knee arthroplasty. A prospective, randomized, multicenter study. *J Bone Joint Surg Am.* 1999;81: 1580-8.
- .4 Bold EL, Wanamaker JR, Zins JE, Lavertu P. The use of fibrin glue in the healing of skin flaps. *Am J Otolaryngol.* 1996;17: 27-30.
- .5 van Trommel MF, Simonian PT, Potter HG, Wickiewicz TL. Arthroscopic meniscal repair with fibrin clot of complete radial tears of the lateral meniscus in the avascular zone. *Arthroscopy.* 1998;14: 360-5.
- .6 Kamimura T, Kimura M. Repair of horizontal meniscal cleavage tears with exogenous fibrin clots. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19: 1154-7.
- .7 Hensler D, Illingworth KD, Musahl V, Working ZM, Kobayashi T, Miyawaki M, et al. Does fibrin clot really enhance graft healing after double-bundle ACL reconstruction in a caprine model? *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2014.
- .8 Pallua N, Wolter T, Markowicz M. Platelet-rich plasma in burns. *Burns.* 2010;36: 4-8.
- .9 Akingboye AA, Giddins S, Gamston P, Tucker A, Navsaria H, Kyriakides C. Application of autologous derived-platelet rich plasma gel in the treatment of chronic wound ulcer: diabetic foot ulcer. *J Extra Corpor Technol.* 2010;42: 20-9.
- .10 Langer A, Rogowski W. Systematic review of economic evaluations of human cell-derived wound care products for the treatment of venous leg and diabetic foot ulcers. *BMC Health Serv Res.* 2009;9: 115.
- .11 Simonpieri A, Del Corso M, Vervelle A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, et al. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 2: Bone graft, implant and reconstructive surgery. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13: 1231-56.
- .12 Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 1998;85: 638-46.
- .13 Shen YX, Fan ZH, Zhao JG, Zhang P. The application of platelet-rich plasma may be a novel treatment for central nervous system diseases. *Med Hypotheses.* 2009;73: 1038-40.
- .14 Arshdeep ,Arshdeep KMS. Platelet-rich plasma in dermatology: Boon or a bane? 2014.
- .15 Alan S. New Procedure Uses Athletes' Own Blood to Treat Injuries - NYTimes.com. New York: The New York Times, 2014.
- .16 Brennan M. Fibrin glue. *Blood Rev.* 1991;5: 240-4.

- .17 Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *J Oral Maxillofac Surg.* 1994;52: 161-5; discussion 66.
- .18 Malhotra A, Pelletier MH, Yu Y, Walsh WR .Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. *Arch Orthop Trauma Surg.* 2013;133: 153-65.
- .19 Einhorn TA. The science of fracture healing. *J Orthop Trauma.* 2005;19: S4-6.
- .20 Mountziaris PM ,Mikos AG. Modulation of the inflammatory response for enhanced bone tissue regeneration. *Tissue Eng Part B Rev.* 2008;14: 179-86.
- .21 Lieberman JR, Daluiski A, Einhorn TA. The role of growth factors in the repair of bone. Biology and clinical applications. *J Bone Joint Surg Am.* 2002;84-a: 1032-44.
- .22 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-
- .23 Bergmeier W, Hynes RO. Extracellular matrix proteins in hemostasis and thrombosis. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012;4.
- .24 Stadelmann WK, Digenis AG, Tobin GR. Physiology and healing dynamics of chronic cutaneous wounds. *Am J Surg.* 1998;176: 26s-38s.
- .25 Beiner JM, Jokl P. Muscle contusion injuries: current treatment options. *J Am Acad Orthop Surg.* 2001;9: 227-37.
- .26 Shen W, Li Y, Zhu J, Schwendener R, Huard J. Interaction between macrophages, TGF-beta1, and the COX-2 pathway during the inflammatory phase of skeletal muscle healing after injury. *J Cell Physiol.* 2008;214: 405-12.
- .27 Bedair HS, Karthikeyan T, Quintero A, Li Y, Huard J. Angiotensin II receptor blockade administered after injury improves muscle regeneration and decreases fibrosis in normal skeletal muscle. *Am J Sports Med.* 2008;36: 1548-54.
- .28 Hammond JW, Hinton RY, Curl LA, Muriel JM, Lovering RM. Use of autologous platelet-rich plasma to treat muscle strain injuries. *Am J Sports Med.* 2009;37: 1135-42.
- .29 Zhang J, Wang JH. Platelet-rich plasma releasate promotes differentiation of tendon stem cells into active tenocytes. *Am J Sports Med.* 2010;38: 2477-86.
- .30 Maffulli N, Longo UG, Denaro V. Novel approaches for the management of tendinopathy. *J Bone Joint Surg Am.* 2010;92: 26.04-13
- .31 Taylor MA, Norman TL, Clovis NB, Blaha JD. The response of rabbit patellar tendons after autologous blood injection. *Med Sci Sports Exerc.* 2002;34: 70-3.
- .32 Zhang J, Middleton KK, Fu FH, Im HJ, Wang JH. HGF mediates the anti-inflammatory effects of PRP on injured tendons. *PLoS One.* 2013;8: e67303.
- .33 Mishra A, Randelli P, Barr C, Talamonti T, Ragone V, Cabitza P. Platelet-rich plasma and the upper extremity. *Hand Clin.* 2012;28: 481-91.
- .34 Randelli PS, Arrigoni P, Cabitza P, Volpi P, Maffulli N. Autologous platelet rich plasma for arthroscopic rotator cuff repair. A pilot study. *Disabil Rehabil.* 2008;30: 1584-9.
- .35 Randelli P, Arrigoni P, Ragone V, Aliprandi A, Cabitza P. Platelet rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: a prospective RCT study, 2-year follow-up. *J Shoulder Elbow Surg.* 2011;20: 518-28.
- .36 Randelli P, Randelli F, Ragone V, Menon A, D'Ambrosi R, Cucchi D, et al. Regenerative medicine in rotator cuff injuries. *Biomed Res Int.* 2014;2014: 129515.
- .37 Spindler KP, Murray MM, Carey JL, Zurakowski D, Fleming BC. The use of platelets to affect functional healing of an anterior cruciate ligament (ACL) autograft in a caprine ACL reconstruction model. *J Orthop Res.* 2009;27: 631-8.
- .38 Khoshbin A, Leroux T, Wasserstein D, Marks P, Theodoropoulos J, Ogilvie-Harris D, et al. The efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of symptomatic knee osteoarthritis: a systematic review with quantitative synthesis. *Arthroscopy.* 2013;29: 2037-48.

- .39 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: 589-97.
- .40 Ayhan E, Kesmezacar H, Akgun I. Intraarticular injections (corticosteroid, hyaluronic acid, platelet rich plasma) for the knee osteoarthritis. *World J Orthop*. 2014;5: 351-61.
- .41 Kruger JP, Hondke S, Endres M, Pruss A, Siclari A, Kaps C. Human platelet-rich plasma stimulates migration and chondrogenic differentiation of human subchondral progenitor cells. *J Orthop Res*. 2012.845-52 :30;
- .42 Milano G, Deriu L, Sanna Passino E, Masala G, Manunta A, Postacchini R, et al. Repeated platelet concentrate injections enhance reparative response of microfractures in the treatment of chondral defects of the knee: an experimental study in an animal model. *Arthroscopy*. 2012;28: 688-701.
- .43 Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev*. 2009;23: 177-89.
- .44 Whiteheart SW. Platelet granules: surprise packages. *Blood*. 2011;118: 1190-1.
- .45 Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. 2001;12: 261-73.
- .46 LeBaron RG, Athanasiou KA. Extracellular matrix cell adhesion peptides: functional applications in orthopedic materials. *Tissue Eng*. 2000;6: 85-103.
- .47 Kawabata M, Imamura T, Miyazono K. Signal transduction by bone morphogenetic proteins. *Cytokine Growth Factor Rev*. 1998;9: 49-61.
- .48 Rasubala L, Yoshikawa H, Nagata K, Iijima T, Ohishi M. Platelet-derived growth factor and bone morphogenetic protein in the healing of mandibular fractures in rats. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2003;41: 173-78.
- .49 Bauer SM, Bauer RJ, Velazquez OC. Angiogenesis, vasculogenesis, and induction of healing in chronic wounds. *Vasc Endovascular Surg*. 2005;39: 293-306.
- .50 Gerber HP, Vu TH, Ryan AM, Kowalski J, Werb Z, Ferrara N. VEGF couples hypertrophic cartilage remodeling, ossification and angiogenesis during endochondral bone formation. *Nat Med*. 1999;5: 623-8.
- .51 Xin X, Yang S, Ingle G, Zlot C, Rangell L, Kowalski J, et al. Hepatocyte growth factor enhances vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis in vitro and in vivo. *Am J Pathol*. 2001;158: 1111-20.
- .52 Heldin CH, Miyazono K, ten Dijke P. TGF-beta signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature*. 1997;390: 465-71.
- .53 Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science*. 1965;150: 893-9.
- .54 Dugrillon A, Eichler H, Kern S, Kluter H. Autologous concentrated platelet-rich plasma (cPRP) for local application in bone regeneration. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2002;31: 615-9.
- .55 Nagata MJ, Messori M, Pola N, Campos N, Vieira R, Esper LA, et al. Influence of the ratio of particulate autogenous bone graft/platelet-rich plasma on bone healing in critical-size defects: a histologic and histometric study in rat calvaria. *J Orthop Res*. 2010;28: 468-73.
- .56 Fredriksson K, Stridh H, Lundahl J, Rennard SI, Skold CM. Red blood cells inhibit proliferation and stimulate apoptosis in human lung fibroblasts in vitro. *Scand J Immunol*. 2004;59: 559-65.
- .57 Sundman EA, Cole BJ, Fortier LA. Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. *Am J Sports Med*. 2011;39: 2135-40.
- .58 Yoshida R, Murray MM. Peripheral blood mononuclear cells enhance the anabolic effects of platelet-rich plasma on anterior cruciate ligament fibroblasts. *J Orthop Res*. 2013;31: 29-34.
- .59 Flad HD, Brandt E. Platelet-derived chemokines: pathophysiology and therapeutic aspects. *Cell Mol Life Sci*. 2010;67: 2363-86.
- .60 Sanchez M, Anitua E, Orive G, Mujika I, Andia I. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. *Sports Med*. 2009;39: 345-54.

.61 Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T .Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends Biotechnol. 2009;27: 158-67.

.62 Scholten PM, Massimi S, Dahmen N, Diamond J, Wyss J. Successful Treatment of Athletic Pubalgia in a Lacrosse Player with Ultrasound-Guided Needle Tenotomy and Platelet-Rich Plasma Injection: A Case Report. PM R. 2014.