



## The Effect of PRGF on Healing of Clamp-Induced Tendinopathy in Animals

### *Klemp ile Tendinopati Oluşturulan Hayvanlarda PRGF Uygulamasının İyileşmeye Etkisi*

Uğur Diliçikik<sup>1</sup>, Haydar Ali Demirel<sup>2</sup>, Gürhan Dönmez<sup>1</sup>, Mustafa Fevzi Sargon<sup>3</sup>, Emir Birant<sup>4</sup>,  
Mahmut Nedim Doral<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Department of Sports Medicine, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey

<sup>2</sup>Faculty of Sport Sciences, Hacettepe University, Ankara, Turkey

<sup>3</sup>Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey

<sup>4</sup>Department of Mechanical Engineering, Middle East Technical University Ankara, Turkey

<sup>5</sup>Department of Orthopedics and Traumatology, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey

U. Diliçikik   
0000-0002-2675-1342

H.A. Demirel   
0000-0003-3334-4793

G. Dönmez   
0000-0001-6379-669X

M. Fevzi Sargon   
0000-0002-7740-7111

E. Birant   
0000-0001-9127-1831

M.N. Doral   
0000-0003-1380-7500

*Geliş Tarihi / Date Received:*  
24.10.2017

*Kabul Tarihi / Date Accepted:*  
27.11.2017

*Yayın Tarihi / Published*  
*Online:* 17.04.2018

*Yazışma Adresi /*

*Corresponding Author:*

Uğur Diliçikik  
Hacettepe Üniversitesi, Spor  
Hekimliği AD, Ankara,  
Turkey.

*E-mail:* ugurdilicikik@gmail.com

©2018 Türkiye Spor Hekimleri  
Derneği. Tüm hakları saklıdır.

#### ABSTRACT

**Objectives:** To investigate the effect of PRGF on the healing of the tendon damage in the Achilles tendinopathy model.

**Material and Methods:** A preliminary study was designed to obtain more apparent tendinopathy changes in the subculture. Histopathologically, second level compression with a clamp for 1 minute followed by releasing for 3 minutes applying the same mechanical stimulus procedure for four times, was defined as the optimal compression mode for the most optimal damage in terms of tendinopathy. Thirty-four female Sprague Downey type rats were divided into five separate groups and clamped tendon damage was formed on unilateral (left) Achilles tendons. The first group was a control group (Kontrol: CN); in the second group tissue specimens were taken from the rats immediately after being clamped (K-0); from the group 3, tissue samples were taken 1 week after clamping (K-7). Immediately after the tendinopathy model was applied to the animals in the fourth group (PRGF), the PRGF injection was performed to the subjects from the blood that was obtained from the control group, while an isotonic saline solution was injected into the subjects in the fifth group (SF), and tissue samples from both groups were obtained 1 week after.

**Results:** The samples were examined by means of a transmission electron microscope. In the K-0 group among the collagenous fibers, vacuoles are observed in the cytoplasm of the edematous areas and fibrocytes, and in comparison, with K-7 and SF group there was a significant increase in fibroblast and collagen fiber synthesis in the PRGF-treated group. Furthermore, fibroblast and new collagen synthesis were observed to be increased in K-7 and SF groups. An intense increase in organelle levels was observed in PRGF group fibroblasts.

**Conclusion:** This data suggests that PRGF may provide a better healing response in tendons with limited healing and circulation, which enhances the activation in the cells at the beginning of the healing process.

**Keywords:** PRGF, PRP, tenocyte, collagen

#### ÖZ

**Amaç:** PRGF uygulamasının Aşil tendinopati modelinde tendon hasarı iyileşmesindeki etkisini incelemek

**Gereç ve Yöntemler:** Bu çalışma öncesinde Aşil tendonunda tendinopatik değişikliklerin daha belirgin ortaya çıkmasını sağlamak amacıyla yapılan ön çalışmada; klemp ile ikinci dişli seviyesinde 1 dakika sıkıştırılmayı takiben 3 dakika serbest bırakma şeklinde yapılan dört sıkıştırmanın tendinopati açısından en optimal hasarı yarattığı histopatolojik olarak gösterildi. 34 adet dişi Sprague Downey tipi sıçan, beş ayrı gruba ayrılarak tek taraflı (sol) aşil tendonlarına klemp ile tendon hasarı oluşturuldu. İlk gruba herhangi bir şey uygulamaksızın (Kontrol:CN) doku örnekleri alınırken, 2. gruptaki sıçanlardan klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra (K-0), 3. gruptakilerden ise klemp ile sıkıştırıldıktan 1 hafta sonra (K-7) doku örnekleri alındı. 4. gruptaki hayvanlara (PRGF) tendinopati modeli uygulandıktan hemen sonra kontrol grubu deneklerden alınan kandan hazırlanmış PRGF enjeksiyonu yapıldı ve 1 hafta sonra doku örnekleri elde edilirken, son gruptaki hayvanlara (SF) klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra serum fizyolojik enjeksiyonunu takiben 1. haftada feda edilerek doku örnekleri alındı.

**Bulgular:** Örneklerin transmision elektron mikroskop ile yapılan incelemesinde; K-0 grubunda kollajen lifler arasında yer yer ödemli sahalar ve fibrositlerin sitoplazmalarında vakuoller izlenirken, K-7 ve SF grupları ile karşılaştırıldığında; PRGF uygulanan grupta fibroblastlarda ve kollajen lif sentezinde belirgin artış olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte K-7 ve SF gruplarında da fibroblast ve yeni kollajen sentezi artmış olarak izleniyordu. PRGF grubu fibroblastlarında organel düzeyinde yoğun bir artış gözlemlendi.

**Sonuç:** Bu veriler PRGF'in iyileşmeye erken dönemde katkısının hücrelerdeki aktivasyonu artırarak gerçekleştirdiği, kısıtlı iyileşme ve döngüye sahip tendonlarda daha iyi bir iyileşme yanıtı sağlayabileceği şeklinde yorumlandı.

**Anahtar Sözcükler:** PRGF, PRP, tenosit, kollajen

**Available at:** <http://journalofsportsmedicine.org> and <http://dx.doi.org/10.5152/tj-sm.2018.090>

**Cite this article as:** Diliçıkık U, Demirel HA, Donmez G, et al. The effect of PRGF on healing of clamp-induced tendinopathy in animals *Turk J Sports Med.* 2018;53:51-58.

## GİRİŞ

Aşil tendonu vücudun en kalın ve en güçlü tendonu olup yaralanmaları; direkt (kontüzyon ve laserasyon) veya indirekt (aşırı kullanım sonrasında) olabilir. Her ne kadar patolojisi tam olarak açıklanamasa da, tendinopati sözcüğü sıklıkla rüptüre olmamış tendon yaralanmalarını tanımlamak için kullanılan genel bir terimdir (1). Günümüzde aşil tendinopatisi ve diğer aşırı kullanım yaralanmaları rekreasyonel ve yarışmalı sporlara katılım ve dolayısı ile antrenman sıklığı ve süresinin artması nedeni ile giderek artış göstermektedir (2). Tüm spor yaralanmalarının yaklaşık %30-50'sini tendon yaralanmaları oluşturmakta ve aşil tendon yaralanmaları bunun %6-18'ini meydana getirmektedir (3). Tendinopati insidansı orta ve uzun mesafe koşucularında 31.2 kat daha sık gözlenmektedir (4).

Vücudun en güçlü ve en kalın tendonu olmasına rağmen aşil tendonun beslenmesi kısıtlıdır ve yaşla birlikte giderek bozulmaktadır (5). Aşil tendonu nispeten az sayıda hücreye, düşük 'turnover' oranına sahiptir ve onarım/yenilenme açısından da kapasitesi yetersizdir. Tendinopatinin işareti, kollajen liflerde organizasyon bozukluğu, kalınlaşma, mikro yırtıkların bulunmasıdır (6). Ek olarak, liflerde incelleme ve dezoryantasyon, dağınık vasküler büyüme, lifler arasında artmış glikozaminoglikan birikimi söz konusudur (7).

Aşil tendinopatisi patogeneğinde genetik, biyomekanik ve rejeneratif bazı hatalar bulunmaktadır. Sporunun daha kısa sürede ve sağlıklı bir tendonla sahaya dönmesini sağlamak amacı ile bu hataları düzeltmek için çalışmalar devam etmektedir. Biyomekanik kusurların iyileştirilmesinde alt ekstremitte dizilim bozukluğu, sert zemin, doğru ayakkabı tercihi gibi faktörler ön plana çıkarken, rejeneratif kusurları düzeltmek adına günümüzde birtakım yeni tedavi seçenekleri geliştirilmeye başlanmıştır.

Tendinopati tedavisinde bir yandan kök hücre uygulamaları ile ilgili çalışmalar devam ederken, büyüme faktörlerinin iyileşme sürecindeki etkisi de güncel araştırma başlıklarından biridir. Trombositten zengin büyüme faktörleri (PRGF) iyileşmeye katkıda bulunmak amacı ile günümüzde giderek artan bir tedavi seçeneği haline gelmiştir (8). Trombositler yara iyileşmesini başlatan ve düzenleyen birçok protein, sitokin ve diğer bir takım faktörleri içerir (9,10). İçerdikleri büyüme faktörleri neovaskülarizasyon ve fibroblast kemotaksisini uyarmadan sorumludur ve fibroblast proliferasyonu ile kollajen sentezi için uyarandırırlar. Tendona PRP (trombositten zengin plazma) ya da PRGF enjeksiyonu sonrasında 10 dakika içerisinde depo edilen büyüme faktörlerinin %70'inin salındığı ve bir

saat içinde de bu faktörlerin çoğunun kaybolduğu, klinik iyileşmenin ise 12 haftayı bulabildiği bildirilmiştir (11). Tendona fizyolojik dozun üzerinde sağlanan büyüme faktörleri ile iyileşme yanıtının artacağı daha önce in vitro çalışmalarda gösterilmiştir (12). Öte yandan PRGF enjeksiyonunun tendon dokusu üzerindeki etkisi konusundaki bilgilerimiz halen yetersizdir. Bu çalışmada PRGF uygulamasının aşıl tendon hasarının iyileşmesindeki etkisini mikroskopik ve immünohistokimyasal olarak ortaya koymak amaçlandı. Buna göre PRGF'nin erken spora dönüş için alternatif bir tedavi yöntemi olup olmayacağı araştırıldı.

### GEREÇ ve YÖNTEMLER

Bu çalışma için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 2010-41 sayılı raporu ile etik kurul onayı alındıktan sonra, ağırlıkları 350-450 g arasında değişen, 4-6 aylık, 34 adet dişi Sprague-Dawley tipi sıçan temin edildi. Bir hafta boyunca standart laboratuvar koşullarında (12 saat gündüz-12 saat gece olacak şekilde ışıklandırma, 20-22°C oda ısısı, %50-60 nem) tutulan deneklerin ortama alışmaları sağlandı ve ihtiyaçları kadar su ile yiyecek verildi.

Çalışma planına göre deney hayvanları beş gruba ayrıldı (Tablo 1). Buna göre ilk grup herhangi bir şey uygulamaksızın (Kontrol: CN) ilk gün, 2. grup klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra (K-0), 3. grup klemp ile sıkıştırıldıktan bir hafta sonra (K-7), 4. grup klemp ile sıkıştırıldıktan sonra, kontrol grubu deneklerden alınan kandan hazırlanan PRGF enjeksiyonu uygulamasını takiben birinci haftada (PRGF), 5. grup ise klemp ile sıkıştırıldıktan hemen sonra serum fizyolojik enjeksiyonunu takiben birinci haftada (SF) feda edilerek dokularının alınması planlandı. Çalışma grupları oluşturulurken PRGF'nin tendinopatiye

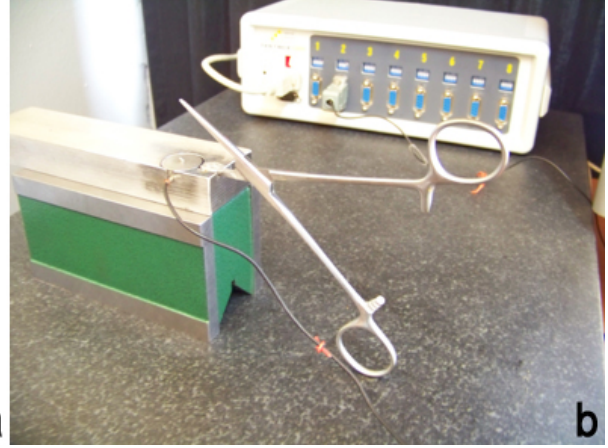
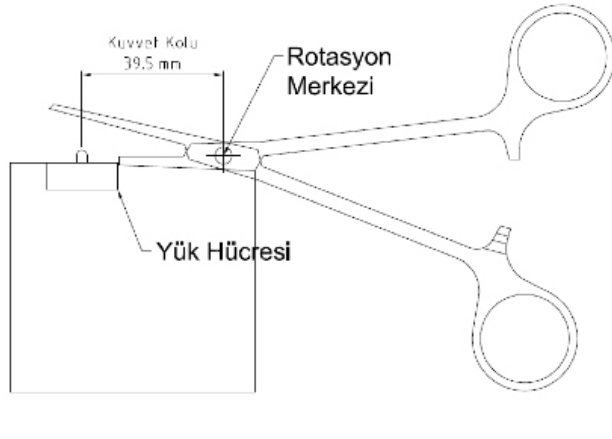
etkisi, SF'nin tendinopatiye etkisi ve klemp uygulaması sonrası tendonun kendi kendine iyileşme yanıtının incelenmesi planlandı.

**Tablo 1.** Çalışma planı

Grup/Gün	1	2	3	4	5	6	7
<b>Kontrol (CN)</b>	S						
<b>K-0</b>	K+S						
<b>K-7</b>	K						S
<b>PRGF</b>	K-PRGF						S
<b>SF</b>	K-SF						S

S: sakrifikasyon işlemi, K: klemp uygulaması, PRGF: trombosit zengin büyüme faktörü uygulaması, SF: serum fizyolojik uygulaması

Klemp işlemi hayvanlar kısa süreli anestezi (90 mg/kg Ketamin + 10 mg/kg ksilazin i.p.) ile uyutulduktan sonra uygulandı. Aşilde tendinopati değişikliklerinin daha belirgin ortaya çıkmasını sağlamak amacıyla yapılan ön çalışmada iki denegin toplam dört aşıl tendonuna klemp ile ikinci seviyede (dişlide) 1 dk sıkıştırmayı takiben 3 dk serbest bırakma şeklinde dört sıkıştırma uygulandı (Şekil 1 ve 2). Birant Makine Laboratuvarında yapılan mekanik inceleme ile ikinci seviye klemp ile ortalama 115.7 N'luk kuvvet uygulandığı saptandı (Tablo 2). Ötenazi sonrası alınan aşıl tendonu doku örnekleri elektron mikroskopi ile incelendi ve optimal hasarın dördüncü sıkıştırma sonrasında meydana geldiği belirlendi. Bu sonuçlar asıl çalışmaya temel oluşturarak, çalışma protokolünün belirlenmesini sağladı. Tüm deney hayvanlarına ikinci seviyede, 1 dk süre ile dört kez sıkıştırma uygulandı.



Şekil 1. Klempin mekanik özellikleri



Şekil 2. a. Klemp uygulaması, b. Klemp uygulaması sonrası aşil tendon görüntüsü

Tablo 2. Klemp ile sıkıştırma sonuçları

	1. Kilit (N)	2. Kilit (N)	3. Kilit (N)
1. okuma	90.2	116.9	143.0
2. okuma	89.8	116.5	144.0
3. okuma	90.0	115.6	142.8
4. okuma	89.1	115.4	142.6
5. okuma	88.8	115.6	142.9
6. okuma	88.2	115.5	142.6
7. okuma	88.7	115.1	142.2
8. okuma	87.6	114.5	141.6
Ortalama	89.1	115.7	142.7
Kuvvet kolu mesafesi: 39.5 mm = 0.0395 m			
Moment (Nm)	3.52	4.57	5.64

Kontrol grubundan intrakardiyak olarak elde edilen 10 ml kan, içinde 0.5 ml sitrat-dekstroz bulunan 5 ml'lik tüplere aktarıldı. Tam kan 1470 rpm (250 g)'de, 10 dk süreyle santrifüje edildi. Sonrasında plazma kısmı (süpernatant) toplandı ve 2930 rpm (1000 g)'de, 10 dk bir kez daha santrifüje edilerek trombositler presipite edildi. Üst kısımdaki trombositten fakir plazma uzaklaştırıldı. Bu şekilde elde edilen PRGF intratendinöz olarak PRGF grubunun sol aşil tendonlarına klemp ile sıkıştırılma uygulandıktan sonra 0.2 ml olacak şekilde enjekte edildi.

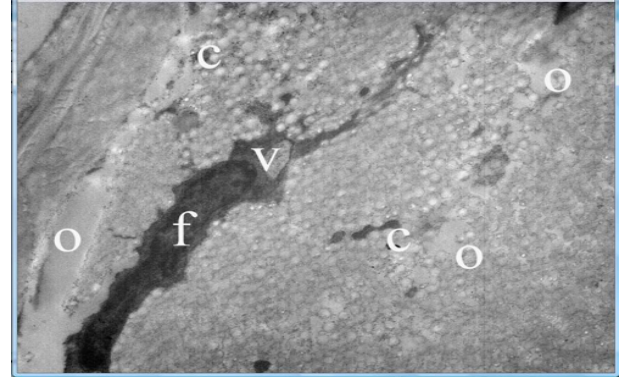
Tendon dokusu ve serum örneği alım öncesi hayvanlar yüksek doz anestezik madde ile uyutuldu. Kornea refleksi kontrol edildikten sonra aşil tendon insersiyosundan yaklaşık 2 cm proksimaline kadar cilt, cilt altı dokular geçilerek ve paratenon açılarak tendon açığa çıkarıldı. Elektron mikroskopik ve histolojik inceleme için aşil tendonları kalkaneus ve kas-tendon bileşkesi arasındaki uzunlukta çıkarıldı. Aşil tendonundan alınan örnek dokuların fiksasyonu %2.5'lik gluteraldehit çözeltisi içinde 24 saat süre ile yapıldı. Primer fiksasyon işleminden sonra, örnekler pH'ı 7.4 olan SPB (Sorenson's Phosphate Buffer) tampon çözeltisi ile yıkandı. Ardından %1'lik osmium tetroksit çözeltisi ile post-fiksasyon işlemi gerçekleştirildi. On iki saat süren post-fiksasyon işlemi takiben örnekler tekrar SPB tampon çözeltisi ile yıkandı ve üçüncü fiksatif olarak %10'luk formalin ile iki saat süreyle fikse edildi. Triple fiksasyon bittikten sonra örnekler SPB tampon çözeltisi ile yıkandı ve dehidratasyon aşamasına hazırlandı. Dehidratasyon işlemi farklı alkol konsantrasyonlarında (sırasıyla %25, %50, %75 ve saf alkol) gerçekleştirildi.

Ardından örnekler iki kez propilen oksit ile yıkanarak gömme işlemi hazırlığına başlandı. Gömme işleminin ilk aşamasında propilen oksit ve epoksi rezin gömme materyali 1/1 oranında karıştırılarak örnekler bu karışımın içerisinde bir saat süreyle bekletildi. Sonrasında bu karışımın üzerine aynı miktarda epoksi rezin gömme materyali ilave edilerek karışımın oranı 1/3'e çıkarıldı. Bir gece boyunca rotatorda bekletilen örnekler için hazırlık aşaması tamamlanmış oldu. Bunu takiben plastik kapsüller kullanılarak epoksi rezin gömme materyaline gömülen örnekler 60°C sıcaklıktaki etüvde 48 saat bekletildi. Etüvden

alınan örneklerin yarı ince kesitleri LKB Nova (İsveç) marka ultramikrotom cihazı ile alındı. Metilen mavisi ile boyanan 2 µm kalınlığındaki kesitler ışık mikroskop altında incelenerek ince kesit alınacak sahaların tespit edilmesi sağlandı. Bundan sonra doku yüzeyinin trimlenmesi ile transmisyon elektron mikroskopik kesit alınabilecek doku yüzeyi büyüklüğü elde edildi. Ardından 60 nm kalınlıktaki ince kesitler aynı ultramikrotom ile alındı ve üranil asetat ve kurşun sitrat boyaları ile çift kontrastlama yöntemiyle boyandı. İşlemin sonunda Jeol JEM 1200 EX (Japonya) marka transmisyon elektron mikroskop ile incelenen örnekler fotoğraflandı.

### BULGULAR

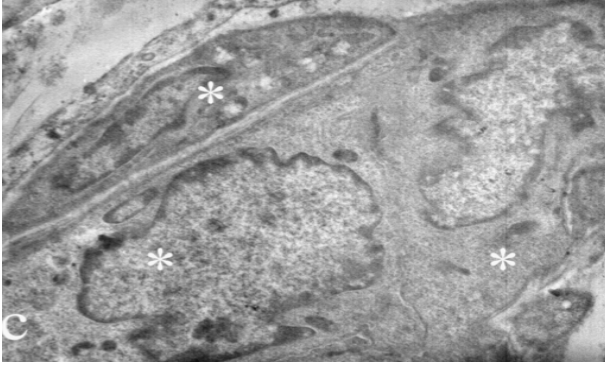
Bu örneklerin transmisyon elektron mikroskop ile yapılan incelemesinde; klemp 0. gün grubunda kollajen lifler arasında yer yer ödemli sahalar görüldü (Şekil 3).



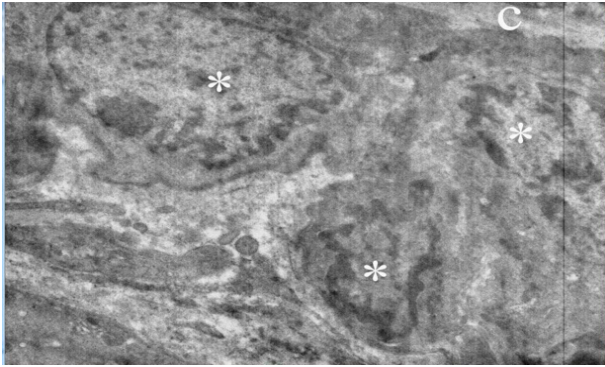
**Şekil 3.** Klemp ile sıkıştırma sonrası 0. gün (C: kollajen lifler, O: kollajen lifler arasında yer yer ödemli sahalar, V: fibrosit içerisinde vakuol, f: fibrosit)

Ayrıca fibrosit sitoplazmalarında vakuoller izlendi. K-7 ve SF grupları ile karşılaştırıldığında; PRGF uygulanan grupta fibroblastlarda daha fazla artmış olduğu ve kollajen lif sentezinin daha artmış olduğu gözlemlendi (Şekil 4 ve 5). Bununla birlikte K-7 ve SF gruplarında da fibroblast ve yeni kollajen sentezi artmış olarak izleniyordu. PRGF grubu fibroblastlarında organel düzeyinde yoğun bir artış vardı (Şekil 6).

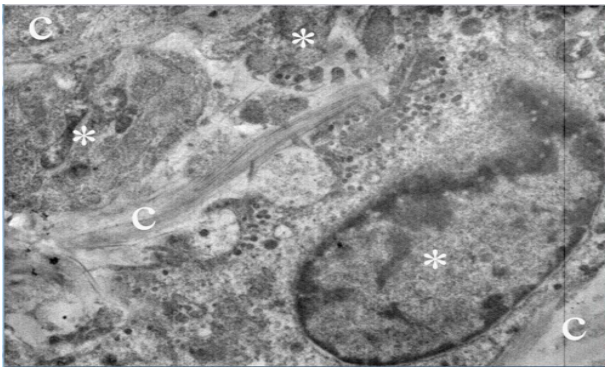




**Şekil 4.** Klemp ile sıkıştırma sonrası 7. gün (C: kollajen lifler, \*: fibroblast)



**Şekil 5.** Klemp ile sıkıştırma sonrası SF 7. gün (C: kollajen lifler, \*: fibroblast)



**Şekil 6.** Klemp ile sıkıştırma sonrası PRGF 7. gün (C: kollajen lifler, \*: fibroblast)

## TARTIŞMA ve SONUÇ

PRGF enjeksiyonu sonrası kas ve tendon histopatolojisinde görülen değişiklikler iyileşme cevabı açısından umut verici görünmektedir. PRGF'nin güvenilir ve kolay hazırlanabilir olması nedeni ile ortopedik cerrahi ve spor yaralanmalarında kullanımını giderek artmaya devam etmektedir.

Ancak günümüzde kullanımını destekleyecek kanıt sayısı yeterli değildir (13). İyi tasarlanmış, kontrollü klinik ve deneysel çalışmalar PRGF'in tedavi edici değerinin ortaya konulabilmesi için gereklidir. Klinik olarak etkin olan PRP ya da PRGF, normal trombosit konsantrasyonunun en az dört katını içerecek şekilde tanımlanmaktadır (14). Ancak kas ve tendon iyileşmesi için gerekli olan trombosit ve büyüme faktörünün optimal miktarı üzerine tartışma devam etmektedir. Benzer şekilde bu ürünlerin hangi yöntemle nasıl hazırlanacağı konusunda da görüş birliği yoktur (15). Bu çalışmada hazır ticari kitlerden kullanılmamış olup, PRGF daha önce Yoshiteru Kajikawa ve ark.nın tarif ettiği ve büyüme faktörlerinin miktarını ELISA yöntemi ile doğruladığı çalışmasındaki yöntemi baz alarak hazırlandı (16). Ancak çalışmanın tasarımı nedeni ile otolog kan kullanmak mümkün olamadı.

PRGF belirli hacimdeki PRP'den hazırlanan, otolog plazma proteinleri ile karışık ve lökositleri uzaklaştırılmış trombosit zengin plazma olarak tanımlanır (17). PRP ise hematologlar tarafından trombosit zenginleştirilmiş plazmayı tarif etmek için kullanılan bir sözcüktür. PRGF trombosit ve yara iyileşmesi ile ilgili büyüme faktörlerini içerir; ayrıca fibrin, fibronektin ve vitronektin gibi yapışmayı sağlayan plazma proteinlerini de içinde bulundurur. PRGF daha az miktarda kandan elde edilir ve hazırlanırken birçok farklı santrifüj hızı tanımlanmaktadır. Trombosit çökeltide lökosit bulundurulmaması esastır.

Daha önceki çalışmalarda mekanik veya kimyasal yol ile birçok tendinopati modeli kullanılmış olsa da klemp ile oluşturulmuş tendinopati modeli bulunmamaktadır ve bu çalışmada ilk defa böyle bir model denenmiştir. Uygulanan tendinopati modelinin hasar oluşturmak için yeterli olduğu çalışma öncesinde örneklerin transmisyon elektron mikroskopik incelemesi ile doğrulanmıştır. Tendinopati gelişiminde sıklıkla suçlanan aşırı kullanım yaralanmasından farklılık gösterse de, elde edilen veriler klemp ile sıkıştırmanın tendon dokusunda hasar yaratmaya yeterli olduğunu göstermektedir. Ancak çalışmada elde edilen

yaralanmanın, akut yaralanma modeli olduğu da akılda tutulmalıdır.

Yaralanma sonrası sporcu rehabilitasyonunda sağlıklı bir şekilde erken zamanda spora dönüş çok önemlidir. Literatürde birçok çalışmada tendinopati etyolojisi, patogenezi ve tedavisi üzerinde araştırma yapılmış olsa da, farklı hayvan modelleri ile tendinopatinin insandaki durumuna benzer modellemeler geliştirilmeye çalışılmaktadır (18). Hayvan modellerinde bazı büyüme faktörlerinin dışarıdan verilmesi tendon iyileşmesini geliştirir görünmekte, trombositlerin aktivasyonu süresince açığa çıkan büyüme faktörlerinin iyileşmeye katkısı da bunu destekler niteliktedir. PRGF'nin tendon onarımının geliştirilmesi için etkin bir yöntem olabileceği ve tendonun optimal biyokimyasal ve biyomekanik özelliklerine ulaşabilmesi için gerekli protokollerin oluşturulmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Akut bir hasarlanma sonrası tendon iyileşmesi enflamasyonla başlar. PRP'nin tendon tamirinde başlangıç enflamatuvar fazı hızlandırabileceği ve erken mekanik yüklemeye için hücreleri daha hazır duruma getirebileceği düşünülmektedir (14). İkinci aşama granülasyon dokusunun oluşumu (proliferasyon veya tamir dönemi), son evre ise matriksin yeniden şekillenmesi (remodeling) evresidir. Bizim çalışmamızda ise rat aşıl tendonunun tek bir PRGF enjeksiyonunu takiben birinci haftanın sonundaki iyileşme yanıtı değerlendirilmiş olup, PRGF'nin iyileşmeye olumlu katkısının hücrelerdeki sentezi (aktivasyonu) arttırarak gerçekleştiği; kısıtlı iyileşme ve döngüye sahip, büyük oranda entrensek iyileşme gösteren tendonların PRGF ile iyileşme yanıtının uyarıldığı sonucuna varılmıştır.

TZP'nin tendon yaralanmaları ve bozuklukları tedavisindeki olumlu etkileri, prelinik ve insan hücre kültürü çalışmaları ile desteklenmektedir (19,20). At tendon kültürlerinde yapılan bir çalışmada; TZP'nin tip I kollajen, tip III kollajen ve kırkırdak oligomerik matriks proteini gen ekspresyonunu arttırdığı, katabolik moleküller olan MMP-3 ve MMP-13'te ise artış meydana getirmediği bildirilmiştir (21). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, transeksiyon sonrası tek

bir postoperatif trombosit enjeksiyonunun tendonun fiziksel özelliklerini ve histolojik matüritesini en geç üç hafta içinde, yani iyileşmenin remodelling evresinde, belirgin bir biçimde geliştirdiği gösterilmiştir (22). Bu çok önemli bir etkidir ve trombositlerden hematoma içine salınan, kısa yaşam süresi olan büyüme faktörleri tendon rejenerasyonunda remodelling özelliklerini uzun bir sürenin sonunda etkileyebilir (23). Çalışmanın kısıtlılıklarından biri de PRGF'nin uzun dönem etkileri ve biyomekanik sonuçlarının değerlendirilememiş olmasıdır. Yetişkin tavşanlarda yapılan bir başka çalışmada ise; TZP tedavisinin, tendon kök hücrelerinin yüksek çoğalma yetisi olan ve kollajen üretimini sağlayan aktif tenositlere dönüşümünü sağladığı gösterilmiştir (24).

## SONUÇ

Klemp ile aşılde tendinopati meydana getirilen ratlarda PRGF, serum fizyolojik ve kendi iyileşme cevaplarını bir haftalık sürecin sonunda karşılaştıran bu çalışma PRGF enjeksiyonu ile tamir basamaklarından özellikle enflamatuvar fazın geliştirildiğini düşündürdü. Çalışmada istatistiksel bir sonuç olmamasına rağmen, tendona ait elektron mikroskopik incelemede histopatolojik parametrelerde gelişme görüldü. Bu sonuç ile klinikte iyi bir rehabilitasyon programına eklenen PRGF desteğinin aşıl tendon yaralanmaları tedavisindeki başarıyı arttıracığı inancındayız. Tendon iyileşmesinin geliştirilmesi üzerine PRP ya da PRGF kullanımının zamanlaması, uygulama sıklığı, toplam tedavi süresi ve takibi hakkında daha fazla deneysel ya da randomize kontrollü klinik çalışmalara ihtiyaç vardır. PRGF'nin etkileri açısından, ileride yapılacak çalışmalarda, tendinopatinin farklı dönemlerinde gerek klinik, gerek histopatolojik gerekse biyomekanik etkilerini gösteren protokoller geliştirilip karşılaştırılmalıdır.

## KAYNAKLAR

1. Maffulli N, Kader D. Tendinopathy of tendo achillis. *J Bone Joint Surg Br.* 2002;84(1):1-8.
2. Doral MN, Dönmez G, Kaya D, et al. Aşıl tendinopatisi. In: Doral MN, Tandoğan R, editors. *Sporcularda Tendon Sorunları.* 1st ed. 2011; p. 43-53

3. Ljungqvist A, Schweltnus MP, Bachl N, et al. International Olympic Committee consensus statement: molecular basis of connective tissue and muscle injuries in sport. *Clin Sports Med*. 2008;27(1):231-9
4. Knobloch K, Yoon U, Vogt PM. Acute and overuse injuries correlated to hours of training in master running athletes. *Foot Ankle Int*. 2008;29(7):671-6.
5. Doral MN, Alam M, Bozkurt M, et al. Functional anatomy of the Achilles tendon. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010;18(5):638-43.
6. Astrom M, Rausing A. Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings. *Clin Orthop Relat Res*. 1995;(316):151-64.
7. Sharma P, Maffulli N. Achilles tendon structure and healing. In: *Achilles Tendinopathy: Current Concepts*. 2010; p. 67-78.
8. Taylor DW, Petrera M, Hendry M, et al. A systematic review of the use of platelet-rich plasma in sports medicine as a new treatment for tendon and ligament injuries. *Clin J Sport Med*. 2011;21(4):344-52.
9. Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. 2001;12(5):261-73.
10. Kampa RJ, Connell DA. Autologous blood injections: whole blood and platelet-rich plasma. In: Calder JD, Karlsson J, Maffulli N, et al., editors. *Achilles Tendinopathy: Current Concepts*, 1st ed. London: DJO Publications. 2010; p. 142-52.
11. Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent*. 2001;10(4):225-8.
12. Graziani F, Cei S, Ducci F, et al. In vitro effects of different concentration of PRP on primary bone and gingival cell lines. Preliminary results. *Minerva Stomatol*. 2005; 54(1-2):15-22.
13. Dönmez G, Torgutalp ŞŞ, Babayeva N, et al. Trombositten zengin plazma. In: Korkusuz F, editor. *Ortopedi ve Travmatoloji-Temel Bilimler ve Araştırma Kitabı*. Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın. 2015; p. 183-95.
14. Hall MP, Band PA, Meislin RJ, et al. Platelet-rich plasma: current concepts and application in sports medicine. *J Am Acad Orthop Surg*. 2009;17(10):602-8.
15. Utku B, Dönmez G, Büyükdöğün K, et al. Platelet-rich plasma: from laboratory to the clinic. In: *Sports Injuries: Prevention, Diagnosis, Treatment and Rehabilitation*, Doral MN, Karlsson J, editors. 2nd edition. Heidelberg Berlin: Springer-Verlag. 2015; p. 3223-49.
16. Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, et al. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing. *J Cell Physiol*. 2008; 215(3):837-45.
17. Anitua E, Andia I, Sanchez M. PRGF (Plasma rich in growth factors). In: *Dental Dialogue*, Vol. 3. 2004; p. 1-15.
18. Lake SP, Ansoorge HL, Soslowsky LJ. Animal models of tendinopathy. *Disabil Rehabil*. 2008;30(20-22):1530-41.
19. deMos M, vanderWindt A, Jahr H, et al. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair? A cell culture study. *Am J Sports Med*. 2008;36(6):1171-8.
20. Anitua E, Andía I, Sánchez M. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res*. 2005;23(2):281-6.
21. Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. *J Orthop Res*. 2007;25(2):230-40.
22. Aspenberg P, Virchenko O. Platelet concentrate injection improves Achilles tendon repair in rats. *Acta Orthop Scand*. 2004;75(1):93-9.
23. Virchenko O, Aspenberg P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation. *Acta Orthop*. 2006;77(5):806-12.
24. Zhang JY, Wang JHC. Platelet-rich plasma releasate promotes differentiation of tendon stem cells into active tenocytes. *Am J Sports Med*. 2010;38(12):2477-86.