

*İkinci Jenerasyon Trombosit Konsantrasyonu:  
Trombositten Zengin Fibrin*



Günümüz dış hekimliği cerrahisinde çeşitli greft materyallerinin yanı sıra veya greft materyalleriyle kombine olarak bazı büyüme faktörleri de kullanılmaktadır.

Büyüme faktörü proliferasyon, kemotaksis, farklılaşma ve ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretimi gibi birçok hücrel aktiviteyi stimüle eden hormonlara verilen genel bir isimdir. Bu aktiviteri rejenerasyonun temel basamaklarıdır. Örnek verecek olursak, Kemik Morfogenetik Protein (BMP mezenşimal hücreleri stimüle edip osteoindüktif rol oynamaktadır), Transforme Edici Büyüme Faktörü  $\beta$ -1 (TGF  $\beta$ -1, Osteoblastların kemotaksisini stimüle eder, endotelial hücre ve fibroblast apoptozisini, fibroblastların miyoblastlara dönüşümünü uyarır), Damarsal Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF, angiogenezi artırır), Trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF, mezenşimal progenitor hücrelerini proliferasyonunu stimüle eder, nötrofil ve monositlerin kemotaksisini artırır), Epidermal Büyüme Faktörü (EGF, epitelial hücrelerin proliferasyonundan sorumludur), İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1 (IGF-1, osteoblast ve kemik matriksi sentezini stimüle eder) (14).

Büyüme faktörlerinin bu olumlu etkileri, cerrahi uygulamalarla elde edilecek iyileşmenin nitelik ve niceliğini arttırmada kullanılmaktadır. Trombosit kaynaklı büyüme faktörleri de bunlardan biridir.

Trombosit konsantrasyonları içerikleri ve elde edilmiş yöntemlerine göre Trombositten Zengin Plazma (TZP) ve Trombositten Zengin Fibrin (TZF) olarak iki sınıfa ayrılır (7). Kandan elde edilen ilk ürün olan TZP, yüksek konsantrasyonlarda trombositler ve büyüme faktörleri içeren otojen kan pıhtısıdır (15). Trombin ve  $\text{CaCl}_2$  eklendiğinde jel formunda kullanılabilir. Tıpta, diş hekimliğinde ve veterinerlikte yaygın kullanım alanlarına sahiptir (3, 21, 22).

Del Fabbro ve ark. (9), 2011 yılında yayınladıkları sistematik derleme ve meta analizi çalışmasında, TZP'nin periodontal kemik içi defektlerin, furkasyon defektlerinin ve dişeti çekilmelerinin tedavisine olası etkisini değerlendirmişlerdir. Çalışmacılar toplam 29 araştırma makalesini değerlendirmeye almıştır. Sonuçta, TZP'nin, kemik içi ve furkasyon defektlerinde greft materyaliyle kombine kullanımında iyileşmeye katkıda bulunabileceğini, fakat yönlendirilmiş doku rejenerasyonu işlemlerinde ve

dişeti çekilmelerinin tedavisinde iyileşmeye ilave katkılarının olmadığını saptamışlardır.

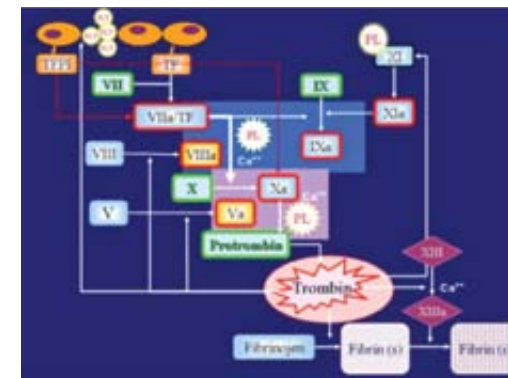
Trombosit konsantrasyonlarının ikincisi olan TZF, trombositlerin ve sitokinlerin fibrin ağı içerisinde yoğunlaştırılmasıyla elde edilir (5, 6). TZF'nin, TZIP'den farklı olarak, herhangi bir antikoagülan ya da sentetik madde eklenmeden elde edilişi, üretim süresinin kısa, maliyetinin düşük olması tercih edilme sebebi olmuştur (7). TZIP ve TZF arasındaki farklar Tablo 1'de özetlenmiştir.

Trombosit sitokinleri aktivitesi TZF elde etmede anahtar rol oynadığı için oluşum basamaklarını iyi tanımlamak gerekir.

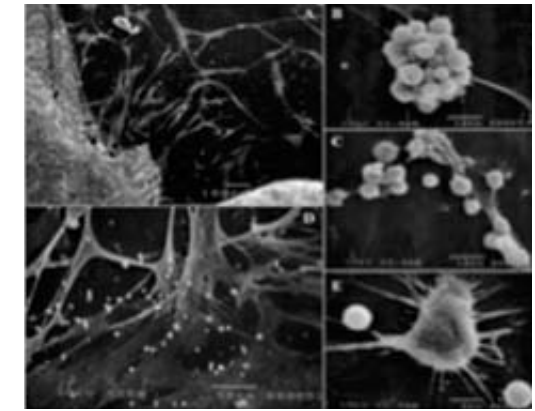
Kan, plazma ve hücrelerden oluşmaktadır. Plazma; protein, şeker, yağ, vitamin, hormon ihtiva eder. Kan hücreleri ise eritrosit, lökosit ve trombositlerdir. Trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerden oluşur. Bir trombositin kan dolaşımındaki ömrü 8-10 gündür. Renksiz, çekirdeksiz disk şeklindedirler ve sitoplazmalarında fibrinojen, büyüme faktörleri gibi birçok granül ihtiva ederler. Sağlıklı bir bireyde kanda  $150.000-450.000/\text{mm}^3$  bulunurlar (5, 6).

Biyolojik yara iyileşmesi basamaklarında damarlardaki kanama sonucu trombositlerden tromboplastin maddesi açığa çıkar. Tromboplastin aktif hale geçerek karaciğerde üretilen ve ön maddesi K vitamini olan protrombini kalsiyum iyonlarının da yardımıyla trombine çevirir. Trombin kan sitoplazmasında bulunan fibrinojeni fibrin ağına dönüştürür ve bölgede ilk basamak tıkaç oluşur (16) (Resim 1).

Fibrin ağı dolaşımdan gelen kök hücreleri yakalar ve yara bölgesinde vaskülarizasyonu aktive eder. Fibrin matriksin angiogenezi doğrudan aktive ettiği saptanmıştır (13).



**Resim 1** Trombosit aktivasyonunu takiben bir dizi reaksiyon sonucu fibrin oluşum mekanizması (18)

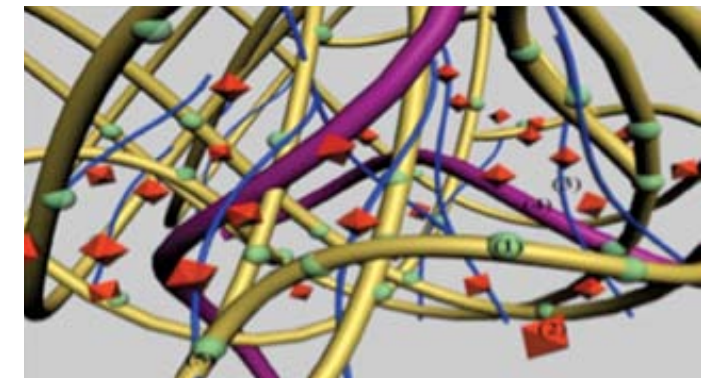


**Resim 3** Elektron mikroskobu altında osteoblast kültürü içerisine yerleştirilen TZF gözlenmektedir. Osteoblastlar TZF çevresinde geniş bir ağ oluşturmaktadır (4).

Trombositler pıhtıyı şekillendirmenin yanı sıra yara iyileşmesini başlatan büyüme faktörlerini ve sitokinleri de ihtiva eder (1). Trombositlerin  $\alpha$ -granüllerinde TGF $\beta$ -1, PDGF, EGF, IGF-1, VEGF, BMP gibi büyüme faktörleri vardır ve iyileşme basamaklarında önemli rol oynamaktadırlar. TZF de tüm bu büyüme faktörleri konsantrasyonları artırılmış olarak yara bölgesine yerleştirilir (6, 16).

Tüm bu bilgiler ışığında, trombosit konsantrasyonunun uygulandığı bölgede büyüme faktörlerini ve fibrin ağı sayısını arttırmayı hedeflediğini söyleyebiliriz.

Dohan ve ark. (4), hastaların farklı bölgelerinden alınan doku örneklerini aynı kişilerden elde edilen TZF'ler ile kültür ortamında bekletmiştir. Mikroskobik incelemelerde mandibular kemikten alınan osteoblast örneklerinin etrafındaki TZF membranının yapısı görülmektedir. Fibrin ağlarının etrafı osteoblast hücreleriyle çevrilidir (Resim 3). Dohan ve ark. (6), yaptıkları bir başka çalışmada fibrin yapısının içerisindeki sitokin dağılımını şematik olarak göstermişlerdir (Resim 4).



**Resim 4** 1-sitokin, 2-trombosit sitokini, 3-glikan zinciri, 4-fibronektin, 5-fibrin-glikan zincir ağı (6)



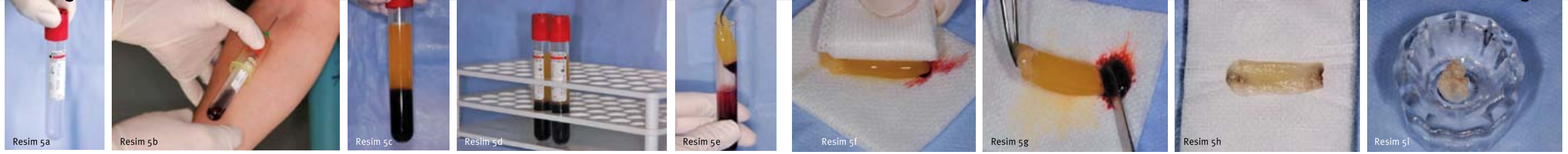
**Diş Hekimi**  
**Hande Alpay Yavuz**  
İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği  
Fakültesi Periodondoloji AD  
Doktora Öğrencisi  
*handealpay@yahoo.com*



**Dr. Diş Hekimi**  
**Mete Hanzade**  
*metehanzade@hotmail.com*



**Prof. Dr. Ahmet Efeoğlu**  
İstanbul Üniversitesi  
Dış Hekimliği Fakültesi  
Periodontoloji AD  
*efeoglu@istanbul.edu.tr*



Resim 5

Kuru santrifüj tüpü (a), venöz damardan alınan kan (b), santrifüjü tamamlanmış TZF tüpleri (c-d), TZF presel yardımı ile tüpten çıkartılır (e), steril gaz tampon ile dehidrate edilir (f), eritrositlere yakın tabaka sıyrılır (g), membran ya da greft formunda kullanılır (h-i).

Hyeon ve ark. (11), 2007 yılında yaptıkları bir hayvan çalışmasında, sinus lifting operasyonlarında otojen greft ile otojen greft+TZF uygulamasını karşılaştırmışlardır. Hayvanlar sakrifiye edildikten sonra yapılan histolojik incelemede test grubunda (otojen greft+TZF) kemik miktarı kontrol grubuna göre fazla bulunmuştur. Sebebi, TZF'nin otojen greftte bulunan protein yapıyı aktive etmesi ve ortama çağırdığı osteoblastların yapışma eğilimi olarak gösterilmiştir.

Choukroun ve ark. (13), yaptıkları benzeri bir insan çalışmasında TZF ile karıştırılan greftin tek başına greft uygulamasına göre daha çabuk yeni kemik oluşturduğunu belirtmişlerdir.

TZF'nin yumuşak doku iyileşmesindeki rolünün TZF ile benzer olduğu düşünülmektedir. Yapılan bir çalışmada standart KKF ve KKF/TZF'nin karşılaştırılmasında fark görülmemiştir (19).

Throat ve ark. (20), 2011 yılında yayınlanan bir çalışmalarında periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde konvansiyonel flap ve flap/TZF'yi karşılaştırmışlardır. Birinci yıl sonunda alınan klinik ve radyografik sonuçlar karşılaştırıldığında TZF kullanımının iyileşmeyi hızlandırdığı saptanmıştır.

#### TZF'nin elde edilişi

TZF, hastadan alınan venöz kanın 3.000 devir/dakikada, 10 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilir. Oldukça basit olan bu sistemin başarısı hastadan kan elde edildikten sonra hızlı bir şekilde santrifüj edilmesinden geçer. 10 mililitrelik kuru vakumlu tüplere alınan venöz kan ilk birkaç dakika içerisinde santrifüj edilmeye başlanmalıdır. Santrifüjün ilk dakikalarında trombositler tüp duvarlarına çarpar ve içerikleri serbest kalır.

Elde edilen kana antikoagülan eklenmediği için doğal olarak polimerize olma eğilimindedir. TZF herhangi bir antikoagülan ya da sentetik madde eklenmeden elde edilerek TZP'nin aldığı eleştirileri ekarte etmektedir (5, 6) (Resim 2).

Satrifüj edilen tüplerden steril presel yardımıyla çıkartılan TZF'nin kırmızı kan hücresine yakın tabakası el aleti yardımıyla sıyrılır (Resim 5c-d-e-f). Elde edilen TZF'nin serumu gaz tampona emdirilerek direnci yüksek membran formu elde edilir (Resim 5f). Membran, kullanılacağı alana göre makasla kesilerek istenildiği gibi şekillendirilebilir. Gerek duyulursa, birden fazla membran üst üste konarak uygulanabilir (Resim 5h, 6) ya da küçük parçalar halinde kesilerek greft formunda kullanılır (Resim 5i, 7).

TZF genel tıpta da birçok alanda yara yeri iyileşmesini hızlandırma ve rejenerasyon sağlama amaçlı kullanılmaktadır (2, 17).

#### TZF'nin diş hekimliğinde kullanım alanları:

1. Periodontal defektlerin tedavisi (20)
2. Sinus lifting operasyonları (11, 23)
3. Soket ogmentasyonu (10)
4. Kret ogmentasyonu (8)
5. Dişeti çekilmesi tedavisi (19)
6. Açık yara yüzeylerinin örtülmesi (2, 3)
7. Furkasyon defekti tedavisi (18)

Sonuç olarak, TZF'nin rejenerasyonu hızlandıran mevcut içeriği, otojen ve kolay temin edilebilirliği, ucuz ve güvenilir olması tercih edilme sebebidir. Rejeneratif tedavilerde alınan sonuçlar yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla desteklendiği takdirde kullanım alanları daha da artacaktır. ■

|     | Santrifüj Süresi | Elde Edilme Süresi | Maliyet | Elde Edilen Miktar | Trombosit Miktarı | Muhafaza Edilen Miktar | Fibrin Yoğunluğu | Polimerizasyon |
|-----|------------------|--------------------|---------|--------------------|-------------------|------------------------|------------------|----------------|
| TZP | 28 dk            | ≥ 75dk             | Yüksek* | Az\$               | Yeterli           | Kısa¶¶                 | Düşük            | Zayıf          |
| TZP | 10 dk            | ~15 dk             | Düşük** | Çok\$\$            | Yeterli           | Uzun¶¶¶                | Yüksek           | Güçlü          |

**Tablo 1(7)** TZP (Trombositten zengin plazma) ve TZF (Trombositten zengin fibrin)'nin avantaj ve dezavantajlarının karşılaştırılması

\* Otolog TZP ve trombin kitleri ve uygulama aparatı gereklidir,

\*\* Vakumlu 10 ml kuru test tüpü gereklidir. \$ 28 ml venöz kandan toplam 4 ml ürün elde edilir, \$\$ 10 ml venöz kandan ~5 ml ürün elde edilir. ¶¶ Elde edildikten sonra hemen kullanımı gereklidir, ¶¶¶ Elde edilen ürün birkaç saat bekletilebilir.

#### KAYNAKLAR

1. 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(1):4-15.
2. Braccini F, Dohan DM. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic lipostructure (Coleman's technique): preliminary results. Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord) 2007; 128(4):255-260.
3. Cervelli V, Palla L, Pascali M, De AB, Curcio BC, Gentile P. Autologous platelet-rich plasma mixed with purified fat graft in aesthetic plastic surgery. Aesthetic Plast Surg 2009; 33(5):716-721.
4. David M. Dohan, Antoine Diss, Guillaume Odin, Pierre Doglioli, Marie-Pascale Hippolyte, Jean-Baptiste Charrier. In vitro effects of Choukroun's PRF on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2009; 108:341-352.
5. David M. Dohan, Joseph Choukroun, Antoine Diss, Steve L. Dohan, Anthony J. J. Dohan, Jaafar Mouhyi, Bruno Gogly. 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; 101:37-44.
6. David M. Dohan, Joseph Choukroun, Antoine Diss, Steve L. Dohan, Anthony J. J. Dohan, Jaafar Mouhyi, Bruno Gogly. 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; 101:45-50.
7. David M. Dohan, Lars Rasmusson, Tomas Albrektsson. Classification of platelet concentrates from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in Biotechnology 2009; 27(3):158-167.
8. Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery. Part 1: Periodontal and dentoalveolar surgery. Curr Pharm Biotechnol 2011; Jul 8.
9. Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S, Weinstein R. Is platelet concentrate advantageous for the surgical treatment of periodontal diseases? A systematic review and meta-analysis. J Periodontol 2011 Aug;82(8):1100-1111.
10. Gürbüz B, Pıkdöken L, Tunalı M, Urhan M, Küçükodacı Z, Ercan F. Scintigraphic evaluation of osteoblastic activity in extraction sockets treated with platelet-rich fibrin. J Oral Maxillofac Surg. 2010 May; 68(5):980-989.
11. Hyeon Jung Lee, Byung Ho Choi, Jae Hyung Jung, Shi Jiang Zhu, Seoung Ho Lee, Jin Youn Huh, Tae Min You, Jinxu Li. Maxillary sinus floor augmentation using autogenous bone grafts and platelet-enriched fibrin glue with simultaneous implant placement. Oral Surg Oral Med Oral

Pathol Oral Radiol Oral Endod 2007; 103:329-333.

12. Joseph Choukroun, Antoine Diss, Alain Simonpieri, Marie-Odile Girard, Christian Schoeffler, Steve L. Dohan, Anthony J.J. Dohan, Jaafar Mouhyi, David M. Dohan. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. Oral Surg Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2006; 101:56-60.

13. Joseph Choukroun, Antoine Diss, Alain Simonpieri, Marie-Odile Girard, Christian Schoeffler, Steve L. Dohan, Anthony J. J. Dohan, Jaafar Mouhyi, David M. Dohan. Platelet-rich fibrin (PRF): 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 Oral Endod 2006; 101:299-303.

14. Lindhe J. Tissue Regeneration. In: Clinical periodontology and implant dentistry. 5 ed. Copenhagen: Munksgaard; 2008. 559.

15. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1998; 85(6):638-664.

16. Nurden AT. Platelets, inflammation and tissue regeneration. Thromb Haemost 2011; 105(Suppl 1):13-33.

17. Sean M. O'Connell, Theresa Impeduglia, Karen Hessler, Xiu-Jie Wang, Richard J. Carroll, Herbert Dardik. Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers. Wound Repair and Regeneration 2008; 16:749-756.

18. Sharma A, Pradeep AR. Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: A randomized clinical trial. J Periodontol. 2011 Oct; 82(10):1396-1403.

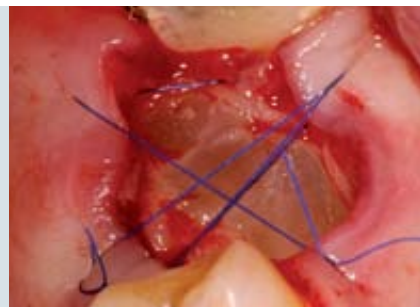
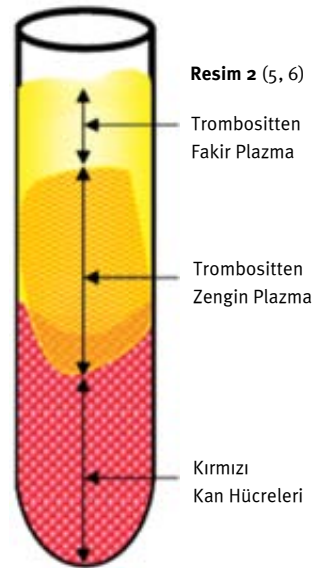
19. Sofia Aroca et al. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: A 6-month study. J Periodontol 2009; 80:244-252.

20. Thorat M. Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: a controlled clinical trial. J Clin Periodontol 2011 Oct; 38(10):925-932.

21. Tözüm TF, Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. J Can Dent Assoc 2003; 69(10):664.

22. Waselau M, Sutter WW, Genovese RL, Bertone AL. Intralesional injection of platelet-rich plasma followed by controlled exercise for treatment of midbody suspensory ligament desmitis in Standardbred racehorses. J Am Vet Med Assoc 2008; 232(10):1515-1520.

23. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. J Cranio-Maxillo-Facial Surgery 2011; 1-8.



**Resim 6** Membran formunda hazırlanan TZF çekim soketine uygulanmıştır.



**Resim 7** TZF küçük parçalara bölünüp ksenogreft ile karıştırılarak greft formunda kullanılmıştır.