



DİŞ HEKİMLİĞİNDE TROMBOSİT KONSANTRASYONLARININ TARİHSEL GELİŞİMİ VE ÖZELLİKLERİ

Historical Development and Properties of Platelet Concentrates in Dentistry

Mehmet KIZILTOPRAK, Mustafa Özay USLU

Makale Kodu/Article Code : 381546

Makale Gönderilme Tarihi : 19.01.2018

Kabul Tarihi : 09.04.2018

ABSTRACT

Platelets play a very important role in wound healing and hemostasis and are among the potential cells of regenerative therapy due to the growth factors and cytokines they contain. This has increased the interest in platelets and platelet concentrates in regenerative therapy. Various platelet concentrates from the past to the present day were obtained, and when these products were used alone or in combination with other biomaterials, positive contributions to the healing process were observed. When platelet concentrates are used in surgical procedures involving hard and soft tissues, they contribute by controlled release of cytokines and growth factors they contain. This in turn is known to accelerate the wound healing process. Since platelet concentrates are autogeneous, immunological reactions and cross infections are avoided. When whole blood is centrifuged for various periods at various G forces, platelet derived products with different contents are obtained. The characteristics of platelet derived products are continuously improved; hence more recent products have more advanced characteristics than the previous ones. The aim of this review is to; to illuminate the reader_regarding the historical development and properties of platelet concentrates such as PRP, PRGF, PRF and CGF.

Key Words: platelet concentrates, platelet rich plasma, platelet rich fibrin, concentrated growth factor

ÖZET

Trombositler hemostaz ve yara iyileşmesinde çok önemli bir rol oynamakta ve ihtiva ettikleri büyüme faktörleri ve sitokinler sayesinde rejeneratif tedavinin potansiyel hücreleri arasında yer almaktadırlar. Bu durum, rejeneratif tedavide, trombosit ve trombosit konsantrasyonlarına olan ilgiyi arttırmıştır. Geçmişten günümüze kadar çeşitli trombosit konsantrasyonları elde edilmiş ve bu ürünler tek başına veya başka biomateryallerle kombine kullanıldığında, iyileşme sürecine olan olumlu katkıları görülmüştür. Trombosit konsantrasyonları, sert ve yumuşak dokuya yönelik cerrahi prosedürlerde kullanıldığında, içeriğinde bulunan yoğun sitokin ve büyüme faktörlerinin kontrollü salınımını sağlar. Bu durum doğal yara iyileşme sürecini hızlandırmaktadır. Ayrıca, otojen kaynaklı olduklarından herhangi bir immünolojik reaksiyon ve enfeksiyona yol açmamaları en önemli avantajlarıdır. Tam kan farklı devirlerde ve farklı sürelerde santrifüj edildiğinde içeriği birbirinden farklı olan trombosit kaynaklı ürünler elde edilmiştir. PRP, PRGF, PRF ve CGF gibi ürünlere bakıldığında yeni keşfedilen her ürünün bir öncekine göre daha gelişmiş özellikleri olduğu görülmektedir. Bu derlemenin amacı; PRP, PRGF, PRF ve CGF gibi trombosit konsantrasyonlarının tarihsel gelişimi ve özellikleri hakkında bilgi vermektir.

Anahtar Kelimeler: trombosit konsantreleri, trombosit zengin plazma, plazmadan zengin fibrin, konsantre büyüme faktörü

GİRİŞ

Trombosit, kanda bulunan en küçük kan hücresidir. Kanama sırasında kanın pıhtılaşmasını sağlayan ve aşırı kan kaybını önleyen hücre parçalarıdır.¹ Trombositler renksiz olup çekirdekleri yoktur. Büyüklükleri 1-3 mikron arasında değişmekte olan trombositler, mikroskop altında parlak mavi renkte görünürler. Sağlıklı yetişkin insanın 1 mm³ kanında ortalama 150.000 ile 400.000 arasında trombosit bulunur. Trombosit oranının düşük olması kanama eğiliminde artmaya, yüksek olması ise damar içinde pıhtı (tromboz) oluşmasına neden olmaktadır. Trombositler, kemik iliğinin büyük hücreleri olan megakaryositler tarafından üretilir. Karaciğer tarafından çoğalmaları kontrol edilen bu hücrelerin ortalama yaşam süreleri 8-10 gündür. Bu süreyi dolduran trombositler dalakta parçalanarak ayrıştırılırlar. Trombositler, fonksiyonlarını yapısındaki depo ve yeni sentezlenmiş mediyatörlerin bulunduğu salgı granülleri ile sağlar.² Üç tip trombosit salgı granülü vardır; yoğun granüller, lizozomlar ve en fazla bulunan α -granüller.² Yoğun granüllerde ATP, ADP, serotonin, kalsiyum, fosfat, guanin nükleotid bulunurken, lizozomal granüllerde asit hidrolazlar (β -Galaktosidaz, β -Glukuronidaz, α -arabinosid, N-asetil-glukozamidaz, Elastaz, Kollejenaz, Katepsin) yer alır. Trombosit başına yaklaşık 50-80 α -granülü olup içerisinde enzimler (α 1-antitripsin, α 2-makroglobulin, α 2-antiplasmin, C1-esteraz inhibitörü), adhezyon proteinleri (Fibrinojen, Fibronektin, Von Willebrand Faktör, Trombospondin, Vitronektin, GP IIb/IIIa, P-Selektin), sitokin benzeri proteinler (IL 1, CD 40 Ligand, PF4 (Trombosit faktör 4), β -Tromboglobulin (BTG)), koagülasyon faktörleri (HMWK, Plazminojen, PAI-1, Faktör V, Faktör XI, Fibrinojen, Protein S) ve büyüme faktörleri (TGF- β (Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta), PDGF (Trombosit Türevli Büyüme Faktörü), VEGF (Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü), EGF (Epidermal büyüme faktörü), IGF-1(İnsülin Benzeri

Büyüme Faktörü-1) bulunur.² Bu büyüme faktörleri matriks remodelasyonu, hücre proliferasyonu ve anjiyogenez için uyarıcı potansiyele sahiptirler.^{3,4}

Trombositler, rejeneratif tedavinin potansiyel hücreleri arasında sayılmaktadır. Çok sayıda büyüme faktörü içermeleri ve elde edilmelerinin kolay olması, trombositlere olan ilgiyi artırmıştır. Trombositten zengin plazma ve içerdiği büyüme faktörleri pro-inflamatuar ve anti-inflamatuar özelliklere sahip⁵ olup trombositler ve ürünleri rejeneratif tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin; trombositlerden salınan TGF- β 1'in pro-inflamatuar özelliklerine ek olarak anti-inflamatuar mediatör olarak da rol oynadığını gösterilmiştir⁵. Yine trombosit-nötrofil etkileşimi lipoksinler (LXs) olarak adlandırılan hücresel araşidonik asitten türeyen endojen lipid moleküllerinin, yeni nötrofil infiltrasyonunu geciktirme ve nötrofil apoptozunu artırarak anti-inflamatuar etki göstermektedir⁵. Damar endotelinde hasar olduğunda dolaşımda disk halinde bulunan trombositler hasarlı bölgeye göç ederek damar endoteline bağlanır. Trombositlerin endotele adhezyonu; trombositlerdeki CD40L, GPIIb ve GPIIb/GIIIa reseptörlerinin sırasıyla entoteldeki CD40, P-selectin and ICAM-1 reseptörlerine bağlanmasıyla gerçekleşmektedir.⁶ Bu bağlanma IL-8, kemokinler ve doku faktörünün (TF) salgılanmasını tetikler ve ardından nötrofillerin bölgeye göçü gerçekleşir. Hasar bölgesine gelen nötrofildeki PSGL-1 ile trombositteki P-selektin birleşimi nötrofil-trombosit etkileşimini başlatır ve aktive olan nötrofildeki Mac-1; trombosit yüzey ligandlarına (GPIIb β 3 bağlı fibrinojen, GPIIb ve ICAM-2 gibi) bağlanmasıyla nötrofil-trombosit etkileşimini tamamlayarak diğer nötrofillerin aktivasyonunu uyarır. Böylece aktive nötrofiller, ekstrensik ve intrensik yollarla pıhtı oluşma aktivitesini artırır.⁶

Trombositler, doku hasarından sonra hemostaz ve yara iyileşmesinde kilit rol

oynamaktadır.⁷ Buna göre trombositler travmadan hemen sonra fibrin pıhtı oluşma mekanizmasında, doğrudan veya dolaylı yollarla faktör aktivasyonu gibi fibrin iplikleri üreten reaksiyon basamaklarında birden fazla seviyeye katılarak, aktive trombosit agregasyonu ve kırmızı ve beyaz kan hücreleri arasında yer alan fibrin ağından oluşan nihai pıhtı kompozisyonunun bir parçasını oluştururlar.⁸ Böylece hemostatik ve doku sızdırmazlık maddesi olarak etki gösterirken doku onarımı aşamalarında da önemli rol oynarlar. Trombosit aktivasyonunun daha uzun süreli etkileri otuzdan fazla büyüme faktörünün ekspresyonundan kaynaklanmaktadır.⁸ Trombositler kemotaktik olup fibroblastlar, endotel hücreleri ve progenitor hücrelerin çoğalmasını indüklemekte⁹ ve yara iyileşmesinin sürecini düzenlemektedirler. Trombositleri temsil eden en önemli büyüme faktörleri şunlardır: trombosit türevli büyüme faktörü-BB (PDGF-BB), transforme edici büyüme faktörü β -1 (TGF- β 1), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) ve bazik fibroblast büyüme faktörü (bFGF).¹⁰

Plazma ürünlerini (trombin ve fibrinojen) etkinleştirmek amacıyla trombositler ilk kez Cronkite ve ark. tarafından 1944'de cilt grefti sırasında kullanılmıştır.^{11, 12} Yıllar sonra, 1972'de Matras ve ark. sinir onarımı için fibrin yapıştırıcı kullanma fikrini ilk kez sunmuşlardır.^{13, 14} Günümüzde, Tisseel (Baxter, ABD) gibi insan plazmasından hazırlanan fibrin yapıştırıcılar yaygın olarak kullanılmaktadır. Otolog fibrin yapıştırıcılar kontaminasyon riskinden kaçınmak için en iyi seçenektir, ancak üretim protokollerinin karmaşıklığı ve maliyeti nedeniyle kullanımı çok sınırlı kalmaktadır.¹⁵ Yıllar boyunca deneysel ve klinik çalışmalarda trombosit ürünlerinin çeşitli amaçlarla kullanılması yaygınlaşmıştır.

Trombosit konsantrasyonlarını iki kuşak olarak ele alabiliriz. Bunlar:

1-Birinci kuşak trombosit konsantrasyonları:

-Trombositten zengin plazma (Platelet rich plasma (PRP))

-Büyüme faktörlerinden zengin plazma (Plasma rich growth factor (PRGF)-Anitua'nın PRGF'si (Anitua's PRGF))

2-İkinci kuşak trombosit konsantrasyonları:

-Trombositten zengin fibrin (Platelet rich fibrin (PRF))

-Titanyum ile hazırlanan trombosit zengin fibrin (Titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF))

-Enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin (i-PRF)

-Konsantre büyüme faktörü (Concentrated growth factor (CGF))

Birinci Kuşak Trombosit Konsantrasyonları

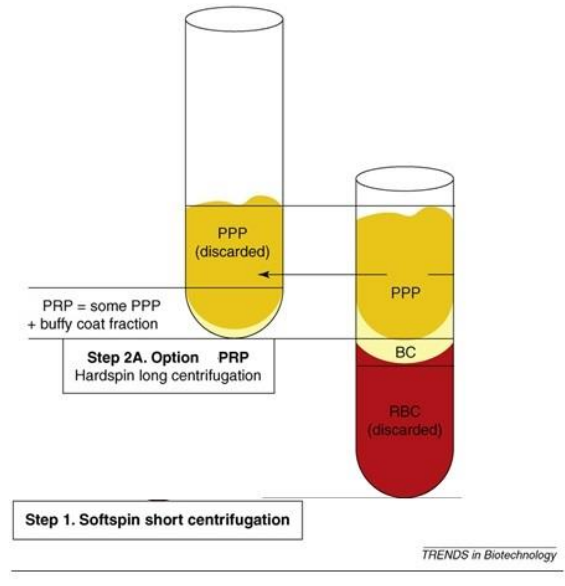
1970 yılında keşfedilen "Otolog Trombositten Zengin Plazma"nın ilk kez 1987'de açık kalp ameliyatı sırasında kullanımı bildiren Ferrari ve ark. birçok biyoaktif molekülün varlığına bağlı hasar görmüş dokuların yenilenmesinde, PRP'nin kullanılmasını önermişlerdir.¹⁶ Diş hekimliğinde ise ilk kullanımı 1998'de Dr. Robert E. Marx tarafından bildirilmiş olup, maksillofasial kemik rejenerasyonunda kullanımı tavsiye edilmiştir.¹⁷

Otolog trombosit zengin plazma (PRP), kandan elde edilen, başlangıca göre daha yüksek trombosit konsantrasyonuna sahip otojen plazmadır. PRP yüksek seviyede pıhtılaşma faktörleri, büyüme faktörleri ve trombosit içermektedir.¹⁸ İçerdiği trombosit sayısı yaklaşık 3-5 kez artırılmıştır.¹⁹ Elde edilen PRP tek başına ilgili bölgeye enjekte edilerek veya greft materyalleri ile karıştırılarak kullanılmaktadır.²⁰

PRP'nin erken dönemdeki etkisi, fibrin yapıştırıcıya benzer şekilde bir fibrin pıhtı oluşturarak daha hızlı hemostaz ve doku adhezyonu sağlamasıdır. PRP uygulamasında, yara bölgesine iletilen trombosit sayısı ile orantılı olarak, ortama salınan faktörlerin

miktarı da artmaktadır. Böylece travmaya olan fizyolojik yanıt da artmış olur. Bu durum PRP terapisini savunanlar tarafından, PRP'nin doku rejenerasyonunu artırıcı etkisi ile ağrı, kan kaybı ve enfeksiyonu azaltıcı etkilerinin varlığıyla açıklanmıştır.²¹

PRP'nin elde edilmesi son yıllarda kolaylaştırılmıştır ve kullanımını yalnızca ameliyathanede değil, aynı zamanda doktor ofisinde de sağlanabilmektedir. PRP'nin ofiste hazırlanması için piyasaya dağıtılan çeşitli sistemler mevcuttur. PRP'yi hazırlamak için genellikle iki aşamalı santrifüj prosedürü kullanılmaktadır ancak çeşitli santrifüj teknikleri ve farklı hazırlama yöntemlerine veya ticari hazırlama aygıtlarına göre farklı konsantrasyonlarda trombosit içeren PRP eldesi rapor edilmiştir.²² Çünkü farklı santrifüj cihazlarında aynı devirde santrifüje edilen kanda tüpe uygulanan çekim kuvveti farklı olacağından aynı içerikte PRP elde edilmeyebilir. 2013 yılında Jo ve arkadaşları, santrifüj süresi ve yerçekimi kuvvetini değiştirerek uyguladıkları protokole, 9ml kandan % 84.3 oranında PRP geri kazanımı sağlamışlardır.²³ Bu nedenle PRP hazırlamada standart bir santrifüj süresi ve devir sayısı olmayıp cihazı üreten firmanın kullanım talimatları göz önünde bulundurulur. Şekil-1 de klasik manuel PRP protokolü gösterilmiştir.²⁴



Resim-1. Klasik manuel PRP tekniği

Klasik manuel PRP protokolünde; iki adımlı bir santrifüj prosedürü kullanılır.^{25, 26} Birinci adımda; tam kan antikoagülanlarla toplanır ve düşük devirde (softspin) ve kısa süreliğine santrifüjlenir. Üç katman elde edilir: kırmızı kan hücreleri (RBC), 'buffy coat'(BC) tabakası ve trombosit açısından zayıf plazma (PPP). BC tipik olarak beyazımsı renkte olup trombositlerin ve lökositlerin büyük kısmını içerir. İkinci adımda: PRP'nin üretimi için, PPP ve yüzeysel BC, başka bir tüpe aktarılır. Yüksek devirde (Hardspin) ve uzun süreli santrifüjden sonra PPP tabakasının çoğu atılır. Böylece PRP elde edilir. Trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu için içerisine kalsiyum klorid (CaCl₂) ve/veya trombin eklenir. Antikoagülan ile muamele edilen PRP 8 saat boyunca stabil kalabilmektedir.¹⁷ Bu süre zarfında ilgili bölgeye uygulanmalıdır. Trombositlerin a-granüllerinde önceden sentezlenmiş depo halde bulunan büyüme faktörlerinin %95 i bir saat içinde salgılanmakta olup, uygulanan bölgedeki etkinliği 7 gün sürmektedir.²⁷ Bu yüzden hızlı bir şekilde kullanılması önerilmektedir.

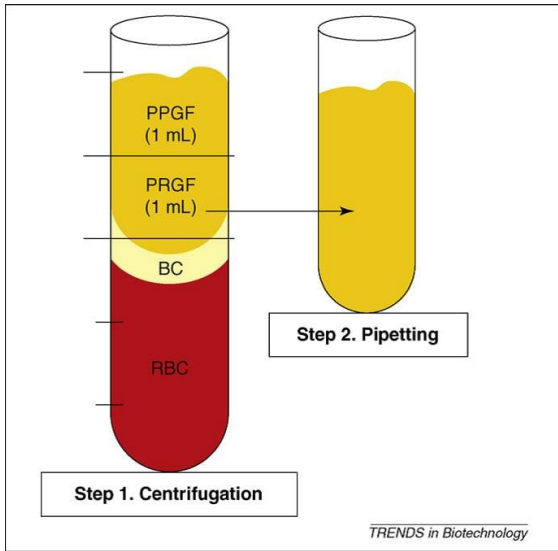
Günümüzde ise sitrat, trombosit membran bütünlüğünü koruduğu için oral ve maksillofasiyal uygulamalar için PRP hazırlamada uygun olan antikoagülandır.¹⁷ Diğer antikoagülanların kullanımı önerilmemektedir.

Diş hekimliğinde PRP kullanılan klinik uygulamalar şunlardır:²⁸

- sinüs lifting prosedürleri
- alveol kemiği augmentasyonları
- soket koruma
- alveoler yarığa greft uygulamalarında
- oral/nazal fistül tedavilerinde
- kemik içi defektlerde
- çene rekonstrüksiyonunda yumuşak doku operasyonlarında (subepitelyal greft gibi)

Birinci kuşak trombosit konsantrasyonlarından diğeri olan PRGF, 1999 yılında Anitua tarafından tanımlanmıştır.²⁹ Bu

protokolde, venöz kan toplanır ve eritrositler, buffy coat ve asellular plazma olmak üzere üç tipik tabakayı elde etmek için birkaç küçük tüpte santrifüjlenir. Asellüler plazmanın üst kısmı büyüme faktörlerinden zayıf plazma (PPGF) olarak adlandırılır ve türbülans oluşumunu önlemek için dikkatli bir şekilde pipet yardımıyla her tüpten atılır. Geriye kalan plazma PRGF olarak adlandırılır ve göz kararı bir ölçüm yapılarak pipetle toplanır (Şekil-2). Daha sonra fibrin polimerizasyonu bir kalsiyum klorür çözeltisi ile indüklenir. 15 ila 20 dakika sonra, hemen kullanılması gereken kararsız bir PRGF jel oluşur.



Resim-2. Anitua'nın PRGF'si için sıkça tanımlanan protokol. Adım 1: sıratlı kan (5 mL'lik tüplerde) düşük devirde (softspine) santrifüjlenir (460 g'de 8 dakika) ve üç tabakaya ayrılır: RBC, BC ve asellular plazma. Asellular plazma, ampirik olarak iki katmana ayrılır; büyüme faktörlerinde zayıf plazma (PPGF) ve büyüme faktörleri bakımından zengin plazma içerir (PRGF). Adım 2: PPGF tabakası (1 ml) atılır ve dikkatli bir şekilde pipetleme yapılarak BC'nin hemen üzerindeki PRGF toplanır. Tüm numune tüplerinden PRGF bir tüpe toplanır ve pıhtılaşma için kalsiyum klorür eklenir.

PRP ve PRGF'nin hazırlanmasında; pıhtılaşma faktörlerine ek olarak sığır trombini veya $CaCl_2$ ilavesinin gerekmesi, trombosit konsantrasyonunu lökosit içermeksizin arttırmak için (bazen 1 saat gerektiren) iki ayrı aşamada santrifüj edilmesi gibi faktörler bu konsantrasyonun kullanımını sınırlamaktadır. PRP sıvı formu sebebiyle, diğer biyomateryallerle kombine edilerek kullanılması gerekmektedir. Bu durumun, klinik uygulama aşamalarını uzatması, PRP'nin daha az tercih edilme sebeplerinden

biri olarak bildirilmiştir. PRP, kemiğin rejeneratif tedavilerinde kullanıldığında, büyüme faktörlerini çok kısa bir sürede salınmasına bağlı olarak klinik etkinliğinin sınırlandığı bildirilmiştir.^{30, 31} Bütün bu kısıtlamalar %100 otolog kaynaklardan üretilen PRF olarak adlandırılan ikinci nesil trombosit konsantrasyonunun ortaya çıkmasına yol açmıştır.³²

İkinci kuşak trombosit konsantrasyonları

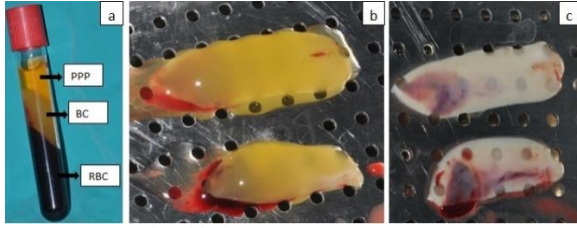
PRP ve PRGF formülasyonlarının tutarsız sonuçları ve hazırlanma aşamalarındaki zorluklarından dolayı, 2001 yılında Choukroun ve ark. tarafından ikinci kuşak trombosit konsantrasyonu olan 'trombositten zengin fibrin' (PRF) tanımlanmıştır.^{1, 12, 33, 34} PRF'in elde edilmesi kolay olup klinik kullanımı basittir. Herhangi bir ilave katkı maddesi (antikoagülan, sığır trombini veya kalsiyum klorür) kullanımını gerektirmemektedir. Yalnızca venöz kanın santrifüjünden sonra elde edilmektedir (Tablo-1).³⁵

Tablo-1. Trombosit konsantrasyonlarının özellikleri.

	1. Jenerasyon		2. Jenerasyon
	PRP	PRGF	PRF
İşlem			
Santrifüj	2x + Pipetleme	1x + Pipetleme	1x
Katkı	var	var	yok
Süre	30-45 dk	20-25 dk	10-12 dk
İşlem Kolaylığı	-	-	+
Hüresel İçerik			
Hacim	-	+/-	+
Trombosit	orta	düşük	yüksek
Lökosit	yok	yok	var
Fibrin			
Yoğunluk	zayıf	zayıf	güçlü
Polimerizasyon	hızlı	hızlı	yavaş

Tam kan, antikoagülanlar olmadan yüksek devirde (2700-3000 rpm de 10-12dk) santrifüj edilerek üç tabaka elde edilir: tüpün altında RBC'ler, üstte PPP ve ara tabakada "buffy coat" (PRF pıhtısı) elde edilir (şekil-3a). Elde edilen PRF pıhtı dikkatli bir şekilde

sıkıştırıldıktan sonra membran olarak da kullanılabilir (şekil-3b, 3c).



Resim-3. PRF pıhtı eldesi.

PRP 7 gün boyunca bir dizi büyüme faktörünün salınımını sağlamakta ve uygulamanın ilk gününde bu salınım pik seviyede seyretmektedir. PRF’de ise 7 gün içinde zirveye çıkan 21 günlük bir süre boyunca büyüme faktörlerin sürekli salınımı gözlenmekte ve böylece çoğalma, farklılaşma ve periodontal rejenerasyondan sorumlu hücrelerin migrasyonunu sağlamaktadır.³⁶

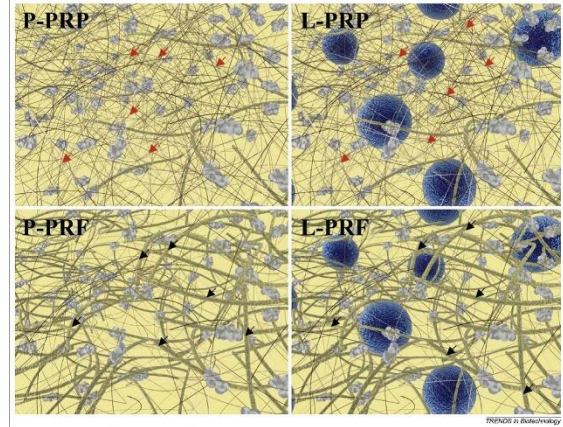
2009 yılında Verma ve ark. tarafından trombosit konsantreleri, lökosit ve fibrin içeriğine göre dört kategoriye ayrılmıştır: P-PRP (lökositler olmaksızın PRGF'yi içeren saf PRP), L-PRP (lökositler ile birlikte PRP), P-PRF ve L-PRF (5) (tablo-2).²⁴

Tablo-2. Trombosit konsantrasyonlarının lökosit ve fibrin içeriğine göre ayrılması

TROMBOSİT KONSANTRASYONUNUN FARKLI TİPLERİ	
1. Saf-PRP (P-PRP) veya Lökosit içermeyen PRP	* Lökositleri içermeyen ve aktivasyondan sonra düşük yoğunlukta fibrin ağ oluşumu gözlenir * Sıvı solüsyon veya aktive edilmiş jel formunda kullanılabilir
2. Saf-PRP (P-PRP) veya Lökosit içermeyen PRP	* Lökositleri içermeyen ve aktivasyondan sonra yüksek yoğunlukta fibrin ağ oluşumu gözlenir * Güçlü aktive edilmiş jel formu * Geleneksel fibrin yapıştırıcılar gibi enjekte edilemez
3. Lökosit ve Trombosit zengin plazma (L-PRF)	* Aktivasyondan sonra düşük yoğunlukta fibrin ağ oluşumu ve lökosit içeriği gözlenir * Sıvı solüsyon veya aktive edilmiş jel formunda kullanılabilir
4. Lökosit ve Trombosit zengin plazma (L-PRF)	* Aktivasyondan sonra yüksek yoğunlukta fibrin ağ oluşumu ve lökosit içeriği gözlenir * Güçlü aktive edilmiş jel formu * Geleneksel fibrin yapıştırıcılar gibi enjekte edilemez

L-PRP ve P-PRP trombosit konsantrasyonları arasındaki temel farklar, lökosit içeriği ve lökositlerin proliferasyon, farklılaşma, bağışıklık ve enfeksiyon üzerindeki potansiyel etkileri ile ilgilidir. Farklı protokollerdeki büyük değişkenlikler nedeniyle, elde edilen konsantrasyonun lökosit içeriği anahtar bir parametre

olarak analiz edilmemiştir. Bu nedenle, P-PRP ve L-PRP preparatları arasındaki farklar henüz tam olarak belgelenmemiştir.²⁴ Yine L-PRF’in P-PRF’den farkı, santrifüj sırasındaki farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Şekil-4’te ise bu dört trombosit konsantrasyonunun matris ve hücre mimarisi şematize edilmiştir.³⁷



Resim-4. P-PRP, P-PRF, L-PRP ve L-PRF’in matris ve hücre mimarisi şematize olarak gösterimi.

Şekil-4 ele alındığında iki anahtar parametrenin önemli olduğu görülmektedir: lökosit içeriği (mavi daireler) ve fibrin yoğunluğu (sarı/açık kahverengi lifler). Trombosit kümelenmeleri (açık-gri şekiller), daima fibrin lifler üzerinde oluşmaktadır. Tipik P-PRP ve L-PRP preparatlarında, fibrin ağı olgunlaşmamıştır ve bu esasen fibrinin küçük çaplı (kırmızı oklar) basit fiber polimerizasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu fibrin ağı, ameliyat sırasında trombosit uygulamasını desteklemekle birlikte fibrin yapıştırıcı gibi çabucak rezorbe olmaktadır. P-PRF ve L-PRF preparatlarında ise fibrin lifleri, çoklu lif birleşimi nedeniyle kalın (siyah oklar) ve bir fibrin biyomateryali olarak düşünüldüğünde dirençli bir matris oluşturmaktadır.

Buffy coat veya L-PRF kök ve progenitör hücrelerin farklılaşması ve proliferasyonu için lokal ortamı uyaran bir biyoaktif yapıdır.³² Bu yapı, 7-14 günlük bir süre boyunca büyüme faktörlerinin yavaş yavaş salınması da dahil olmak üzere enflamasyonu kontrol etme yeteneği olan bağışıklık düzenleyici bir immün düğüm görevi görmektedir.³⁸ Dikkatli bir sıkıştırma ile yaklaşık 1 mm kalınlıkta bir

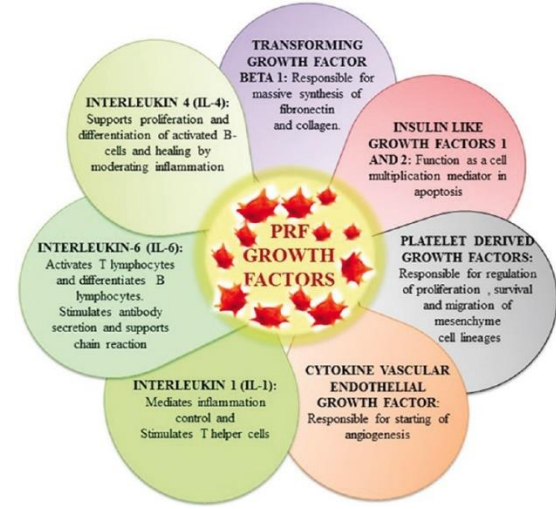
membran haline dönüşebilmektedir.³⁹ Güçlü fibrin mimarisi ve üstün mekanik özellikleri diğer trombosit konsantrasyonlarından farklıdır.⁴⁰ Örneğin, PRP, düşük gerilme dayanıklılığı ile ince ve yoğunlaşmamış bir fibrin ağına sahiptir ve bu yüzden, kemik defektlerinde yer koruyucu olarak daha az kullanışlıdır.⁴¹

PRF'deki güçlü fibrin ağı, trombin preparasyonu sırasındaki fizyolojik konsantrasyonlarla açıklanmaktadır. Rowe ve ark. (2007), yüksek trombin konsantrasyonunu, ince fiber yapıya sahip liflerin kuvvetli bağlantı ile oluşturduğu fiber ağına bir sonucu olduğunu bulmuşlardır.⁴² Bununla birlikte, trombin konsantrasyonu azaldığında, lif boyutu ve mekanik özellikler de artmaktadır. Biyolojik ve mekanik özelliklerin yanı sıra antimikrobiyal etkiler de tanımlanmıştır.⁴³

PRF bileşiminin biyokimyasal analizine bakıldığında, bu biyomateryalin, yavaş yavaş polimerize olan fibrin ağı içine hapsedilmiş sitokinlerin, glikan zincirlerin ve yapısal glikoproteinlerin birleşiminden oluştuğu görülmektedir. Bu biyokimyasal bileşenlerin, iyileşme süreci üzerinde sinerjik etkileri bulunmaktadır.³² PRF sadece trombosit konsantrasyonu değil aynı zamanda savunma mekanizmalarını uyarabilen bir immün düğümdür. PRF uygulamalarında; operasyon bölgesindeki inflamatuvar regülasyonun, fibrin ağı içinde bulunan ve başlangıç matrisinin remodasyonu sırasında serbest bırakılan sitokinlerin geri bildirim ile yaptığı etkilerin bir sonucu olduğu bildirilmiştir.⁴⁰ PRF'teki fibrin matrisin anjiyogenezi yönlendirici etkisi olup immünitete doğal bir destek sağlamaktadır. Ayrıca epitel hücrelerinin ve fibroblastların metabolizmalarını etkileyerek, bunların yara bölgesine göçünü kolaylaştırmaktadır.⁴⁴

PRP ve PRF'in içerdiği büyüme faktörü miktarı benzer olmasına rağmen, PRF'de görülen daha fazla kemik rejenerasyonu; PRF'teki büyüme faktörlerinin daha yavaş

salınımı ile açıklanmıştır.⁴⁵ PRF'de doku rejenerasyonu ve yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörleri ve sitokinler şekil-5'te gösterilmiştir.³⁷



Resim-5. PRF'te bulunan büyüme faktörleri ve sitokinler

2014 yılında, PRF'nin geliştiricisi olan Choukroun tarafından, daha fazla sayıda beyaz kan hücresi içeren gelişmiş bir PRF formu olan A-PRF tanımlanmıştır.⁴⁶ Düşük hızlı santrifüjden dolayı bu fibrin pıhtı, orijinal PRF'den daha yumuşak olmasıyla ayrılmaktadır.

Titanyum ile hazırlanan trombosit zengin fibrin (T-PRF), Tunali ve arkadaşları tarafından geliştirilmiş yeni bir trombosit konsantrasyonu olup trombositleri daha aktif hale getirebilmek amacıyla Choukroun yönteminde kullanılan cam veya cam kaplı plastik tüplerin neden olduğu olumsuz etkilerin titanyum tüpler kullanılarak önlenmesi amaçlanmıştır.⁴⁷ T-PRF, PRF ile kıyaslandığında, trombosit agregasyonu açısından benzer bulunmuş, ancak T-PRF'de oluşan fibrin örtününün, PRF'de oluşan fibrin örtüden daha sağlam bir ağ yapısına ve daha uzun in-vivo çözünürlük süresine sahip olduğu görülmüş.^{47, 48} Bu özellikler T-PRF'ye yumuşak doku kalınlığını arttırmada önemli bir rol vermekte, dişeti ve peri-implant mukozal çekilmelerin tedavisinde bağ dokusu greftlerine otojen alternatif olarak önerilmektedir.⁴⁸

Literatüre bakıldığında, T-PRF ile ilgili çalışmaların sınırlı sayıda olduğu görülmektedir. Kronik periodontitisin cerrahi tedavisinde T-PRF membranının kullanıldığı split-mouth çalışmada; T-PRF grubunda kontrol grubuna kıyasla, yaklaşık 4 ila 6 hafta boyunca dişeti oluşu sıvısında daha yüksek konsantrasyonlarda büyüme faktörleri, daha düşük RANKL / OPG oranı ve daha iyi periodontal iyileşme sağladığı görülmüştür.⁴⁹ Kronik periodontitisli hastaların kemik-içi defektlerinde allogreft ile birlikte T-PRF'nin kullanıldığı çalışmada ise dişeti oluşu sıvısındaki anjiyojenik biyobelirteçler üzerinde anlamlı bir etkisi bulunamamıştır.⁵⁰ Yine T-PRF'in tavşan kemiği modelindeki histolojik ve histomorfometrik etkilerini değerlendiren çalışmada; T-PRF'in bir kemik greft materyali olarak kullanılabilmesi ve tek başına kullanıldığında daha kısa sürede daha fazla yeni kemik formasyonu oluşturduğu görülmüştür.⁵¹ T-PRF protokolü, geleneksel PRF protokolüne benzer şekilde olup kan örneği 10 ml'lik titanyum tüplerde antikoagülan olmadan toplanır ve bunlar 2800 rpm'de 12 dakika süreyle santrifüjlenerek elde edilir.⁴⁷

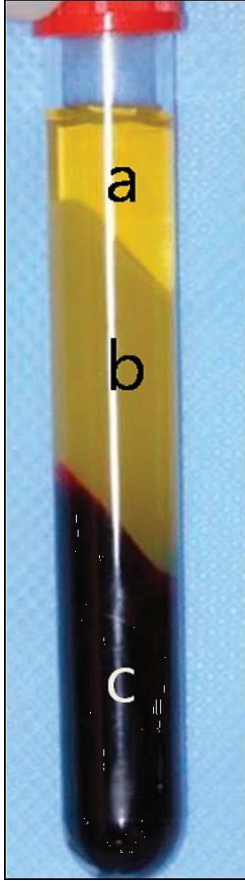
2015 yılında Mauro ve arkadaşları 9 ml venöz kanı antikoagülan içermeyen tüplerde 3300 rpm de 2 dakika yatay santrifüje (B-40, RDE®, Brezilya) ederek farklı bir trombosit konsantrasyonu olan 'Enjekte edilebilir Trombositten Zengin Fibrin' (i-PRF) elde etmişlerdir.⁵² Miron ve arkadaşları ise i-PRF, 10 ml tam kanı antikoagülan içermeyen tüplerde 700 rpm'de 3 dakika (60 x g) oda sıcaklığında bir Duo Santrifüj (PRF eldesi için kullanılan bir cihaz, Nice, Fransa) ile prepare ederek elde etmişlerdir.⁵³ i-PRF sadece beyaz hücreleri ve trombositleri değil, aynı zamanda kök hücrelerini ve endotel hücrelerini de içerdiğine inanılmaktadır. Bu nedenle, sadece bir trombosit konsantresi değil, "kan konsantresi" olarak kabul edilmektedir.^{53, 54}

Literatürde trombosit konsantrasyonlarının antimikrobiyal etkinliğini değerlendiren çalışmalar da mevcuttur. Bir çalışmada, kronik periodontitis ile yakın ilişkili olan Porphyromonas gingivalis ve Aggregatibacter actinomycetemcomitans'ın trombosit konsantrasyonu tarafından inhibe edildiği görülmüştür.⁵⁵ PRP, PRF ve i-PRF'in antimikrobiyal etkilerinin değerlendirildiği bir in-vitro çalışmada, i-PRF'in antimikrobiyal gücünün diğer trombosit konsantrasyonlarına göre daha yüksek düzeyde olduğu görülmüştür.⁵⁶

Diş hekimliğinde PRF kullanılan klinik uygulamalar şunlardır:

- sinüs lifting prosedürleri⁵⁷
- soket koruma⁵⁸
- PRF membrane; lokalize ve multiple dişeti çekilmelerinde, koronale veya laterale pozisyone flep ile birlikte çekilmenin kapatılmasında kullanılır.^{59, 60}
- Kistik kavite deldürülmesinde⁶¹
- Kombine perio-endo lezyonlarda, furkasyon defektleri, kemik içi defektlerde^{62, 63}
- Sekonder yara iyileşmesinde⁴⁸

İkinci nesil trombosit konsantrasyonlarından bir diğeri olan konsantrasyon büyüme faktörü (CGF), ilk olarak 2006 yılında Sacco tarafından geliştirilmiştir.⁶⁴ CGF, venöz kanın santrifüjüyle üretilmektedir ve trombositler, PRF'de olduğu gibi aynı fibrin matrisi içeren bir jel tabakasında konsantrasyon edilmektedir.⁶⁵ CGF, kan numunelerinin, özel bir santrifüj cihazında (Medifuge, Silfradent, İtalya) dönüşümlü ve kontrollü hızlarda (2700 rpm de 2 dakika, 2400 rpm de 4 dakika, 2700 rpm de 4 dakika, 3000 rpm de 3 dakikalık) santrifüj edilmesiyle elde edilmektedir.⁶⁶ Farklı santrifüj hızları, bol miktarda büyüme faktörleri ile çok daha büyük ve yoğun fibrin matrisinin izolasyonuna izin vermektedir. Şekil-6'da CGF'santrifüj sonrası ayrıldığı 3 tabaka gösterilmiştir.⁶⁷



Resim-6. Hazırlanan CGF; santrifülden sonra kan üç katmana ayrılır. a) Trombositten zayıf plazma tabakası (fibrinojen ve koagülan faktörler olmadan kan plazması). b) Fibrin buffy coat katmanı (CGF) (üst kısımda; büyüme faktörleri, beyaz kan hücreleri, alt kısımda; kök hücreleri içeren) c) Kırmızı kan hücresi tabakası (kırmızı ve beyaz kan hücreleri, trombositler ve pıhtılaşma faktörleri içeren).

CGF farklı hızlardaki santrifüj sistemiyle, PRF'ye kıyasla büyüme faktörleri açısından daha geniş ve daha yoğun bir fibrin matrisinin izolasyonuna sahiptir.⁶⁵ Bu nedenle, CGF'nin rejeneratif potansiyel ve klinik manipülasyon için daha iyi özelliklere sahip olması beklenebilir.⁶⁸ CGF ve PRF hemen hemen aynı bileşenleri içerir; ancak CGF'nin sahip olduğu yüksek gerilme dayanıklılığı ve viskozite, büyüme faktörlerini proteolizden daha iyi korumaktadır.⁶⁹ Böylece, CGF'deki büyüme faktörü salınım süresi uzamaktadır. Dohan ve ark., PRF'nin büyüme faktörlerinin en az bir hafta boyunca salınımının devam edebileceğini belirtmişlerdir.³⁴ Qin ve ark. CGF'nin TGF- β 1'i uzun süre (en az 13 gün) salınımını gerçekleştirdiğini göstermişlerdir.³² Ayrıca, CGF hazırlama işlemi sırasında diferansiyel santrifüj basamaklarında, trombositlerdeki

sürekli çarpışma ve rüptürasyon, büyüme faktörlerinin salınımını da arttırmaktadır.³⁸ Teorik olarak, CGF entegre bir büyüme faktörü rezervuarına sahip güçlü bir biyo-iskeleye dönüşmektedir.

CGF de tıpkı PRF gibi otojen kaynaklı olduğundan herhangi bir immünolojik reaksiyona ve enfeksiyona yol açmaz ve hazırlanması esnasında ilave kimyasal bir maddeye ihtiyaç duyulmaz. PRF trombositlerden salınan sinyal molekülleriyle kandan doku yaralanması olan bölgeye toplanan mezenkimal hücreler için destekleyici bir matriks sağlamaktadır. Dolaşımda bulunan mezenkimal hücrelerden olan CD34 pozitif hücreleri, vaskülarizasyon ve anjiyogenez üzerinde önemli rol oynamaktadır. CGF'deki CD34 pozitif hücre varlığının araştırıldığı çalışmada, hem CGF ve hemde RBC tabakalarında CD34 pozitif hücrelerinin varlığı tespit edilmiş ve CGF tabakasında daha yüksek sayıda bulunmuştur.⁶⁵ CGF'teki yüksek rejenerasyon kapasitesi, vaskülarizasyon ve anjiyogenez açısından terapötik potansiyele sahip olan CD34 pozitif hücre varlığı ilişkilendirilmektedir.^{64, 70} Kemik defektlerinin rekonstrüksiyonununun CGF, PRP ve PRF kullanılarak değerlendirildiği hayvan çalışmasında, osteojenik potansiyelleri bakımından karşılaştırılmış fakat aralarında istatistiksel açıdan fark bulunmamıştır.⁶⁹ CGF sinüs augmentasyonunda kullanıldığında osteogenezisi hızlandırıcı potansiyel göstermiştir.⁶⁴

2010 yılında Sohn ve arkadaşları, 20-60cc venöz kanı özel bir santrifüj cihazında (MEDIFUGE, Silfradent, Sofia, Italy) 2400-2700 rpm de 2 dakika santrifüje ederek enjekte edilebilir bir trombosit konsantrasyonu olan 'Otolog Fibrin Glue' (AFG) elde etmişler ve bunu kemik greftleriyle karıştırarak greftin defektlerde daha stabil kalmasını sağlayan 'Sticky Bone' kavramını geliştirmişlerdir.⁷¹

Diş hekimliğinde CGF kullanılan klinik uygulamalar şunlardır:

- sinüs lifting prosedürleri^{64, 67}
- alveolar sırt augmentasyonu^{72, 73}
- kemik içi defektler⁷⁴
- furkasyon defektleri⁷⁵
- dişeti çekilmeleri⁷⁶
- kist kavitelesinin doldurulmasında⁷⁷
- sinir paretezilerinin tedavisinde⁷⁸
- alveol socketin korunmasında⁷⁹
- tme tedavisinde⁸⁰

SONUÇ

Trombosit konsantrasyonları rejeneratif tedavilerin potansiyel ürünleri olarak günümüze kadar sıklıkla kullanılmıştır. Trombosit konsantrasyonlarına olan yüksek ilgi, rejenerasyon kapasitesini artıran yeni ürünlerin keşfine ortam hazırlamıştır. PRP, PRGF, PRF türleri (A-PRF, T-PRF, i-PRF) ve CGF'e bakıldığında her ürün kendinden önceki konsantrenin noksanlıklarını giderip daha gelişmiş formunun elde edilmesi amacıyla keşfedilmiştir. Bu ürünlerden özellikle A-PRF, T-PRF, i-PRF, AFG ve CGF ile ilgili literatürde yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. Bu konsantrelerin rejeneratif potansiyelinin tespiti için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

REFERANSLAR

1. Koçyiğit İD, Tunalı M, Özdemir H, Kartal Y, Süer BT. İkinci nesil trombosit konsantrasyonunun klinik uygulamaları. *Cumhuriyet Dental Journal* 2012;15(3):279-87.
2. Wachowicz B, Morel A, Miller E, Saluk J. The physiology of blood platelets and changes of their biological activities in multiple sclerosis. *Acta Neurobiol Exp* 2016;76:269-81.
3. TOKER H, ALPAN AL, HOCAOĞLU TP. Management of Mandibular Osteomyelitis Combined with Platelet Rich Fibrin (PRF) and Ozone. *Cumhuriyet Dental Journal* 2016;19(3):189-96.
4. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in

combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. *Journal of periodontology* 2009;80(2):244-52.

5. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, Van Dyke TE. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *Journal of periodontology* 2007;78(4):661-69.

6. Ghasemzadeh M, Hosseini E. Platelet-leukocyte crosstalk: Linking proinflammatory responses to procoagulant state. *Thrombosis research* 2013;131(3):191-97.

7. 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(6):1502-08.

8. Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery. *Plast Reconstr Surg* 2006;118(6):147e-59e.

9. Pierce GF, Mustoe TA, Altrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem* 1991;45(4):319-26.

10. Qiao J, An N, Ouyang X. Quantification of growth factors in different platelet concentrates. *Platelets* 2017:1-5.

11. Abel ME, Chiu YS, Russell TR, Volpe PA. Autologous fibrin glue in the treatment of rectovaginal and complex fistulas. *Dis Colon Rectum* 1993;36(5):447-49.

12. 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 Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 2006;101(3):e37-e44.

13. Matras H, Dinges HP, Lassmann H, Mamoli B. [Suture-free interfascicular nerve

transplantation in animal experiments]. *Wien Med Wochenschr* 1972;122(37):517-23.

14.Matras H, Dinges H, Mamoli B, Lassmann H. Non-sutured nerve transplantation: a report on animal experiments. *J Maxillofac Surg* 1973;1:37-40.

15.Gibble J, Ness P. Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion (Paris)* 1990;30(8):741-47.

16.Ferrari M, Zia S, Valbonesi M, Henriquet F, Venere G, Spagnolo S, Grasso MA, Panzani I. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. *Int J Artif Organs* 1987;10(1):47-50.

17.Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 1998;85(6):638-46.

18.Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen JA, Creugers NH. Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clin Oral Implants Res* 2008;19(6):539-45.

19.Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg* 2005;16(6):1043-54.

20.Pallua N, Wolter T, Markowicz M. Platelet-rich plasma in burns. *Burns* 2010;36(1):4-8.

21.Simon D, Manuel S, Geetha V, Naik BR. Potential for osseous regeneration of platelet-rich plasma--a comparative study in mandibular third molar sockets. *Indian J Dent Res* 2004;15(4):133-6.

22.Everts PA, Brown Mahoney C, Hoffmann JJ, Schönberger JP, Box HA, Van Zundert A, Knape JT. Platelet-rich plasma preparation using three devices: implications for platelet activation and platelet growth factor release. *Growth factors* 2006;24(3):165-71.

23.Jo CH, Roh YH, Kim JE, Shin S, Yoon KS. Optimizing platelet-rich plasma gel formation by varying time and gravitational forces during centrifugation. *Journal of Oral Implantology* 2013;39(5):525-32.

24.Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T. 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):158-67.

25.Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler W, Wagner W. Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point-of-care platelet-enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clin Oral Implants Res* 2003;14(3):357-62.

26.Weibrich G, Kleis WK, Buch R, Hitzler WE, Hafner G. The Harvest Smart PRePTM system versus the Friadent-Schütze platelet-rich plasma kit. *Clin Oral Implants Res* 2003;14(2):233-39.

27.Choi B-H, Zhu S-J, Kim B-Y, Huh J-Y, Lee S-H, Jung J-H. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2005;34(4):420-24.

28.Arora NS, Ramanayake T, Ren Y-F, Romanos GE. Platelet-rich plasma: a literature review. *Implant Dent* 2009;18(4):303-10.

29.Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(4):529-35.

30.Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, Miron RJ. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig* 2016;20(9):2353-60.

31.Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and

maxillofacial surgeons. *Annals of maxillofacial surgery* 2011;1(1):53.

32.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(3):e45-50.

33.Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A. Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie* 2001;42(55):e62.

34.Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J* 2014;4(1):3-9.

35.Castro AB, Meschi N, Temmerman A, Pinto N, Lambrechts P, Teughels W, Quirynen M. Regenerative potential of leucocyte- and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol* 2017;44(1):67-82.

36.Carroll R, Arnoczky S, Graham S, O'Connell S. Characterization of autologous growth factors in Cascade platelet rich fibrin matrix (PRFM). Edison, NJ: Musculoskeletal Transplant Foundation 2005.

37.Verma UP, Yadav RK, Dixit M, Gupta A. Platelet-rich Fibrin: A Paradigm in Periodontal Therapy - A Systematic Review. *J Int Soc Prev Community Dent* 2017;7(5):227-33.

38.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(3):e51-5.

39.Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol* 2010;81(4):546-55.

40.Khorshidi H, Raofi S, Bagheri R, Banihashemi H. Comparison of the mechanical properties of early leukocyte-and platelet-rich fibrin versus PRGF/endoret membranes. *International journal of dentistry* 2016;2016.

41.Burnouf T, Goubran HA, Chen T-M, Ou K-L, El-Ekiaby M, Radosevic M. Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine. *Blood Rev* 2013;27(2):77-89.

42.Rowe SL, Lee S, Stegemann JP. Influence of thrombin concentration on the mechanical and morphological properties of cell-seeded fibrin hydrogels. *Acta biomaterialia* 2007;3(1):59-67.

43.Yang L-C, Hu S-W, Yan M, Yang J-J, Tsou S-H, Lin Y-Y. Antimicrobial activity of platelet-rich plasma and other plasma preparations against periodontal pathogens. *Journal of periodontology* 2015;86(2):310-18.

44.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(3):e56-60.

45.He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontics* 2009;108(5):707-13.

46.Choukroun J. Advanced PRF, &i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates. *J Periodont Med Clin Practice* 2014;1:3.

- 47.**Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2013;51(5):438-43.
- 48.**Ustaoğlu G, Ercan E, Tunalı M. The role of titanium-prepared platelet-rich fibrin in palatal mucosal wound healing and histoconduction. *Acta Odontologica Scandinavica* 2016;74(7):558-64.
- 49.**Arabacı T, Albayrak M. Titanium-Prepared platelet rich fibrin provides advantages on periodontal healing: A randomized split mouth clinical study. *Journal of periodontology* 2018.
- 50.**Pirebas H, Hendek M, Kisa U, Yalim M, Erdemir E. Effect of titanium-prepared platelet-rich fibrin treatment on the angiogenic biomarkers in gingival crevicular fluid in infrabony defects of patients with chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial. *Niger J Clin Pract* 2018;21(1):69-75.
- 51.**Tunalı M, Ozdemir H, Kucukodacı Z, Ezirganlı S, Baris E, Akman S, Atay A, Firatlı E. A novel platelet concentrate for guided bone regeneration: Titanium Prepared Platelet-Rich Fibrin (T-PRF). *Gulhane Med J* 2015;57:102-6.
- 52.**Mourão CFdAB, Valiense H, Melo ER, Mourão NBMF, Maia MD-C. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões* 2015;42(6):421-23.
- 53.**Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, Choukroun J. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clin Oral Investig* 2017;21(8):2619-27.
- 54.**Choukroun J. Advanced PRF, & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates. *J Periodontal Med Clin Pract* 2014;1(1):3.
- 55.**Badade PS, Mahale SA, Panjwani AA, Vaidya PD, Warang AD. Antimicrobial effect of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin. *Indian J Dent Res* 2016;27(3):300.
- 56.**Karde PA, Sethi KS, Mahale SA, Khedkar SU, Patil AG, Joshi CP. Comparative evaluation of platelet count and antimicrobial efficacy of injectable platelet-rich fibrin with other platelet concentrates: An in vitro study. *J Indian Soc Periodontol* 2017;21(2):97.
- 57.**Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I. Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2013;28(1).
- 58.**Hauser F, Gaydarov N, Badoud I, Vazquez L, Bernard J-P, Ammann P. Clinical and histological evaluation of postextraction platelet-rich fibrin socket filling: a prospective randomized controlled study. *Implant Dent* 2013;22(3):295-303.
- 59.**Aleksić Z, Janković S, Dimitrijević B, Divnić-Resnik T, Milinković I, Leković V. The use of platelet-rich fibrin membrane in gingival recession treatment. *Srp Arh Celok Lek* 2010;138(1-2):11-18.
- 60.**Rajaram V, Thyegarajan R, Ashwath Balachandran GA, Kanakamedala A. Platelet Rich Fibrin in double lateral sliding bridge flap procedure for gingival recession coverage: An original study. *J Indian Soc Periodontol* 2015;19(6):665.
- 61.**Meshram VS, Lambade PN, Meshram PV, Kadu A, Tiwari MS. The autologous platelet rich fibrin: A novel approach in osseous regeneration after cystic enucleation: A pilot study. *Indian J Dent Res* 2015;26(6):560.
- 62.**Agarwal A, Gupta ND, Jain A. Platelet rich fibrin combined with decalcified freeze-dried bone allograft for the treatment of human intrabony periodontal defects: a randomized split mouth clinical trail. *Acta Odontologica Scandinavica* 2016;74(1):36-43.

- 63.**Sharma A, Pradeep AR. Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized clinical trial. *Journal of periodontology* 2011;82(10):1396-403.
- 64.**Sohn D-S, Heo J-U, Kwak D-H, Kim D-E, Kim J-M, Moon J-W, Lee J-H, Park I-S. Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant Dent* 2011;20(5):389-95.
- 65.**Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, Sacco L, Batani T, Rezzani R. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech* 2011;74(8):772-77.
- 66.**Yu B, Wang Z. Effect of concentrated growth factors on beagle periodontal ligament stem cells in vitro. *Mol Med Report* 2014;9(1):235-42.
- 67.**Kim J-M, Sohn D-S, Bae M-S, Moon J-W, Lee J-H, Park I-S. Flapless transcresal sinus augmentation using hydrodynamic piezoelectric internal sinus elevation with autologous concentrated growth factors alone. *Implant Dent* 2014;23(2):168-74.
- 68.**Chen Y, Cai Z, Zheng D, Lin P, Cai Y, Hong S, Lai Y, Wu D. Inlay osteotome sinus floor elevation with concentrated growth factor application and simultaneous short implant placement in severely atrophic maxilla. *Scientific reports* 2016;6:27348.
- 69.**Kim T-H, Kim S-H, Sándor GK, Kim Y-D. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives of oral biology* 2014;59(5):550-58.
- 70.**Sohn D, Moon J, Moon Y, Park J, Jung H. The use of concentrated growth factors (CGF) for sinus augmentation. *J Oral Implant* 2009;38(1):25-38.
- 71.**Sohn D. Lecture titled with sinus and ridge augmentation with CGF and AFG. Paper presented at: Symposium on CGF and AFG Tokyo, 2010.
- 72.**Yang LM, Liu ZZ, Chen SP, Xie C, Wu B. The Study of the Effect of Concentrated Growth Factors (CGF) on the New Bone Regeneration of Immediate Implant. Paper presented at: Advanced Materials Research, 2015.
- 73.**Wen Yong JT, Cong Zhou, Qingjie Lin, Xu Xin. Effectiveness evaluation of the concentrated growth factor (CGF) in alveolar ridge preservation after tooth extraction. *Clin Oral Implants Res* 2016;27:13.
- 74.**Qiao J, Duan J, Zhang Y, Chu Y, Sun C. The effect of concentrated growth factors in the treatment of periodontal intrabony defects. *Future Sci OA* 2016;2(4):Fs136.
- 75.**Qiao J, Duan J, Chu Y, Sun C. Effect of concentrated growth factors on the treatment of degree II furcation involvements of mandibular molars. *Beijing da xue xue bao Yi xue ban= Journal of Peking University Health sciences* 2017;49(1):36.
- 76.**Bozkurt Doğan Ş, Öngöz Dede F, Ballı U, Atalay EN, Durmuşlar MC. Concentrated growth factor in the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *J Clin Periodontol* 2015;42(9):868-75.
- 77.**Shyu S-S, Fu E, Shen E-C. Clinical and Microcomputed Topography Evaluation of the Concentrated Growth Factors as a Sole Material in a Cystic Bony Defect in Alveolar Bone Followed by Dental Implantation: A Case Report. *Implant Dent* 2016;25(5):707-14.
- 78.**Veis A, Barlas I, Georgakopoulos I, Poutachidis I, Barlas S. Treatment of paresthesia of the inferior alveolar nerve with implant removal and concentrated growth factors. a case report. *Clin Oral Implants Res* 2014;25:647.

79.Ayoub AH, Belal SM. Clinical and Radiographic Evaluation of Socket Preservation Using Autologous Concentrated Growth Factors Enriched Bone Graft Matrix (Sticky Bone): A Case Report. EC Dental Science 2016;5:1128-35.

80.Wang F, Sun Y, He D, Wang L. Effect of Concentrated Growth Factors on the Repair of the Goat Temporomandibular Joint. J Oral Maxillofac Surg 2017;75(3):498-507.

Yazışma Adresi

Mustafa Özyay USLU

Department of Periodontology,

Faculty of Dentistry,

Inonu University,

Postcode:44280, Malatya/Turkey

E-posta: mustafaozyayuslu@hotmail.com

Telefon: +90422 341 1100/6254

Fax: 0422 341 1107