

# TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA, TROMBOSİTTEN FAKİR PLAZMA, TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN KAVRAMLARI, YARA İYİLEŞMESİNDEKİ BİYOLOJİK ROLLERİ VE PLASTİK CERRAHİDE KULLANIM ALANLARI

## PLATELET RICH PLASMA (PRP), PLATELET POOR PLASMA (PPP), PLATELET RICH FIBRINE (PRF) CONCEPTS, THEIR BIOLOGICAL ROLES ON WOUND HEALING AND CLINICAL APPLICATIONS IN PLASTIC SURGERY

Zeynep Altuntaş, A. Özlem Gündeşlioğlu, Bilsev İnce, Mehmet Dadacı, Nedim Savacı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi, KONYA

### ÖZET

Yara iyileşmesinin biyolojisinin giderek daha iyi anlaşılması trombositlerin özellikle içerdikleri büyüme faktörlerinin, hemostaz ve iyileşmede temel rol oynadıklarını göstermektedir. Yapılan çalışmalarda olog trombositten zengin plazmanın yara iyileşmesini hızlandırdığı gözlenmiştir. Klinik uygulamalarda da kullanım alanları giderek artmakta olup son zamanlarda özellikle doku rejenerasyonu üzerine olan etkileri tartışılmaktadır. Bu çalışmada değişik trombositten zengin plazma kavramları, yara iyileşmesi üzerine olan etkileri ve plastik cerrahide kullanım alanları tartışılmıştır.

**Anahtar sözcükler:** Trombositten zengin plazma, büyüme faktörleri, trombositten zengin fibrin, plastik cerrahi

### ABSTRACT

The better understanding of the biology of wound healing shows that platelets and especially the growth factors they contain play a main role on hemostasis and healing. Studies show that autologous platelet rich plasma increases wound healing. Its clinical applications are also increasing and recently its effects on tissue regeneration have been discussed. In this study, the different PRP concepts, and their effects on wound healing and clinical applications in plastic surgery were discussed.

**Keywords:** Platelet rich plasma, growth factors, platelet rich fibrin, plastic surgery

## GİRİŞ

Yara iyileşmesi moleküler sinyaller tarafından kontrol edilen mediatörlerin ve hücreyel olayların birbirleriyle etkileşim içinde olduğu kompleks bir olaydır. Neticede mezenkimal hücre proliferasyonu, ekstrasellüler matris oluşumu ve skar formasyonu ile sonuçlanır. Yara iyileşmesindeki moleküler sinyaller, primer olarak sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından verilmektedir. Trombositlerin, özellikle içerdikleri büyüme faktörlerinin, hemostaz ve iyileşmede temel rol oynadıkları gösterilmiştir.<sup>1</sup>

Trombositler beyaz kan hücrelerinin bir tipi olan megakaryositlerin sitoplazmik fragmanları olup yaklaşık 2 mikrometre çapındadırlar. Yuvarlak veya oval şekillidirler ve kemik iliğinde yapılırlar.<sup>2</sup> Çekirdeksiz hücrelerdir ve retikuloendotelial sistemdeki makrofajlar tarafından 7-10 gün içinde dolaşımdan uzaklaştırılır. Çekirdekleri olmamasına rağmen oldukça aktif hücrelerdir. Özellikle yaşamları boyunca büyüme faktörleri sentezlerler ve bunları pıhtılaşmaya cevap olarak aktif bir şekilde sekrete ederler.<sup>3</sup>

Trombositler içinde alfa, delta ve lambda olmak üzere 3 çeşit granül bulunur. Dense granüller diğer trombositlerin potent aktivatörü ve toplayıcısı olan adenozin difosfatı (ADP) depolar ve salgılar. Lambda gra-

nüller lizozomlara benzer ve çeşitli hidrolitik enzimleri içerir. Alfa granüllerde ise büyüme faktörleri depolanır. Her bir trombosit 50-80 arasında yaklaşık 30'un üstünde biyoaktif protein içeren alfa granül bulundurulur.<sup>4</sup>

Trombositlerin kandaki normal konsantrasyonları 140.000 ile 400.000 arasında değişir. Retikuloendotelial sistem makrofajları tarafından dolaşımdan uzaklaştırılmadan önce yaklaşık 10 gün dolaşımda kalırlar.<sup>2</sup>

Oluşan doku hasarı sonrasında trombositler açığa çıkarlar ve kollajen kapillerlerin bazal membranı ve subendotelial mikrofibrillerle direk temasa geçiş şekli değiştirirler. Bu durum aktivasyon olarak tanımlanır. Aktivasyonla birlikte trombositlerdeki alfa granüller hücre plazma membranına tutunur ve etrafa protein içeriklerini salarlar. Aktivasyonu yöneten diğer faktörler arasında adenozin difosfat, trombin ve adrenalin yer alır.

Küçük yaralarda trombosit tıkaçı yeterli olabilir fakat defektin çok geniş olduğu durumlarda kan pıhtısı gerekebilir. Bu kan pıhtısı intrensek veya ekstrensek olmak üzere iki yoldan biriyle aktive olur. İntrensek yol, doku hasarı veya kanda bir değişiklik olduğunda başlar. Ekstrensek yol ise kan dışından örneğin hasarlı dokudan gelen faktörlerle kanın teması ile başlar. Her iki yol da ard arda sıralı birtakım reaksiyonlar dizisini kapsar.

İnaktive faktörler aktive olurlar ve prekürsörlerden diğer faktörlerin oluşumunu tetiklerler. Bu durum tam bir kan pıhtısı oluşuncaya kadar devam eder. İki yolda farklı şekilde başlamalarına rağmen sonraki birçok basamakta yaklaşır ve reaksiyon serilerini paylaşır. Kalsiyum ve trombin varlığında fibrinojen monomerlerinden fibrinin polimerizasyonu ile pıhtı oluşur. Fibrin pıhtısı hemostazın dışında fibroblast ve endotel hücreleri dahil diğer doku oluşturucu hücrelerin migrasyonu için de bir matriks ortamı sağlar. İşlemin tamamlanması için kalsiyum iyonu şarttır.<sup>5</sup>

Bu süreçte aktive trombositlerin alfa granüllerinden salınan büyüme faktörleri yara iyileşmesini modüle ederler. Trombositlerden çok sayıda büyüme faktörü salgılanmaktadır. Bunlar; Platelet Derived Growth Factor (PDGF), Transforming Growth Factor (TGF), Platelet Factor 4, Platelet Derived Angiogenesis Factor (PDAF), Vasküler Endotelial Growth Factor (VEGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Epitelial Cell Growth Factor (ECGF), İnsülin-Like Growth Factor (IGF), Osteokalsin (Oc), Osteonectin (On), Fibrinojen (Ff), Vitronektin (Vn), Fibronectin (Fn), Trombospondin-1 (TSP-1).<sup>5,6</sup>

PDGF'ler (PDGF $\alpha$ , PDGF $\beta$  ve PDGF $\gamma$ ) yara iyileşmesinde en fazla bilinen büyüme faktörleridir. Mezenkimal kök hücre, osteoblast, endotel hücreleri ve fibroblastların replikasyonunu stimüle ederler. Monositler, nötrofiller ve fibroblastlar, mezenkimal kök hücreleri ve osteoblastlar üzerine kemotaktik etkileri vardır.<sup>7</sup> Yara iyileşmesinin tüm fazlarında (anjyogenezis, fibröz doku formasyonu ve reepitelizasyon) fibroblast ve düz kas hücreleri üzerinde güçlü mitojen etkileri vardır.

TGF'ler, özellikle TGF beta -1 ve beta-2 fibroblast, düz kas hücreleri ve osteoblastların replikasyonunu ve matriks üretimini stimüle ederler.<sup>8</sup> Kartilaj veya kemik farklılaşmasında da kılavuzluk yaparlar. Bu nedenle morfojenler olarak da bilinirler.

VEGF endotel hücre stimülasyonu ve anjiyogenezde önemlidir, EGF fibroblast, endotel hücreleri ve keratinositler için mitojen iken IGF'nin kemik iyileşmesinde ve hücre apoptozunun modülasyonunda önemli etkileri vardır<sup>9-11</sup> (Tablo 1).

**Tablo 1.** Trombositler içinde bulunan en önemli büyüme faktörleri ve fonksiyonları (PDGF: Platelet Derived Growth Factor; TGF- $\beta$ 1: Transforming Growth Factor - Beta 1; VEGF: Vasküler Endotelial Growth Factor; EGF: Epidermal Growth Factor)

<b>PDGF</b>	Fibroblast, düz kas hücreleri, mezenkimal kök hücre ve osteoblast kemotaksis stimülasyonu ve mitojenik etki, monosit, makrofaj ve nötrofil kemotaksis stimülasyonu ve makrofaj aktivasyonu
<b>TGF-B1</b>	Matriks sentezi, keratinosit regülasyonu ve kollajen üretiminin proliferasyonu ve stimülasyonu.
<b>VEGF</b>	Kan damarı permeabilitesinin stimülasyonu, endotel hücreleri üzerinde mitojenik, anjiyogenezis ve lenfanjiyogenezis stimülasyonu.
<b>EGF</b>	EGF keratinosit kemotaksis stimülasyonu, epitel hücreleri, mezenkimal hücreler ve fibroblastlar üzerinde mitojenik, endotel kemotaksis stimülasyonu, anjiyogenezis ve kollajenaz sekresyonunun regülasyonu.

## Trombosit Zengin Plazma (Platelet rich plasma -PRP)

PRP otolog insan trombositlerinin az bir plazma içinde konsantre edilmiş şeklidir. İlk kez Marx ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır.<sup>12</sup> Bazı araştırmacılar trombositlerden zengin plazmadaki trombosit konsantrasyonunun normal trombosit konsantrasyonunun 3-5 katı olması gerektiğini bildirirken 2 ila 8, 5 katını bildiren yayınlarda vardır.<sup>13,14</sup>

PRP sadece yüksek düzeyde trombosit içermez aynı zamanda pıhtılaşma faktörlerinin bütün komponentlerini içerir. PRP'nin klinik olarak etkin olabilmesi için her bir mikrolitrede en azından 1.000.000 bir milyon trombosit olması gerektiği vurgulanmaktadır.<sup>15</sup>

PRP trombositler içindeki alfa granüllerinin degranülasyonu yoluyla çalışır. Pıhtılaşmadan sonraki 10 dakika içinde alfa granüllerden büyüme faktör sekresyonu başlar ve yaklaşık 1 saat içinde presentezlenmiş faktörlerin %95'i salınır. Pratikte PRP içindeki büyüme faktörlerin salınması için PRP hazırlandıktan sonra içindeki alfa granüllerin indüklenmesi gerekmektedir. Bu indüklemeye in vitro olarak hazırlanan PRP içine kalsiyum ve/ veya trombin eklenerek sağlanır. Bundan dolayı PRP pıhtılaşmamış şekilde hazırlanmalıdır ve uygulama bölgesinde pıhtı başlamasıyla birlikte (aktivasyon sonrasında) 10 dk içinde kullanılmalıdır.<sup>16</sup>

## PRP Hazırlanışı

Temel olarak PRP otolog kanın belirli bir devirde santrifüj edilmesiyle elde edilmektedir. Trombosit membran bütünlüğünü korumak için antikoagülan olarak asid sitrat dekstroz tip A kullanılmaktadır.

Çok farklı PRP hazırlama teknikleri bulunmaktadır. Bunlar ;

1. Standart kan bankası prosedürleri ile:
  - Aferez ünitelerinde
  - Tam kan donörlerinden hazırlanabilir.
2. Test tüpünden 20-60 cc kandan hazırlanabilir.
3. Ticari olarak bulunan otomatik hazırlama cihazları kullanılarak hazırlanabilir.<sup>17</sup>

Klinik olarak hazırlama tekniklerinde genel ortak noktalar şunlardır. Cerrahiden önce ve cerrahi sırasında hastadan alınan kan antikoagülan içeren tüpe alınır ve hemen santrifüj işlemi başlatılır. İlk santrifüj sonrasında kan 3 tabakaya ayrılır. Santrifüj sonrasında en alta kırmızı kan hücreleri, ortada platelet ve beyaz kan hücreleri en üstte ise molekül ağırlığı en düşük asellüler plazma (trombosit poor plazma) bulunmaktadır.

İkinci aşamada çok farklı protokoller uygulanmakla beraber temelde kırmızı kan hücre tabakası ve asellüler plazma tabakası uzaklaştırılarak sadece beyaz kan hücreleri ve yoğun trombosit içeren 'buffy coat' tabakası elde edilir. Böylece hazırlanan PRP trombositleri aktive

etmek için trombin ve/ veya kalsiyum ile karıştırıldıktan sonra uygulamaya hazır hale gelir.<sup>18</sup>

Standart hücre separatörleri ile PRP hazırlanması işleminde genel olarak bir ünite kan kullanılmaktadır. Hızlı ve yavaş santrifüj teknikleri ile normal trombosit konsantrasyonundan 2 ila 4 kat daha fazla trombosit içeren PRP elde edilebilir. Bunlardan bazıları şunlardır. CAT (Fresenius, Wilmington, DE), Sequestra (Medtronic, Minneapolis, MN), Haemonetics Cell Saver 5 (Haemonetics Corp., Braintree, MA).<sup>19,20</sup>

Ayrıca 6 ml den, 45-60 ml'e kadar PRP hazırlayabilen, küçük kompakt ofis sistemleri de bulunmaktadır. Bunlardan bazıları ise şunlardır; GPS (Cell factor Technologies, Inc., Warsaw, IN), PCCS (Implant Innovations, Inc., Palm Beach Gardens, FL), the Symphony II (DePuy, Warsaw, IN), the SmartPREP (Harvest Technologies Corp, Norwell, MA), and the Magellan (Medtronic, Minneapolis, MN). Bu sistemlerden elde edilen trombosit konsantrasyonu değişmekle birlikte elde edilen PRP'lerdeki trombosit konsantrasyonu normalin 2 ila 8 katı arasında değiştiği bildirilmiştir.<sup>16</sup>

Standart laboratuvar teknikleri ile de PRP elde edilebilmesine rağmen, işlem özel dikkat gerektirmekte, genel olarak iki santrifüj işlemi ve birden fazla transfer gerektirdiğinden sterilitenin sağlanması zor olabilmektedir.

PRP hazırlandıktan sonra 8 saat koagüle olmadan kalabilmektedir. Daha öncede belirtildiği gibi PRP içindeki alfa granüllerden büyüme faktörlerin ve proteinlerin salınması için aktive olması gerekmektedir. Bunun içinde değişik teknikler tarif edilmekte olup kalsiyum ve bovin trombin karışımı kullanılmaktadır.<sup>18,22</sup>

### **Trombositten Fakir Plazma (Platelet poor plasma -PPP)**

Fibrin glue olarak da bilinmektedir. Basit olarak PRP'nin trombositten fakir formu diyebiliriz.<sup>23</sup> Tam kandan santrifüj sonrası elde edilen iki plazma fraksiyonundan en üstteki düşük moleküler ağırlıklı çok az trombosit daha çok fibrinojen içeren plazma kısmıdır. Fibrinojenin trombin ve kalsiyum ile polimerize edilmesi ile elde edilmektedir. Günümüzde ticari olarak elde edilmiş fibrin sealant ürünleri; Tisseel (Baxter Health Care Corp), bulunmaktadır. Bu ürünlerde hastalık transmisyon riski büyük oranda azaltılmakla birlikte tamamen elimine edilmemiştir. Ototolog fibrin glue mükemmel bir hemostatik ajan olarak vurgulanmaktadır.<sup>24</sup>

### **Trombositten Zengin Fibrin (Platelet rich fibrin -PRF)**

Fransa'da 2001 yılında Choukron ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir.<sup>25</sup> Choukroun' un trombositten zengin fibrini 2. jenerasyon trombosit konsantrasyonu olarak düşünülebilir. Hazırlanma protokolü çok basit ve

maliyetinin düşük olduğu belirtilmektedir. Antikoagülan kullanılmadan 10 ml'lik kuru cam tüplere venöz kan alınıp, 400 G'de 12 dk santrifüj edilmektedir. Santrifüj sonrasında oluşan 3 tabakanın en altında kırmızı kan hücreleri, ortasında PRF pıhtısı ve en üstünde asellüler plazma bulunmaktadır.

PRP'nin tersine PRF uygulamadan sonra hemen çözülmemektedir. PRF içindeki fibrin matriksin trombositlerden salgılanan büyüme faktörlerinin etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir.

Günümüzde, otolog PRF hazırlamak için gerekli materyalleri içeren, FDA tarafından onaylı ticari bir cihaz bulunmaktadır. Selphyl (Aesthetic Factors, LLC, Princeton, NJ) isimli bu sistemde hastadan alınan kan özel tüplere konularak 1100 rpm'de 6 dk santrifüj edilmektedir. Santrifüj sonrasında kan 2 tabakaya ayrılmaktadır. Üstte plazma/trombosit ve fibrin içeren supernatant ve altta diğer hücrelerin bulunduğu tabaka yer almaktadır. Sonraki aşamada fibrin, trombosit ve serum içeren üst tabaka aseptik olarak kalsiyum klorür içeren 2. bir tüpe aktarılmaktadır. Bu aşamada fibrin polimerizasyonu başlamakta ve yaklaşık 10 dakikada tamamlanmaktadır. Polimerizasyondan önce süspansiyon kolayca enjekte edilebilmektedir.

Bu teknikle elde edilen PRF de polimerizasyon ile trombositlerin fibrin matriks içine gömüldüğü, yaklaşık % 59'unun viabilitesinin devam ettiği ve 7. günde de büyüme faktörlerin salgılandığı bildirilmektedir.<sup>26</sup>

### **Plastik Cerrahide Klinik Kullanım Alanları**

İlk dönemlerde PRP'nin oral ve maksillofasiyal cerrahide implant ve kemik grefti uygulamalarında faydalı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Daha sonraları PRP uygulamalarına ilgi giderek artmış kronik yaralarda ve flep cerrahisi oluşturan kozmetik cerrahi prosedürlerde kullanılmıştır. Günümüzde yumuşak doku defeklerinde ve yağ grefti uygulamalarında doku rejenenerasyonu üzerine olan etkileri tartışılmaktadır.

Marx ve arkadaşları mandibular kemik defektlerinde kemik grefti ile beraber PRP uygulamasının kemik oluşumunu artırdığını göstermiştir.<sup>27</sup>

Crovetti ve arkadaşları diyabet, vasküler yetmezlik, enfeksiyöz, posttravmatik, nöropatik ve vaskülit kökenli, değişik etiolojileri olan kronik kutanöz yaralarda haftada 1 PRP uygulaması ile yara iyileşmesinde olumlu etkilerin olduğunu bildirmiştir.<sup>28</sup> Diyabetik nöropatik ayak ülserlerinde iyi sonuçlar bildirilmektedir.<sup>29</sup>

Salemi ve arkadaşları 3 yıllık kronik alt ekstremitte ülseri olan 65 yaşındaki hastaya PRP ve otolog adipöz doku kombinasyonu uygulamışlar. Uygulamadan 4 hafta sonra greft konulan hastanın postoperatif 15 aylık takibinde yaranın tamamen iyileştiği bildirilmiştir. 30 Cervelli ve arkadaşlarının daha sonra yaptıkları benzer

çalışmalarda da PRP ile yağ grefti kombinasyonunun kronik venöz ülserlerde reepitelizasyon zamanını kısalttığı gösterilmiştir.<sup>31</sup>

Birçok kozmetik cerrahi prosedürde de (yüz germe, küçültme mamoplastisi, abdominoplasti vb) kaldırılan fleplerin altına PRP uygulamış ve dren kullanımına ve kompresif pansumana gerek olmaması, postoperatif ağrı ve ödemi azaltması ve yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerine bağlı daha kısa iyileşme dönemi sağlanması gibi olumlu etkileri bildirilmiştir.<sup>32</sup>

Son zamanlarda araştırmacılar PRF'nin biyokimyasal yapısından dolayı PRP'den daha etkin olduğunu düşünmektedir. PRF pıhtısı trombosit ve lökositlerin konsantrasyonu olduğu kompleks 3 boyutlu yapısıyla güçlü bir fibrin matrisi oluşturmaktadır.<sup>33</sup> Fibrin matrisin, trombositlerde bulunan büyüme faktörlerinin etkinliğini arttırdığı gösterilmiştir.<sup>34</sup> Ayrıca transplante adipositlere fibrin enjekte edildiğinde surveyinin ve differansiasyonunun arttığı bildirilmektedir.<sup>35, 36</sup>

Plastik cerrahide klinik olarak otolog yağ enjeksiyonu uygulamalarında PRP veya PRF ile kombine edildiğinde sonuçların daha iyi olduğu vurgulanmaktadır.

Cervelli ve arkadaşları yüzdeki 3 boyutlu volüme defektlerinin restorasyonunda yağ grefti ve PRP kombinasyonunu kullanmış ve 1 yıl sonra PRP ve yağ grefti kullanılan grupta %70 kalıcılık sağlanırken sadece yağ grefti uygulanan kontrol grubunda bu oran % 31 tespit edilmiştir.<sup>37</sup>

Keyhan ve arkadaşları fasiyal kontur restorasyonu amaçlı 25 hastada bir tarafa yağ ve PRP kombinasyonunu uygularken diğer tarafa yağ ve PRF kombinasyonu uygulamışlar. Postoperatif 1 yıl sonra PRF grubuna kıyasla PRP grubunda daha fazla rezorpsiyon gözlemlendiği bildirilmiştir.<sup>38</sup>

Minimal invaziv prosedürlerde, nazolabial olukta dermal ve subdermal dokunun PRF ile tedavisi sonrasında 2 hafta içinde belirgin düzelme gözlemlendiği sonuçların 3 ay sonrasında bile kalıcı olduğu bildirilmiştir.<sup>39</sup>

Ayrıca PRP'nin alopesi areatada da yeni bir tedavi seçeneği olabileceği vurgulanmaktadır. Trink ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada PRP enjeksiyonunun yeni saç oluşumunu belirgin oranda arttırdığı ve saç distrofisini azalttığı bildirilmektedir.<sup>40</sup>

## SONUÇ

Günümüzde PRP ve PRF uygulamaları giderek popülerite kazanmaktadır. Kişinin kendi kanından elde edilmesi ve özellikle iyileşmenin temel mekanizmasında yer alan büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin kaynağı olması nedeni ile plastik cerrahide birçok alanda kulla-

nımını gündeme getirmektedir. Ancak yapılan çalışmalarda çok iyi sonuçlar bildirilmesine rağmen yayınların çoğunda kontrol grupları bulunmamaktadır ve küçük vaka grupları şeklindedir. İlerde PRP ve PRF ile ilgili yapılacak yeni çalışmalarda iyileşmedeki biyolojik mekanizmalarının daha iyi anlaşılması ve daha çok kontrollü klinik çalışmaların yapılması uygulamalardaki başarı ve kullanım alanlarını daha da arttıracaktır düşüncesindeyiz.

### Dr. Zeynep ALTUNTAŞ

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi

Plastik, Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı, KONYA

E-posta: zeynepkaracor@yahoo.com

## KAYNAKLAR

- Goss JR. Rejuvenation versus repair. In: Cohen IK, Diegelman Lindblad WJ, Editors. Wound healing, biochemical and clinical aspects. Philadelphia: WB Saunders; 1992 ; 40-62.
- Conley CL. Hemostasis. In V. B. Mountcastle (Ed.), Medical Physiology. St. Louis: Mosby, 2004; 1137-46.
- Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. Thromb. Haemost. 2004; 91: 4.
- Harrison P, Cramer EM. Platelet alpha-granules. Blood Rev. 1993; 7: 52.
- Barry LE, William SP, Mathew B. Platelet rich plasma : A review of biology and applications in plastic surgery. Plast Reconstr. Surg 2006; 147-59.
- Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. Yale J Biol Med. 2010; 83(1):1-9.
- Jaehoon C, Kyung WM, Hak C. The efficacy and safety of platelet rich plasma and adipose derived stem cells. An update. Archives of Plastic Surgery. 2012; 585-92.
- Hosgood G. Wound healing : The role of platelet derived growth factor and transforming growth factor-beta. Vet. Surg. 1993; 22: 490.
- Maes C, Carmeliet P, Moermans K, Stockmans I, Smets N, Collen D et al. Impaired angiogenesis and endochondral bone formation in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGFF164 and VEGF188 Mech. DEV. 2002; 111:61.
- Bennett SP, Griffiths GD, Schor AM, Leese GP, Schor SL. Growth factors in the treatment of diabetic foot ulcers. Br. J. Surg. 2003; 90: 133.
- Spencer EM, Tokunaga A, Hunt KT. Insulin like growth factor binding protein-3 is present in the alpha granules of thrombocytes. Endocrinology 1993; 132:996.
- Marx RE. Platelet Rich Plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP? Implant Dent. 2001, 10(4): 225-8.
- Gonshor A. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: Background and process. Int. J. Periodontics Restorative Dent 2002; 22: 547.

14. Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J. Extra Corpor. Technol.* 2004; 36: 28.
15. Mishra A, Woodall J, Viera A. Treatment of tendon and muscle using platelet rich plasma. *Clin Sports Med.* 2009; 28(1):113-25.
16. Epply BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma. A review of biology and applications in plastic surgery *Plast Reconstr Surg* 2006; 118:147e-159e.
17. Zimmermann R, Jakubietz R, Jakubietz M, Strasser E, Schlegel A, Wiltfang J et al. Different preparation methods to obtain platelet component as a source of growth factors for local application. *Transfusion* 2001; 41: 1217-24.
18. Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg.* 2005 Nov;16(6):1043-54.
19. Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous thrombosit gel. *J Extra Corpor Technol* 2004; 36:28-35.
20. Hannon TJ, Polston G, Pekarske WJ, et al. Determination of platelet yields from platelet rich plasma for five autotransfusion devices.; Cardiothoracic Research and Education Foundation; 1999.
21. Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004, 114:1502-8.
22. Marx RE. Platelet rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg.* 2004; 62:489-96.
23. Findikcioglu K, Findikcioglu F, Yavuzer R, Elmas C, Atabay K. Effect of thrombosit-rich plasma and fibrin glue on healing of critical-size calvarial bone defects.. *J Craniofac Surg.* 2009; 34-40.
24. Gibble JW, Ness PM. Fibrin glue: The perfect operative sealant? *Transfusion* 1990, 30: 741.
25. Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors.* 2009; 27(1):63-9.
26. Sclafani AP. Applications of platelet-rich fibrin matrix in facial plastic surgery. *Facial Plast Surg.* 2009, 25.
27. Marx R, Carlson E, Eichstaedt R, Schimmele S, Strauss J, Georgeff K. Platelet rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85:638e46.
28. Crovetto G, Martinelli G, Issi M, Barone M, Guizzardi M, Campanati B et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds. *Transfus Apher Sci.* 2004; 30(2):145-51.
29. Dougherty E. An evidence- based model comparing the costeffectiveness of platelet-rich plasma gel to alternative therapies for patients with nonhealing diabetic foot ulcers. *Adv Skin Wound Care* 2008; 21:568e75.
30. Salemi S, Rinaldi C, Manna F, Guarneri GF, Parodi PC. Reconstruction of lower leg skin ulcer with autologous adipose tissue and thrombosit-rich plasma. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2008; 61(12):1565-7.
31. Cervelli V, Gentile P, De Angelis B, Calabrese C, Di Stefani A, Scioli MG et al Application of enhanced stromal vascular fraction and fat grafting mixed with PRP in post-traumatic lower extremity ulcers. *Stem Cell Res.* 2011; 6(2):103-11.
32. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE. The use of autologous platelet-rich plasma (thrombosit gel) and autologous thrombosit-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 2001; 107(1):229-37.
33. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101:e56.
34. Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Orive G et al. Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res* 2006; 77A:285-293.
35. Torio-Padron N, Baerlecken N, Momeni A, Stark GB, Borges J. Engineering of adipose tissue by injection of human preadipocytes in fibrin. *Aesthetic Plast Surg* 2007; 31:285-293.
36. Schoeller T, Lille S, Wechselberger G, et al. Histomorphologic and volumetric analysis of implanted autologous preadipocyte cultures suspended in fibrin glue: a potential new source for tissue augmentation. *Aesthetic Plast Surg* 2001; 25:57-63.
37. Cervelli V, Gentile P, Scioli MG, Grimaldi M, Casciani CU, Spagnoli LG. Application of platelet rich plasma in plastic surgery: clinical and in vitro evaluation. *Tissue Eng Part C Methods* 2009; 15(4):625e34.
38. Keyhan SO, Hemmat S, Badri AA, Abdesahzadeh A, Khiabani K. Use of platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in combination with fat graft: which is more effective during facial liposuction? *J Oral Maxillofac Surg.* 2013 Mar;71(3):610-21.
39. Sclafani AP. Platelet rich fibrin matrix for improvement of deep nasolabial folds. Presented at: The Annual Meeting of the Triological Society; 2009; Scottsdale, AZ
40. Trink A, Sorbellini E, Bezzola P, Rodella L, Rezzani R, Ramot Y et al. A randomized, double-blind, placebo and active-controlled, half-head study to evaluate the effects of platelet rich plasma on alopecia areata. *Br J Dermatol.* 2013; 169(3):690-4.