

**TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN:
ÖZELLİKLERİ VE DIŞ HEKİMLİĞİNDE KULLANIMI****PLATELET-RICH FIBRIN: PROPERTIES AND USE IN DENTISTRY****Hatice BALCI¹****Hülya TOKER²****ÖZET**

Trombositten zengin fibrin (TZF) ilk olarak Fransa'da Choukroun ve çalışma arkadaşları tarafından açıklanmıştır. Geleneksel olarak hazırlanan Trombositten zengin plazmaya (TZP) oranla bazı avantajları gösterilerek 2. nesil bir trombosit konsantrasyonu olarak adlandırılmıştır. Bu derlemede TZF'nin özellikleri, içeriği, hazırlanışı ve kullanım alanları anlatılmıştır.

TZF'nin içinde kanda bulunan tüm bileşenler bulunur. Bunlar, Trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF), Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF), Dönüştürücü büyüme faktör - β (TGF- β) gibi büyüme faktörleri ve IL-1 β , IL-4, IL-6 ve tümör nekroz faktör- α (TNF- α) gibi sitokinler, trombosit ve lökositler gibi hücreler ve fibrindir. Başlıca avantajları maliyetinin düşük, hazırlanmasının kolay olması ve alınan kanın herhangi bir biyokimyasal işleme tabi tutulmamasıdır. Diğer trombosit konsantratlarından en büyük farkı ise TZF hazırlama sürecinde gerçekleşen yavaş polimerizasyonun doğal olana çok benzer bir fibrin ağ oluşturmastır. Oluşan bu fibrin ağ daha etkili hücre göçü, çoğalması ve yara iyileşmesine izin verir.

Anahtar Kelimeler: Trombositten zengin fibrin, yara iyileşmesi, büyüme faktörleri

SUMMARY

Platelet-rich fibrin was first described by Choukroun et al. in France. It has been referred to as a second-generation platelet concentrate, which has been shown to have several advantages over traditionally prepared PRP. This article describes properties, composition, preparation and uses of PRF.

All blood components are available in PRF. These are, growth factors such as; Platelet-derived growth factor (PDGF), Vascular endothelial growth factor (VEGF), Insulin-like growth factor (IGF), Transforming growth factor- β (TGF- β), cytokines such as; IL-1 β , IL-4, IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α), cell components like platelets and neutrophils and fibrin. It's chief advantages include ease of preparation, low cost and lack of biochemical handling of harvested blood. Greatest difference from other platelet concentrates is that slow polymerisation in PRF process allows occurring of naturally like fibrin. This fibrin mess allows more potent cell migration, proliferation and tissue healing.

Key Words: Platelet-rich fibrin, wound healing, growth factors

Makale Gönderiliş Tarihi : 14.01.2011

Yayına Kabul Tarihi : 16.04.2011

¹ Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, Dt.

² Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı, Doç. Dr.

GİRİŞ

Trombosit konsantratları şiddetli trombositopeni (medüller aplazi, akut lösemi veya uzun süren cerrahilerden sonraki kan kaybında) nedeniyle oluşan kanamayı önlemek için kullanılmaktadır. Transfüzyon için standart trombosit konsantrasyonu, trombositten zengin plazma (TZP) olarak adlandırılır ve birim başına $0,5 \times 10^{11}$ trombosit içerir¹⁴.

İyileşmeyi arttırmak ve fibrin yapıştırıcılığı yerleştirmek için trombosit konsantratlarının kullanımı ilk olarak Whitman tarafından açıklanmıştır⁴⁸. Trombositler Trombosit kökenli büyüme faktörü-AB (PDGF-AB), Dönüştürücü büyüme faktör-β1 (TGF-β1) ve Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi kilit büyüme faktörlerinden yüksek miktarlarda içerir¹⁴⁻¹⁷. Bu faktörler hücre çoğalmasını, matriks şekillenmesini ve angiogenezi uyarır. Bu amaçla kullanılan ürünlerin çoğu trombosit kökenlidir.

Trombosit konsantratlarının hazırlanmasında değişik yöntemler mevcuttur. Farklı yöntemlerle elde edilen trombosit konsantratlarının içeriği de farklıdır. Buna göre trombosit konsantratları lökosit ve fibrin içerikleri göz önünde bulundurularak 4 kategoriye ayrılmıştır¹⁴:

- Saf trombositten zengin plazma (P-TZP)
- Lökosit ve trombositten zengin plazma (L-TZP)
- Saf trombositten zengin fibrin (P-TZF)
- Lökosit ve trombositten zengin fibrin (L-TZF)

Mevcut TZP yöntemlerinin hepsi ortak bazı noktalara sahiptir. Kan, cerrahiden hemen önce antikoagülanla alınır ve derhal santrifüj edilir. Trombosit konsantrasyonu hazırlama zamanı ise değişkendir fakat her zaman 1 saat içinde tamamlanır. İlk santrifüj basamağı kanı 3 tabakaya ayırır; kırmızı kan hücreleri en dipte tabanda bulunur, hücresiz plazma (trombositten fakir plazma) üsttedir ve parlak (buffy) kılıf bu ikisinin arasındadır. Burada trombositler çoğunluktadır. Son olarak, elde edilen trombosit konsantratı, trombosit aktivasyonunu ve fibrin polimerizasyonunu tetiklemek için trombin ve/veya kalsiyum klorit (veya benzer faktörler) ile birlikte bir enjektör ile cerrahi alana uygulanır¹⁴.

TZF ise bu protokollerin en son geliştirilenidir. Burada, kan herhangi bir antikoagülan olmadan alınır

ve derhal santrifüj edilir. Doğal bir koagülasyon süreci oluşur ve kana herhangi bir biyokimyasal ajan uygulanmadan (antikoagülan, trombin veya kalsiyum klorite gerek olmadan) L-TZF kolayca toplanır^{15,16,17}. Bu açık-girişim yöntemi şimdiye kadar geliştirilen en basit ve maliyeti en düşük yöntemdir¹⁴.

Choukroun'un Trombositten Zengin Fibrini

TZF protokolü ilk defa 2001 yılında Fransa'da Choukroun tarafından tasvir edilmiştir. 2006 yılında Dohan ve arkadaşları tarafından^{8,9,15-17} yayınlanan derleme serilerinde tanıtılmıştır. TZF trombosit ve büyüme faktörlerinden zengin bir membran elde etmeyi sağlayan 2. nesil bir trombosit konsantratıdır. Protokol tıbbi bir alete veya özelleşmiş bir makineye bağlı değildir, tüm klinisyenler tarafından kolaylıkla uygulanabilir. Fibrin yapıştırıcı veya TZP'nin aksine kandan türetilmiş bir ürün değildir. Venöz kan kuru cam tüplere toplanır ve düşük hızda santrifüj edilir [yaklaşık 400gr: 3000 rpm-10 dak veya 2700 rpm-12 dak]. TZF'de kana herhangi bir antikoagülan verilmediği için kan tüpe temas eder etmez pıhtılaşma başlar¹⁵. Antikoagülanların yokluğunda trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu derhal tetiklenir. Fibrinojen ilk başta dolaşımdaki trombin onu fibrine çevirmeden önce tüpün başlangıç kısmında oluşur. Daha sonra ortada toplanır. Trombositler teorik olarak fibrin ağ içinde hapsedilmiştir. Bu nedenle santrifüjden sonra 3 tabaka oluşur; tabanda kırmızı kan hücresi, en üstte hücresiz plazma ve ortada TZF pıhtı. TZF pıhtı, lökosit ve trombositlerin çoğunun yoğunlaştığı kompleks 3 boyutlu bir yapı ile güçlü bir fibrin matriks oluşturur^{16,17}.

Yöntemin başarısı tamamen kanın toplanma ve santrifüj edilme hızına bağlıdır. Klinik olarak kullanılabilir bir TZF elde etmenin tek yolu hızlı davranmaktır. Yeterince hızlı davranılmazsa fibrin polimerize olacaktır ve sonuçta elde edilen ürün çok düşük miktarda fibrin ağ içerecektir. Klinik olarak kullanılabilir bir TZF'de serum ve fibrin ağda hapsedilmiş trombositler vardır. İki spanç arasında fibrin pıhtının serumu alınırsa geriye oldukça dirençli otolog bir fibrin membran kalacaktır. Bu otolog biyomateryalin maksillofasial^{8,9} ve plastik cerrahide ve implant cerrahisinde^{41,42} kullanımları bildirilmiştir.

Bu yöntemde kan yavaş santrifüj edilerek elde edilen fibrin ağın 3 boyutlu esnek bir ağ olması sağlanır. Bu fibrin ağ sitokin ve hücre göçüne izin vermektedir¹⁵. TZP'den farklı olarak TZF uygulamadan sonra hemen çözülmez ve doğal kan pıhtısına benzer şekilde yavaşça şekillenir. Bu yöntemde trombosit ve lökositler yüksek etkinlikte toplanır ve lökositler korunur. Ayrıca, süreç sırasında trombositler aktive olur ve bu da fibrin matrikse trombosit ve lökosit büyüme faktörlerinin absorbe olmasını sağlar^{16,17}. Bu yöntem 8 tüp alan santrifüj veya herhangi bir modifiye laboratuvar santrifüjü kullanarak daha büyük cerrahiler için yüksek miktarda TZF elde edilmesini sağlar. Bu yöntemin başka bir avantajı da maliyetinin düşük olması ve büyük uygulama kolaylığıdır. Bu nedenle günlük uygulamada yaygın kullanım için avantaj sağlar¹⁴.

TZF'nin içeriği

Standart 10 ml enjektörle alınan kanın santrifüjüyle elde edilen TZF'de 10 ml kanda bulunan tüm bileşenler vardır. Bunlar başlıca;

- Trombositler
- Trombosit büyüme faktörleri
- Lökositler
- Sitokinler
- Fibrin
- Dolaşımdaki kök hücrelerdir.

Trombositler

Kemik iliğinde oluştuktan sonra trombositler diskoidal ve çekirdeksiz hücrelerdir. Ömürleri 8-10 gündür ve sitoplazmaları aktifleştiklerinde ortama salınan granülleri sahiptir. A-granülleri, spesifik (β -tromboglobulin gibi) ve non-spesifik (fibronektin, trombospondin, fibrinojen ve diğer pıhtılaşma faktörleri, büyüme faktörleri, fibrinolizis inhibitörleri, immünglobulinler) ürünleri içerir. Yara alanında toplanarak hemostazı başlatmak ve desteklemek için aktivasyonları şarttır. Degranülasyonları sonucu yara iyileşmesinin ilk fazını başlatan sitokin ve büyüme faktörlerinin de fibrin matriks içinde salınımını sağlar. Santrifüj sonrası trombositler tüpün en üst ve en alt tabakasında bulunmaz, sadece TZF pıhtının olduğu bölgede bulunurlar. Çalışmalar trombositlerin özellikle TZF pıhtı ve kırmızı kan hücrelerinin yoğun

olduğu kırmızı pıhtı birleşiminde yoğun olduğunu göstermiştir¹⁰.

TZF oluşum sürecinde kanda antikoagülan olmaması cam tüp içinde yoğun bir trombosit aktivasyonu sağlar. Aktivasyon sonucu trombosit sitokin ve büyüme faktörleri açığa çıkar. Açığa çıkan bu sitokinler yavaş polimerizasyon sonucu oluşan esnek fibrin ağı içinde hapsolür¹⁶. TZF matrikste glikozaminoglikanlar (heparin, hyaluronik asit) da gömülmüş halde bulunurlar. Histolojik olarak fibrinin fibriler yapısına bağlanmışlardır. Glikozaminoglikanların dolaşımdaki küçük peptitlere bağlanma gücü çok güçlüdür ve hücre göçünü ve iyileşme sürecini destekleme kapasiteleri oldukça yüksektir¹⁰.

Trombosit büyüme faktörleri

Dönüştürücü büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1)

TGF β , 30'dan fazla üyesi olan çok geniş bir süper ailedir. En çok üretilen izoformu TGF- β 1dir. Sadece trombositlerin a granüllerinden değil, hücreler arası iletişimde de üretilir¹. Etkileri, uygulanan miktar, matriks çevresi ve hücre tipine göre değişiklik gösterir. Örneğin, osteoblastların çoğalmasını arttırdığı gibi kolayca inhibe de edebilir. Tüm sitokinler arasında en kuvvetli fibrozis ajanıdır⁵. Osteoblast ve fibroblastlarda kollajen-1 üretimini artırır (fibrozis). Fibröz iyileşmeyi tetikleme kapasitesi nedeniyle enflamatuvar düzenleyici olarak dikkate alınır.

Trombosit kökenli büyüme faktörü (PDGF)

Trombosit kökenli büyüme faktörleri mezenkimal hücrelerin göçü, çoğalması ve sağ kalımları için gereklidir^{37,34}. Spesifik reseptörlerinin dağılımına göre bu hücrelerin gelişimini uyarabildikleri gibi inhibe de edebilirler²⁸. Embriyonik gelişim ve tüm doku yenilenme mekanizmalarında rol alırlar. Bu nedenle PDGF'ler fizyolojik iyileşme ve ateroskleroz patogenezinde ve birçok diğer fibroproliferatif hastalıkta (ör: neoplaziler, pulmoner ve renal fibrozis) kritik role sahiptir⁵⁰.

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF)

Hücre koruyucu ajandır. İnsülin benzeri büyüme faktörleri tümör hücreleri dahil birçok hücrenin farklılaşması ve çoğalması için pozitif düzenleyici ajanlardır. Bu sitokinler hücreler için çoğalma me-

diatörleri olmalarına rağmen, hücreleri matriksteki birçok apoptotik uyarandan koruyan sinyaller üreterek apoptozu düzenleyen en önemli sitokinlerdir⁷. IGF'ler trombositlerden salgılanmalarına rağmen, dolaşımdaki kanda yüksek oranda bulunurlar. Bir çalışmada TZF'deki IGF'nin trombosit aktivasyonundan kaynaklanmadığı, IGF'nin en yüksek konsantrasyonunun plazmada bulunduğu gösterilmiştir⁴³.

Yapılan bir *in vitro* çalışmada TZF'deki TGF- β 1 ve PDGF-BB ve IGF-1 konsantrasyonları sırasıyla 6.634 ng/ml, 1.419 ng/ml ve 209.68 ng/ml olarak bulunmuştur¹⁶. Ayrıca TZF üretiminden itibaren ilk 5. dakika, 1. 2. ve 5. saatteki PDGF-AB, TGF β -1, Vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve IGF-1 salınım miktarları Tablo I'de gösterilmiştir⁴³.

Bu büyüme faktörlerinin TZF'de 7. güne kadar yavaş salınım gerçekleştirdikleri bildirilmiştir. 7. güne kadar salınan toplam miktarın PDGF-AB, TGF- β 1 ve VEGF için sırasıyla 50.3ng, 273.4ng ve 6071ng olduğu gösterilmiştir¹⁸.

IGF-1 dışında diğer büyüme faktörlerinin miktarları TZP'de TZF'ye oranla daha fazla bulunmuştur^{16,17}. TZP ve TZF ile ilgili yapılan *in vitro* çalışmalar da bu sonucu desteklemektedir³⁵. Fakat TZP'de sitokin ve büyüme faktörlerinin uzun süreli yavaş salınımı söz konusu değildir. Salınımları hızlı ve ömürleri kısadır¹⁶.

Lökositler

Trombositlerle ilişkili literatür, sınıflandırmada iki kilit parametre olan fibrin ve lökositlerin etkisini genellikle göz ardı eder. Bazı otörler herhangi bir bilimsel kanıt olmamasına rağmen lökositlerin çıkarılmasını önerir¹. Bazı çalışmalar ise anti-enfeksiyöz ajan olma ve immün regülasyondaki önemli rollerinden dolayı trombosit konsantrasyonlarında lökositleri vurgular²⁰.

Sitokinler

Enflamatuvar sitokinler:

Enflamasyonda rol alan sitokinlerin sayısı oldukça çoktur. Bunlardan en önemlileri IL-1 β , IL-6 ve TNF- α 'dır. IL-1 β enflamasyon kontrolünde kilit role sahiptir¹³. T Helper lenfosit uyarılmasını sağlar. TNF α ile birlikte kemik oluşumunu önleyip yıkımını artırır³². TNF α , enflamatuvar hücrelerin fagositoz ve sitotoksitesite kapasitesini ve IL-1 ve IL-6 sentezini artırır²⁴. IL-6, B lenfositler için farklılaşma faktörü, T lenfositler için aktivatördür. Antikor salınımını uyarır¹⁷.

İyileşme sitokinleri:

Bir iyileşme iki açıdan değerlendirilir:

-Enflamatuvar sinyal yolunun inhibe edilerek amplifikasyonlarının nötralizasyonu: Bu IL-4'ün işlevidir.

-Damar yapıları gibi başlangıç iyileşme yapılarının gelişimini düzenler ve artırır: Bu da VEGF'nin işlevidir.

IL-4'ün enflamasyonda temel görevi iyileşmeyi desteklemektir. Fibroblastlardan kollajen sentezini artırır ve IL-1 β tarafından MMP-1 ve MMP-3'ün uyarılmasını önler⁴⁵. IL-1 β aracılı tüm enflamatuvar sinyal yollarını önler²⁷. VEGF, bilinen en güçlü ve yaygın vasküler büyüme tetikleyicisidir⁵¹. Endotel hücre davranışlarında (çoğalma, göç, özelleşme ve hücre sağ kalımı gibi..) önemli roller oynar^{26, 38}. Bu sitokinin varlığı bile anjiyogenezi başlatmak için yeterlidir.

Bu lökositik 5 sitokin trombositler gibi polimerizasyon süresince fibrin ağda hapsolmuş durumdadır ve yavaşça salınırlar. TZF'de hapsolmuş ve yavaş salınan bu sitokinler, TZF'nin bağışıklık düzenlenme-

Tablo I. TZF içindeki büyüme faktörlerinin salınım oranları (ng)⁴³

TZF salınımı	5. Dakika	1. Saat	2. Saat	5. Saat
PDGF-AB	29.29	34.12	42.20	52.73
TGF β -1	43.06	49.52	60.09	72.21
VEGF	0.38	0.42	0.71	1.04
IGF-1	257.40	247.82	244.62	249.16

sinde kilit nokta olabileceğini düşündürür. TZF'deki sitokinlerin kendi miktarlarını kontrol etme kapasiteleri de vardır. Yapılan bir çalışmada aynı miktarda serum, TZF ve trombositten fakir plazmadaki IL-1 β , IL-4, IL-6, TNF- α ve VEGF miktarları araştırılmıştır¹⁷. Sonuçlar VEGF dışında araştırılan tüm parametrelerin TZF'de en yüksek miktarda bulunduğunu göstermiştir. Bu da TZF'deki yavaş kan aktivasyonunun lökosit degranülasyonunu sağladığı anlamına gelmektedir. İmmün sitokin miktarındaki bu artış TZF'nin savunma kapasitesini göstermektedir. Ayrıca trombosit konsantrasyonlarında trombosit ve lökositlerin ayrı ayrı etkileri henüz tam olarak açıklanamamıştır. Lökositlerin gözlemlenen etkilerin ne kadarından sorumlu olduğu net değildir¹⁴.

Fibrin

TZF'de bulunan maddeler yumuşak doku iyileşme ve olgunlaşmanın üç fenomeni olan anjiogenez, immünite ve epitelyal kapanmayı destekler. Anjiogenez yara içinde yeni kan damarlarının oluşumudur. Fibrin anjiogenez için doğal bir rehberdir. Fibrin matriksin direk olarak anjiogenezini yönlendirdiği gösterilmiştir¹⁷. Fibrin matriksin anjiogenez özelliği fibrin jelin 3 boyutlu yapısı ve ağda hapsolan sitokinlerin aktiviteleri ile açıklanır⁴⁷. Ayrıca anjiogenezin temel çözünebilen faktörleri olan temel fibroblast büyüme faktörü (b-FGF), VEGF, anjiopietin ve PDGF fibrin jelde bulunur. B-FGF ve PDGF'nin fibrine afinitesinin yüksek olduğunu gösteren çalışmalar vardır^{21,39}. Fibrinin bazı büyüme faktörlerine bağlanması anjiogenez etkisini açıklayabilir. Anjiogenezin önemli bir fazı da endotel hücrelerden $\alpha\beta 3$ integrin üretimidir. Bu molekül endotel hücrelerinin fibrin, fibronektin ve vitronektine bağlanmasını sağlar. Fibrin bu molekülün ekspresyonunu artırır²¹.

Fibrin matriks epitelyal hücre ve fibroblastları etkileyerek yara alanını kaplar. Yara kenarlarında epitel hücreleri bazal ve apikal yüklerini kaybederler ve yara alanında bazal ve apikal yönde genişleyerek yarayı kaplarlar. Hücre göçü fibrinojen, fibronektin, tenascin ve vitronektin ile düzenlenir. İntegrin ekspresyonunu düzenlemek, fibroblast çoğalmasını ve yara alanına göçünü düzenlemek için fibrin, fibronektin, PDGF ve TGF- β varlığı gereklidir²⁵. Tüm

bunlar dikkate alındığında TZF mikrovaskülarizasyon gelişimini sağlayan ve epitelyal hücre göçünü yönlendiren fibrin bazlı doğal bir biyomateryaldir. Açık yaraları korumak ve iyileşmeyi hızlandırmak için bu tarz bir membranın önemi açıktır. Aynı zamanda lökosit içerir ve bu maddelerin göçlerini artırır¹⁷.

Fibrin matriksin yoğunluğu ve içeriği herhangi bir trombosit konsantrasyonu için önemli bir parametredir. Trombosit konsantrasyonlarının biyolojik etkisine değinen birçok çalışma trombosit büyüme faktörleri üzerinde yoğunlaşır ve salınımlarını etkileyen çevrelerdeki sitokinleri ya da fibrin matriksin etkisini göz ardı eder.

Dolaşımdaki Kök Hücreler

Kemik iliğinden köken alan mezenşimal hücreler birçok dokunun rejenerasyonuna katılır. Bu farklılaşmamış hücreler kandan yara alanında toplanır ve farklı hücre tiplerine dönüşürler^{2,6}. Bu başlangıç farklılaşma fibrin ve fibronektin tarafından oluşturulan geçici yara matriksinde oluşur. Bu nedenle bu hücrelerin transplantasyonunda fibrin, destekleyici matriks olarak kullanılır^{3,4,49}.

TZF ile İlgili *In Vitro* Çalışmalar

Bensaid ve arkadaşları³ çalışmalarında mezenşimal hücre aktivitesi üzerinde fibrinojenin etkisini değerlendirmiştir. Sonuç olarak 18 mg/ml konsantrasyona kadar fibrinojenin mezenşimal kök hücrelerinin tutunma, yayılma ve çoğalmasını arttırdığını göstermiştir. Hücreler fibrin iskeletten göç etme yeteneğine sahiptir, ayrıca fibrin iskelet kemik morfojenik proteinler için de destekleyici matriks görevi görmektedir.

Lundquist ve arkadaşlarının³⁵ TZF'deki endojen fibrojenik faktörlerin biyoaktivite ve stabilitelelerini incelediği *in vitro* çalışmada TZF'deki trombosit sitokin salınımının 72 saat süresince devam ettiği ve TZF'deki trombosit aktivasyonunun endojen protei-nazlardan kaynaklandığı gösterilmiştir. Bir diğer çalışmada TZF elde edildikten sonra 300 dakikaya kadar büyüme faktörü salınımının devam ettiği gösterilmiştir. TZF membran elde etmek için TZF pıhtıdan salınan sıvının hala büyüme faktörü içerdiği ve kemik greftiyle karıştırılabileceği de gösterilmiştir⁴³.

İnsan hücre kültüründe TZP ve TZF'nin karşılaştırıldığı bir çalışmada²² ise TZP'de PDGF-AB, PDGF-BB, TGF- β 1 ve IGF-1 konsantrasyonunun TZF'e oranla daha fazla olduğu gösterilmiştir. Ancak TZF'de IL-1 β , IL-4, IL-6 ve TNF gibi sitokinler bulunduğ ve TZF'nin immün sistemi desteklediği öne sürülmüştür.

In vitro olarak kök hücre çoğalma ve farklılaşması üzerinde TZF'nin etkisi inceleyen Dohan ve arkadaşları¹⁹ çalışmalarının sonucunda TZF'nin kemik iliği kök hücre çoğalma ve farklılaşmasını doza bağlı olarak arttırdığını göstermiştir.

TZF'nin bariyer membran olarak kullanıldığı *in vitro* bir çalışmada ise TZF membranının kollajen membrana oranla periosteal hücrelerin *in vitro* olarak üretilmesinde daha uygun bir membran olduğu ve doku mühendisliğinde de kullanılabilceği gösterilmiştir²³. Çalışmanın sonuçlarında TZF'nin biyouyumluluk açısından kollajen membrana oranla daha üstün olduğu gözlenmiştir.

TZF ile İlgili Hayvan Çalışmaları

Huh ve arkadaşları²⁹ 7 tane köpekte gerçekleştirdikleri bir çalışmada çekilmiş olan mandibuler premolar dişlerin olduğu bölgede 15 mm'lik kritik defektler oluşturmuşlardır. Rezeksiyondan önce mandibulanın devamlılığı sağlanmıştır ve rezeke edilen segmentler parçalanarak defekt bölgesine otojen greft olarak uygulanmıştır. Alt çenenin bir tarafına sadece greft, diğer tarafına ise TZF ile birlikte greft uygulanmıştır. Cerrahiden 6 hafta sonra sakrifiye edilen köpeklerde TZF fibrin alanında mükemmel bir iyileşme gözlenirken, kontrol alanında greftte bir miktar rezorpsiyon ve fibröz iyileşme gözlenmiştir. Fibrin grubuyla karşılaştırıldığında kontrol grubunda greftte devital alanlar ve boşlukların daha fazla olduğu ve fibrin grupta yeni kemik oranının % 41,7, kontrol grubunda ise % 30,8 olduğu bildirilmiştir.

Çekim soketi iyileşmesinde TZF'nin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada 4 köpekten 7'şer diş çekilerek elde edilen 28 çekim soketi farklı greft ve membranlar kullanılmış ve iyileşme 10. gün, 2. hafta, 3. hafta, 6. hafta ve 12. haftada değerlendirilmiştir. Greft ve membran olarak TZF'nin kullanıldığı soketler 3. haftada tamamen kemikle dolmuştur. Greft olarak TZF ve membran olarak kollajen membranın kulla-

nıldığı soketler benzer bir iyileşme göstermiştir. Demineralize dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DFDBA) ve kollajen membran kullanılan soketlerde 12. haftada mikroskopik olarak greft parçaları gözlenmiştir⁴⁰.

Daha önce yapılan diğer çalışmalarda ipek fibroinin iyi bir iskelet materyali olduğu gösterilmiştir^{11,31}. İpek fibroin ucuz, biyouyumlu, yavaş bozulma gösteren ve plastisitesi olan bir materyaldir. Bu nedenle Lee ve arkadaşları³³ TZF'ye ipek fibroin ilave edilerek 10 tane tavşanın kalvaryel kemiğinde çift taraflı 9 mm çapında defekt oluşturmuştur. Bir tarafta defekt boş bırakılırken, diğer tarafta TZF + ipek fibroin ile doldurulmuştur ve 6. haftada defektler arasında kemik dolumu istatistiksel olarak farksızken, 12. haftada TZF + ipek fibroin grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmuştur. Sonuç olarak TZF + ipek fibroin kombinasyonunun greft materyali olarak kullanılabilceği öne sürülmüştür.

Tavşanlarda deneysel olarak oluşturulan periimplant defektlerin tedavisinde TZF + ipek fibroin kombinasyonunun kemik dolumuna etkisi incelenmiştir. Tavşanların tibia kemiklerine 7mm çaplı frezle birbirinden 5 mm uzaklıkta iki defekt oluşturularak, defekt içine implant çevresinde her iki tarafta 2'şer mm boşluk olacak şekilde implant yerleştirilmiştir. Bir implantın çevresi boş bırakılıp, diğerine TZF + ipek fibroin kombinasyonu greft olarak uygulanmıştır. Hayvanlar 8 hafta sonra sakrifiye edilerek 5 tavşanda 10 implant tork ölçümü için, diğer 5 tavşanda 10 implant ise histomorfometrik analiz için kullanılmıştır. Tork testinde deney grubunda değerlerin kontrole oranla daha yüksek olduğu ve histomorfometrik olarak deney grubunda oluşan yeni kemik miktarının kontrol grubuna oranla daha fazla olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre peri-implant defektlerin tedavisinde TZF + ipek fibroin kombinasyonu rejeneratif bir tedavi seçeneği olmaya aday olabilir³⁰.

TZF ile İlgili İnsan Çalışmaları

Danielsen ve arkadaşlarının¹² bir çalışmalarında ortalama yaşları 72 olan 20 kronik bacak ülseri olan hastada 2 komşu verici alan yarası oluşturulmuştu. Verici alanın biri ve otogreftlenen alanın yarısı TZF ile kapatılmıştır, diğer yarısı ise boş bırakılmıştır. 5.

ve 8. günde yapılan kontrollerde verici alan epiteli-zasyonu, bakteriyel flora veya ağrı açısından TZF ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı bildirilmiştir.

Diş Hekimliğinde Olgu Çalışmaları

2001-2003 yılları arasında Choukroun ve arkadaşları⁸ gerçekleştirdikleri TZF'li veya TZF'siz uygulanan 9 sinüs tabanı yükseltmesi vaka serilerinde 3 vakada sinüse sadece dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (FDBA), 6 vakada ise FDBA +TZF uygulamışlardır. Bir vakada yırtılan sinüs membranı TZF membran ile kapatılmıştır. 8. ay sonunda elde edilen kemik miktarının istatistiksel olarak TZF grubunda elde edilen kemikten farksız olduğu ancak TZF grubunda 4. ayda ulaşılan sonuçlara FDBA grubunda 8. ayda ulaşıldığı bildirilmiştir. TZF kullanılan grupta yarı yarıya daha hızlı iyileşme elde edilmiştir. Ayrıca TZF ilavesinin daha az FDBA kullanıldığında da yeterli kemik oluştuğu ve TZF membran olarak uygulandığında işlem alanını dış etkenlerden koruyucu bir bariyer, yara iyileşmesini hızlandırıcı bir matriks olarak işlev gördüğü bildirilmiştir. Greft materyali ile kombine edildiğinde fibrin pıhtı greftin farklı elemanları arasında biyolojik bir bağlayıcı görevini görür ve neo-anjiogenez, kök hücrelerin tutulması ve greft merkezine osteoprogenitör hücrelerin göçünü sağlayan bir matriks görevi görür^{8,9}. Bu da TZF'nin oluşan kemiğin daha çok revaskularizasyonunu sağladığı ve kemik hacmini arttırdığı şeklinde açıklanmıştır⁸.

Bir diğer olgu çalışmasında pre-implant cerrahi uygulamalarında TZF membran kullanarak tüm maksillaya horizontal kret augmentasyonu uygulanmıştır⁴¹. Sinüs tabanı yükseltmeleri FDBA+TZF greft kombinasyonu, TZF membran ve %0.5'lik metronidazol kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Metronidazolün biyomateryalin kontaminasyonunu önlemek amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir. Tüm greft alanları TZF membran ile kaplanarak cerrahiden 3 gün sonra primer kapanma sağlandığı ve süturların 3. günde alındığı bildirilmiştir. Cerrahiden 75 gün sonra yapılan bilgisayarlı tomografi taramasında yeni oluşan kemikle eski kemik arasında herhangi bir yoğunluk farkı gözlenmemiştir.

Greft iyileşmesi sırasında trombosit ve fibrin konsantratinin kullanımı 4 avantaj sağlar. Birincisi;

fibrin pıhtı önemli bir mekanik rol oynar. Adheziv özellik göstermemesine rağmen TZF membranının direnci orta şiddetli değişken kuvvetlere karşı koruma sağlar. Greftle karıştırıldığında TZF fragmanları biyolojik bir bağlayıcı görevi görür. Allojenik kemik çiplerinin adhezyonunu sağlar ve bu da grefte iyileşmenin ilk dönemlerinde oldukça önemli olan biyomekanik direnç sağlar⁴¹.

İkincisi; fibrin ağ fragmanlarının allojenik kemikle bütünleşmesi hücre göçü ve neoanjiogenezi, vaskularizasyon ve greft sağ kalımını kolaylaştırır⁴⁷. TZF membran iyileşmelerinden sonra gingival dokularda yüksek oranda olgunlaşma, keratinize dokuda kalınlaşma, estetik sonuçta iyileşme gözlenir.

Üçüncüsü; PDGF, TGFβ1 ve IGF-1 gibi trombosit ürünleri, fibrin matriks rezorbe olurken hızlı bir iyileşme sağlarlar¹⁶. Son olarak TZF içindeki aktifleşmiş lökositlerden ve fibrin ağa gömülmüş sitokinlerden dolayı önemlidir¹⁷.

Tüm klinik parametreler TZF'nin postoperatif ağrı ve ödemi azalttığını ve minör enfeksiyöz durumları bile sınırladığını göstermektedir. Enflamasyon kontrolü ve greftte sepsis riskini azaltmak için bile TZF kullanımını düşünmek mantıklı olabilir⁴¹.

Mazor ve arkadaşları³⁶ vaka serilerinde 20 hastaya 25 sinüs tabanı yükseltme operasyonu ve 41 implant yerleşimi gerçekleştirmiştir. Lateral yaklaşımla gerçekleştirilen operasyonda greft materyali olarak sadece TZF kullanılmıştır. Membranlar kaldırıldıktan sonra sinüs membranı altına yerleştirilen bir veya iki TZF membranının daha sonra yerleştirilen implantlar ile temas halinde olduğu bildirilmiştir. Sinüs kavitesi içine TZF greft olarak yerleştirildikten sonra açılan pencere bir veya iki TZF membranla kapatılmıştır. 6 ay sonra yapılan klinik incelemede tüm implantların klinik olarak stabil olduğu gözlenmiştir. Radyografik incelemede tüm implantların çevresinin kemikle çevrili olduğu saptanmıştır ve implant kaybı gözlenmemiştir. İyileşme başlıkları yerleşimi sırasında operasyon sırasında açılmış olan pencere bölgesinden kemik biyopsisi alınmış ve tüm biyopsi örneklerinde iyi organize olmuş ve vital kemik gözlenmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre sinüs tabanı yükseltmesi ve eş zamanlı implant yerleşiminde greft materyali olarak sadece TZF'nin kullanılması-

nın Schneiderian membranının korunması açısından güvenli ve kemik yenilenmesi açısından başarılı bir yöntem olmaya aday olduğu öne sürülmüştür.

Tunalı ve arkadaşlarının⁴⁶ vaka çalışmalarında 51 yaşındaki bir erkek hastada endodontik-periodontal kombine kemik içi defektin tedavisinde TZF membran ve otojen kemik grefti kullanılarak cerrahi periodontal tedavi uygulanmıştır. Plak indeksi, gingival indeks, sondlamada kanama, mobilite, sondalanan cep derinliği ve klinik ataçman seviyesi tedavi başlangıcı ve ameliyat sonrası 3. ayda kaydedilmiştir. 3. ayda yapılan klinik ve radyografik incelemede kemik dolumu ve 6mm klinik ataçman kazancı bildirilmiştir.

Tek taraflı dudak damak yarığı bulunan 21 yaşında erkek hastada tek taraflı daha önceden geçirilmiş iki operasyona rağmen düzelmeyen oro-nazal açıklığın kapatılması ve alveol defektin tedavisi için otojen kemik grefti ve TZF membran kullanımı bildirilmiştir. Genel anestezi altında anterior iliak kretten otojen kemik grefti alınarak alveol defekt rekonstrükte edilmiştir. İntravenöz olarak alınan 80 ml kanın santrifüjüyle elde edilen yaklaşık olarak 6ml TZF membran kullanılmıştır. Post-operatif ikinci ayda yapılan klinik ve radyografik incelemede oronazal açıklığın kapandığı ve greft sağ kalımının sağlanarak kemik iyileşmesinin elde edildiği gözlenmiştir⁴⁴.

SONUÇ

TZF en son geliştirilen bir trombosit konsantratu olmasına rağmen fibrin teknolojisinde en önde bulunmaktadır. Aslında, TZF'nin iyileştirme kapasitesinden sorumlu olan fibrin molekülün biyolojik aktivitesidir.

TZF bir fibrin biyomateryal olarak dikkate alınmalıdır. Düşük trombin konsantrasyonu moleküler yapısı endotel ve fibroblast hücreleri için optimal bir matriks sağlar. Hızlı bir angiogenez ve daha dirençli bir bağ doku ve kolay fibrin şekillenmesi sağlar. Yavaş polimerizasyon süreci iyileşme sürecini destekleyen fizyolojik yapıya sahip bir TZF membran oluşumu sağlar. TZF membranlar tamamen bireye spesifiktir ve allojenik doku grefti olarak kullanılmaz.

TZF basit bir fibrin membran değildir. Optimal iyileşmeye izin veren moleküler ve hücresel elemanları da içerir. Matriks kanda bulunan bileşenleri içerir ve herhangi bir madde ilavesi olmaksızın elde edilir. Bu nedenle iyileştirici bir biyomateryaldir.

TZF iyileşme sürecinin kilit elemanı fibrin ağ yapısıdır. Fibrinojen konsantrasyonları farklı yöntemler arasında önemli ölçüde değişkendir. Trombosit konsantratları trombosit ve lökositlerin kompleks bir fibrin matriks içinde bir bütün olarak analiz edilmelidir. Trombosit büyüme faktörleri tek başlarına 'sihirli moleküller' olarak açıklanmamalı, matriks biyolojisi içinde dikkate alınmalıdır.

TZF ile ilgili yapılan olgu çalışmaları kemik yapımını arttırması ve iyileşmeyi hızlandırması açısından umut vaat edici olsa da ağız ve periodontal cerrahide kullanımı henüz yaygın değildir. Kullanımını arttırmak için kontrollü klinik çalışmalara gereksinim vardır. Var olan *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların sonuçlarına dayanarak maliyeti düşük ve kolay bir yöntem olması açısından TZF cerrahi uygulamalarında avantajlı bir yöntem gibi görünmektedir.

KAYNAKLAR

1. Anitua E, Sánchez M, Orive G, Andía I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials* 2007; 28: 4551-4560.
2. Badiavas EV, Abedi M, Butmarc J, Falanga V, Quesenberry P. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. *J Cell Physiol* 2003; 196: 245-250.
3. Bensaid W, Triffitt JT, Blanchat C, Oudina K, Sedel L, Petite H. A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. *Biomaterials* 2003; 24: 2497-2502.
4. Boo JS, Yamada Y, Okazaki Y, Hibino Y, Okada K, Hata K, Yoshikawa T, Sugiura Y, Ueda M. Tissue-engineered bone using mesenchymal stem cells and a biodegradable scaffold. *J Craniofac Surg* 2002; 13: 231-239.
5. Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994; 331: 1286-1292.
6. Bucala R, Spiegel LA, Chesney J, Hogan M, Cerami A. Circulating fibrocytes define a new leukocyte subpopulation that mediates tissue repair. *Mol Med* 1994; 1: 71-81.
7. Butt AJ, Firth SM, Baxter RC. The IGF axis and programmed cell death. *Immunol Cell Biol* 1999; 77: 256-262.
8. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. 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: e56-60.

9. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. A second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 299-303.
10. Clark RA. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 936: 355-367.
11. Dal Pra I, Freddi G, Mimic J, Chiarini A, Armato U. De novo engineering of reticular connective tissue in vivo by silk fibroin non-woven materials. *Biomaterials* 2005; 26: 1987-1999.
12. Danielsen P, Jørgensen B, Karlsmark T, Jørgensen LN, Agren MS. Effect of topical autologous platelet-rich fibrin versus no intervention on epithelialization of donor sites and meshed split-thickness skin autografts: a randomized clinical trial. *Plast Reconstr Surg* 2008; 122: 1431-1440.
13. Dinarello CA. Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4: 378-385.
14. Dohan 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: 158-167.
15. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: e37-44.
16. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: e45-50.
17. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: e51-55.
18. Dohan 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: 63-69.
19. Dohan DM, Doglioli P, de Peppo GM, Del Corso M, Charrier JB. Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates *in vitro* proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way. *Arch Oral Biol* 2010; 55: 185-194.
20. Everts PA, van Zundert A, Schönberger JP, Devilee RJ, Knappe JT. What do we use: platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res* 2008; 85: 1135-1136.
21. Feng X, Clark RA, Galanakis D, Tonnesen MG. Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of α v β 3 mRNA by fibrin1. *J Invest Dermatol* 1999; 113: 913-919.
22. Gassling VL, Açı Y, Springer IN, Hubert N, Wiltfang J. Platelet-rich Plasma and platelet-rich fibrin in human cell culture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 48-55.
23. Gassling V, Douglas T, Warnke PH, Açı Y, Wiltfang J, Becker ST. Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering. *Clin Oral Implants Res* 2010; 21: 543-549.
24. Gaur U, Aggarwal BB. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem Pharmacol* 2003; 66: 1403-1408.
25. Gray AJ, Bishop JE, Reeves JT, Laurent GJ. A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. *J Cell Sci* 1993; 104: 409-413.
26. Harry LE, Paleolog EM. From the cradle to the clinic: VEGF in developmental, physiological, and pathological angiogenesis. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2003; 69: 363-374.
27. Hayashi Y, Kobayashi M, Kuwata H, Atsumi G, Deguchi K, Kudo I, Hasegawa K. Interferon-gamma and interleukin 4 inhibit interleukin 1beta-induced delayed prostaglandin E(2) generation through suppression of cyclooxygenase-2 expression in human fibroblasts. *Cytokine* 2000; 12: 603-612.
28. Heldin CH. Simultaneous induction of stimulatory and inhibitory signals by PDGF. *FEBS Lett* 1997; 410: 17-21.
29. Huh JY, Choi BH, Zhu SJ, Jung JH, Kim BY, Lee SH. The effect of platelet-enriched fibrin glue on bone regeneration in autogenous bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006; 101: 426-431.
30. Jang ES, Park JW, Kweon H, Lee KG, Kang SW, et al. Restoration of peri-implant defects in immediate implant installations by Choukroun platelet-rich fibrin and silk fibroin powder combination graft. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 831-836.
31. Jung RE, Schmoekel HG. Platelet-rich plasma and fibrin as delivery system for rhBMP-2. *Clin Oral Implants Res* 2005; 16: 676-682.
32. Kwan Tat S, Padrines M, Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 49-60.
33. Lee EH, Kim JY, Kweon HY, Jo YY, Min SK, Park YW, Choi JY, Kim SG. A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: e33-38.
34. Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, Cenacchi A, Del Vento AM, Meotti C, Bertoja AZ, Giardino R, Fornasari PM, Mercuri M, Picci P. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials* 2003; 24: 3095-3100.
35. Lundquist R, Dziegiel MH, Agren MS. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin. *Wound Repair Regen* 2008; 16: 356-363.
36. Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan DM. Sinus Floor Augmentation With Simultaneous Implant Placement Using Choukroun's Platelet-Rich Fibrin as the Sole Grafting Material: A Radiologic and Histologic Study at 6 Months. *J Periodontol* 2009; 80: 2056-2064.
37. Rosenkranz S, Kazlauskas A. Evidence for distinct signaling properties and biological responses induced by the PDGF receptor alpha and beta subtypes. *Growth Factors* 1999; 16: 201-216.
38. Ruhrberg C. Growing and shaping the vascular tree: multiple roles for VEGF. *Bioessays* 2003; 25: 1052-1060.
39. Sahni A, Odrlijin T, Francis CW. Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin. *J Biol Chem* 1998; 273: 7554-7559.

40. Simon BI, Zatcoff AL, Kong JJ, O'Connell SM. Clinical and Histological Comparison of Extraction Socket Healing Following the Use of Autologous Platelet-Rich Fibrin Matrix (PRFM) to Ridge Preservation Procedures Employing Demineralized Freeze Dried Bone Allograft Material and Membrane. *Open Dent J* 2009; 3: 92-99.
41. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. *Implant Dent* 2009; 18: 102-111.
42. Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan DM. The Relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin and Metronidazole During Complex Maxillary Rehabilitations Using Bone Allograft. Part II: Implant Surgery, Prosthodontics, and survival. *Implant Dent* 2009; 18: 220-229.
43. Su Y.C, Kuo YP, Tseng YH, Su CH, Burnouf T. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 56-61.
44. Şençimen M, Gülses A, Özkaynak Ö, Varol A, Okçu KM, Doğan N. Trombositten zengin fibrin membran kaplı otojen kemik grefti ile tek taraflı alveol yarığı onarımı. *Hacettepe Diş Hekimliği Dergisi* 2009; 33: 37-42.
45. Tiggelman AM, Boers W, Linthorst C, Sala M, Chamuleau RA. Collagen synthesis by human liver (myo)fibroblasts in culture: evidence for a regulatory role of IL-1 beta, IL-4, TGF beta and IFN gamma. *J Hepatol* 1995; 23: 307-317.
46. Tunalı M, Özdemir H, Gürbüz B, Pıkdöken L, Oruç S. Endodontik-periodontal kombine kemik içi defektlerin tedavisinde trombositten zengin fibrin membran ile otojen kemik greftinin kombine kullanımı. *Cumhuriyet Üniv Diş Hek Fakültesi Derg* 2009; 12: 42-46.
47. Van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 936: 426-437.
48. Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997; 55: 1294-1299.
49. Yamada Y, Boo JS, Ozawa R, Nagasaka T, Okazaki Y, Hata K, Ueda M. Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold. *J Craniomaxillofac Surg* 2003; 31: 27-33.
50. Yu J, Ustach C, Kim HR. Platelet-derived growth factor signaling and human cancer. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36: 49-59.
51. Zachary I. VEGF signalling: integration and multi-tasking in endothelial cell biology. *Biochem Soc Trans* 2003; 31: 1171-1177.

Yazışma Adresi

Hatice BALCI

Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi

Periodontoloji Anabilim Dalı, Sivas

e-posta: htbalci@gmail.com