

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**STANDART KEMİK DEFEKTLERİNDE YENİ NESİL TROMBOSİT  
KONSANTRASYONUNUN KEMİK OLUŞUMU ÜZERİNE ETKİSİ**

**Arş. Gör. KÜBRA TİTİRİNLİ**  
**AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI**  
**(UZMANLIK TEZİ)**

**DANIŞMAN**  
**Doç. Dr. İSMAİL DORUK KOÇYİĞİT**

**2016 – KIRIKKALE**

Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**Ağız Diş Ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı** Diş Hekimliği Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: ..... / ..... /.....

**İmza**

**Ünvanı, Adı ve Soyadı**

**Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi**

**Jüri Başkanı**

**İmza**

**Ünvanı, Adı ve Soyadı**

**K.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Üye**

**İmza**

**Ünvanı, Adı ve Soyadı**

**K.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi Üye**

**İmza**

**Ünvanı, Adı ve Soyadı**

**K.Ü Diş Hekimliği Fakültesi**

**Üye**

**İmza**

**Ünvanı, Adı ve Soyadı**

**K.Ü Diş Hekimliği Fakültesi**

**Üye**

## ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince gerek klinik çalışmalarında gerek ise bilimsel desteğini esirgemeyen tüm meslektaşlarıma ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür etmeyi bir borç bilirim.



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	I
ÖNSÖZ .....	II
İÇİNDEKİLER .....	III
KISALTMALAR .....	VIII
ŞEKİLLER .....	XI
TABLO VE ÇİZELGELER.....	XIII
ÖZET.....	1
SUMMARY .....	3
1.GİRİŞ VE AMAÇ .....	4
1.1 Kemik Yapısı .....	5
1.1.1 Periosteum .....	6
1.1.2 Endosteum .....	6
1.2 Kemik Dokusu .....	6
1.3 Kemik Dokusunun Hücresel Elemanları .....	7
1.3.1 Osteoprogenitör Hücreler .....	7
1.3.2 Osteoblastlar ve Osteositler.....	8
1.3.3 Osteoklastlar .....	9
1.4 Kemik Gelişimi.....	9
1.4.1 İntramembranöz Kemikleşme .....	10
1.4.2 Endokondral Kemikleşme .....	10
1.5 Kemik Dokusunun Özellikleri .....	11
1.6 Kemik İyileşmesi .....	12

1.6.1 Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler.....	13
1.7 Trombositten Zengin Plazma (TZP) .....	15
1.7.1 TZP'nin Kullanım Alanları.....	16
1.7.1.1. TZP'nin Ortopedi Alanında Kullanımı .....	17
1.7.1.2 TZP Rekonstrüktif Cerrahide Kullanım Alanları.....	18
1.8 Trombositten Fakir Fibrin (TFF) .....	19
1.9 Trombositten Fakir Plazma (TFP) .....	20
2 KAN HÜCRELERİ.....	21
2.1 Eritrosit .....	21
2.2 Lökosit.....	22
2.3 Trombosit.....	23
2.4 Trombosit Büyüme Faktörleri .....	25
2.4.1 Trombositten Köken Alan Büyüme Faktörü (TKABF) .....	26
2.4.2 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (İBBF) .....	26
2.4.3 Transforme Edici Büyüme Faktörü (TEBF) .....	27
2.4.4 Epidermal Büyüme Faktörü (EBF) .....	28
2.4.5 Damarsal Endotelyal Büyüme Faktörü (DEBF) .....	28
2.4.6 Fibroblast Büyüme faktörü (FBF) .....	28
2.4.7ADP (Adenozin Difosfat) ve ATP (Adenozin Trifosfat) .....	28
2.4.8 Anjiopoetin-2 .....	29
2.4.9 Faktör V, XI, XIII, Fibrinojen, Von Willebrand Faktör .....	29
2.4.10 Fibronektin .....	29
2.4.11 Osteokalsin.....	29

<b>2.4.12 Serotonin .....</b>	<b>30</b>
<b>2.4.13 Sitokinler .....</b>	<b>30</b>
<b>2.4.14 Fibrin .....</b>	<b>30</b>
<b>2.4.15 Dolaşımdaki Kök Hücreler .....</b>	<b>31</b>
<b>2.5 Trombositlerin Greft Vaskülarizasyonundaki Rolü .....</b>	<b>31</b>
<b>2.6 Trombositten Zengin Fibrin (TZF) .....</b>	<b>32</b>
<b>2.6.1 TZF'nin İçeriği .....</b>	<b>34</b>
<b>2.6.2 TZF'nin İyileşme Mekanizmasına Etkisi .....</b>	<b>34</b>
<b>2.6.3 TZF'nin Avantaj ve Dezavantajları .....</b>	<b>35</b>
<b>2.6.4 TZF'nin Hazırlanması .....</b>	<b>35</b>
<b>2.6.5 TZF'nin Kullanım Alanları .....</b>	<b>37</b>
<b>2.6.6 TZF'nin Diş Çekimi Sonrasında Kullanımı .....</b>	<b>38</b>
<b>2.6.7 TZF'nin Sinir Rejenerasyonunda Etkisi .....</b>	<b>39</b>
<b>2.6.8 TZF'nin Kist Enükleasyonu Sonrasında Kullanımı .....</b>	<b>39</b>
<b>2.6.9 TZF'nin Greft Materyali ile Kombine Olarak Kullanımı .....</b>	<b>40</b>
<b>2.6.10 TZF'nin Membran Olarak Kullanımı .....</b>	<b>40</b>
<b>2.6.11 TZF'nin Sinüs Cerrahisinde Kullanımı .....</b>	<b>41</b>
<b>2.6.12 TZF'nin Dermal Ogmentasyonda Kullanımı .....</b>	<b>41</b>
<b>2.6.13 TZF'nin Sivilce ve Skar Tedavisinde Kullanımı .....</b>	<b>42</b>
<b>2.6.14 TZF'nin Bisfosfanat İlişkili Çene Osteonekrozlarında Kullanımı .....</b>	<b>42</b>
<b>2.7 T-TZF .....</b>	<b>43</b>
<b>2.8 G-TZF .....</b>	<b>44</b>
<b>2.9 Enjektabl TZF (E-TZF) .....</b>	<b>46</b>

<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....</b>	<b>47</b>
<b>3.1 Cerrahi Yöntem.....</b>	<b>47</b>
<b>3.2 İstatistiksel Analiz .....</b>	<b>55</b>
<b>4. BULGULAR.....</b>	<b>56</b>
<b>4.1 İstatistik Sonuçları .....</b>	<b>57</b>
<b>5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....</b>	<b>70</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>83</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>101</b>

## KISALTMALAR

**ADP: Adenozin Difosfat**

**ATP: Adenozin Trifosfat**

**G-TZF: Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin**

**bFBF: Bazik Fibroblast Büyüme Faktörü**

**BRONJ: Bisfosfanat İlişkili Çene Osteonekrozu**

**BBF: Bağ doku Büyüme Faktörü**

**Cm: Santimetre**

**DEBF: Damarsal Endotelial Büyüme Faktör**

**DKKA: Dondurulmuş Kurutulmuş Kemik Allogrefti**

**EHBF: Epitelial Hücre Büyüme Faktörü**

**EBF: Epidermal Büyüme Faktörü**

**E-TZF: Enjektabl Trombositten Zengin Fibrin**

**HDM: Hücre Dışı Matriks**

**Ff: Fibrinojen**

**Fn: Fibronektin**

**G: Gram**

**Gy: Gray**

**HE: Hemotoksilen Eozin**

**HSCs: Hematopoetik Kök Hücre**

**IBBF-1: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1**

**IL: Interlökinler**

**Kg: Kilogram**



**KMP: Kemik Morfogenetik Protein**

**LO: Lokalize Osteitis**

**M-CSF: Makrofaj-Koloni Stimulan Faktör**

**Mg: Miligram**

**MI: Mililitre**

**Mm: Milimetre**

**MMP9: Matrix Metalloproteinase 9**

**M-KSF: Makrofaj-Koloni Stimulan Faktör**

**NET: Nötrofilik Ekstraselüler Tuzaklar**

**Oc: Osteokalsin**

**On: Osteonektin**

**ONG: Otojen Sinir Grefti**

**OPG: Osteoprotegerin**

**TKABF: Trombositten Köken Alan Büyüme Faktörü**

**p-ERK: Phosphorylated Extracellular Signal-Regulated Protein Kinase**

**PTH: Paratiroid Hormon**

**RANKL: Receptor Activator of Nuclear Factor-Kappa B Ligand**

**RBCs: Kırmızı Kan Hücreleri**

**Rpm: Dakikadaki Dönüş Sayısı**

**SKK: Sığır Kaynaklı Ksenogreft**

**SS: Silikon Tüp ve Salin Solüsyonu**

**TFF: Trombositten Fakir Fibrin**

**TFP: Trombositten Fakir Plazma**

**TEBF- $\beta$ : Transforme Edici Büyüme Faktör-Beta**

**TNF: Tümör Nekrotizan Faktör**

**TSP-1: Trombospondin-1**

**TZF: Trombositten Zengin Fibrin**

**TZP: Trombositten Zengin Plazma**

**Vn: Vitronektin**

**vWF: Von Willebrand Factor**

**WBCs: Beyaz Kan Hücreleri**

**YKD: Yeni Kemik Dokusu**



## ŞEKİLLER

**Şekil 1:** Santrifüj sonunda tüp içerisinde gözlenen 3 ayrı tabaka

**Şekil 2:** TZF Kutusu

**Şekil 3:** Operasyon öncesi cerrahi sahada cilt dezenfeksiyonu

**Şekil 4:** Cilt insizyonu

**Şekil 5:** İnsizyon sonrası korpüs mandibulaya ulaşılması

**Şekil 6:** Trefan frez ile monokortikal defekt oluşturulması

**Şekil 7:** Mandibula korpüsde 5 mm aralıklarla 4.5 mm çapında 2mm derinliğinde defektler oluşturulması

**Şekil 8:** Kan alınması için tavşanın kulak veninin görüntüsü

**Şekil 9:** Sağ mandibula posterior defekte TZF, sağ mandibula anterior defekte G-TZF uygulanması

**Şekil 10:** Kolajen membran uygulaması (Bioimplon GmbH Giessen, Almanya)

**Şekil 11:** TZF ve G-TZF'nin tüp içerisinde görünümü

**Şekil 12:** TZF ve G-TZF

**Şekil 13:** TZF (Grup A) uygulaması sonucu yağlı kemik iliği dokusu içeren konak kemikten itibaren genç bağ dokusunda yeni kemik yapımı (H&E, x100)

**Şekil 14:** Kontrol Grubunda (Grup C) Belirgin izlenen defekt sınırları içinde, defekti hemen hemen tamamiyle doldurmuş yeni kemik yapımı (H&E, x40)

**Şekil 15:** Kontrol Grubu (Grup C) defekti doldurmuş yeni kemik yapımı (H&E, x40)

**Şekil 16:** Kontrol Grubu (Grup C) 8 hafta sonunda oluşan yeni kemik dokusu

**Şekil 17:** TZF grubu (Grup A) Yeni kemik dokusu

**Şekil 18:** G-TZF (Grup B) Yeni kemik dokusu

**Şekil 19:** G-TZF (Grup B) Yeni kemik dokusu

**Şekil 20:** G-TZF (Grup B) Yeni kemik dokusu

**Şekil 21:** Kontrol Grubu (Grup C) Yeni kemik dokusu

**Şekil 22:** TZF grubu (Grup A) Yeni kemik dokusu



## TABLO VE ÇİZELGELER

**Tablo 1:** Trombosit Ürünlerinin İçerdiği Hücre Konsantrasyonları

**Tablo 2:** Yeni Kemik Dolumu (%) Grupların Betimleyici Özellikleri

**Tablo 3:** Gruplar Arası İnflamasyon Dağılımı

**Çizelge 1:** Yeni Kemik Dolumu (%) Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımının Grafiği

**Çizelge 2:** İnflamasyon Sınıflarının Gruplara Göre Dağılımının Grafiği (Yüzdesel)



## ÖZET

Yüksek konsantrasyon trombosit içeren ürünlerin salgıladıkları büyüme faktörleri, sitokin ve mediyatörler ile hücre aktivasyonunu sağlayarak doku rejenerasyonunu hızlandırmaktadır. İkinci nesil trombosit konsantrasyonu olan Trombositten Zengin Fibrin (TZF) kanın biyokimyasal işleme tabi olmadan elde edilen formudur. Geliştirilmiş-Trombositten Zengin Fibrin (G-TZF) fikri fibrin yapısında bulunan nötrofilik granüositlerin doku iyileşmesini hızlandırabileceği ancak granüositlerin fibrin yapı içindeki dağılımının santrifüj devrine ve hızına bağlı olarak değişebileceği hipotezinden doğmuştur. Bu çalışmanın amacı, yeni nesil trombosit konsantrasyonu olan G-TZF'nin tavşan modelinde kemik oluşumu üzerine etkisini histopatolojik olarak değerlendirmektir.

Deneysel hayvan çalışmasında 10 adet Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Mandibula korpusu açığa çıkarıldıktan sonra kemikte trefan frezler yardımı ile standart kemik defektleri oluşturuldu. Birinci grupta mandibula sağ mandibula posterior defektine TZF (2700 rpm 12 dakika), sağ mandibula anterior defektine G-TZF (1500 rpm 14 dakika), sol mandibulada oluşturulan defekte ek herhangi bir materyal yerleştirilmedi. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunu sağlamak amacı ile defekt yüzeyleri membran ile kapatıldı. Cerrahi saha primer kapatıldı. Operasyondan 2 ay sonra kemik iyileşmesini değerlendirmek için tavşanlar sakrifiye edildi. Elde edilen örnekler histopatolojik olarak değerlendirildi.

Histolojik incelemelerde gruplar arasında kemik dolumu miktarı ve kemik kalitesi açısından belirgin bir fark izlenmemiştir. Operasyondan 2 ay sonra alınan örneklerde kontrol grubunda oluşan yeni kemik dokusu miktarı ortalama %42,5 TZF kullanılan grupta %56.9, G-TZF uygulanan grupta ise %55 olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizde ise aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.  $P=0,437$  ( $p>0,05$ ) Grup A'nın (TZF) yeni kemik dolum puanı diğer gruplardan yüksek görülmektedir. Grup B'nin (G-TZF) yeni kemik dolum puanı Grup C'den (boş defekt) yüksek olduğu söylenebilir.

Çalışma sonuçlarına göre; kemik doku oluşumu açısından TZF ve G-TZF arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ancak trombositten zengin biyomateryallerin kullanımının kemik doku oluşumunda etkili olabileceği söylenbilir. Trombositten zengin biyomateryallerin kullanımı ile oluşacak kemiğin kalitesi ve kemik oluşum hızının tanımlanabilmesi için yeni alışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.



## SUMMARY

Products containing a high concentration of platelets which secretes growth factors, cytokines and mediators can accelerates tissue regeneration by providing cell activation. Recent studies shows that neutrophilic granulocytes which shelter in fibrin structure accelerates tissues healing. Distribution of granulocytes in the fibrin structure is considered to vary depending on the centrifugation speed. Purpose of this study is to evaluate the effect of the new generation of platelet concentration on bone formation.

New generation platelet concentration was defined by Choukroun. In this study 10 New Zealand rabbits were used in this experimental animal studies. After Mandibular corpus uncovered with the help of trephine burs standard bone defects were created. In the first group PRF (2400 rpm 12 min) applied to the right mandibular posterior defects. In the second group A-PRF (1500 rpm 14 min) applied to the right mandibular anterior defects. Empty defect on the left mandibular side is constituted the control group. Membranes were used for guided tissue regeneration. 3 months after surgery rabbits were sacrificed to evaluate bone healing. The resulting samples were evaluated histologically.

The aim of this study to define the effects of the centrifugal force (speed and time) on cell distribution relevant for bone healing. In histological examination significant difference was not observed between groups about the amount of bone filling and bone quality. .  $P=0,437$  ( $p>0,05$ ) New bone filling point in control group %42,5, in PRF group %56,9, in A-PRF group %55.

Each experimental group formed more new bone than the control group .Group A new bone filling points, is recognized to be higher than the other groups. Group B scores is said to be high than Group C. Furthermore studies are needed to observe the bone formation speed and to observe the bone quality.



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

kondroblastlar kıkırdak matriksini sentezlerler. Oluşan kıkırdak yapının çevresinde Yüksek oranda özelleşmiş bir doku olan kemikte çeşitli nedenlerle oluşacak küçük defektler kemik dokunun rejenerasyon kapasitesinin yüksek olması nedeni ile tamamen iyileşebilmektedir. Ancak travma, enfeksiyon, kist, tümör nedeni ile oluşan defektler kemik doku rejenerasyon oranını azaltmakta ve iyileşme sorunlarına neden olabilmektedir. Bu tür büyük defektlerde kemik oluşumunu kolaylaştırmak, hızlandırmak ve bölgenin fiziksel dayanım gücünü artırmak için çeşitli greft materyalleri kullanılmaktadır (Manson 1994).

Kemik defektlerinin onarımı için otogreft, allogreft, xenogreft ve alloplastik materyaller kullanılmaktadır. Otojen greftlerin birçok avantajı olmasına rağmen alıcı sahada oluşan morbidite ve alıcı sahada oluşacak ağrı, enfeksiyon, limitli kemik elde edilimi farklı materyal arayışına yol açmıştır. Otojen greftlere alternatif olarak kullanılan allogreftler ve xenogreftler yeterli miktarda temin edilebilir fakat oluşacak olası olumsuz immunojenik cevaplara bağlı komplikasyonlar da görülebilmektedir (DeLacure 1994). Bütün bunların etkisi altında defekt alanın rekonstrüksiyonunda kullanılacak farklı biyomateryaller ve büyüme faktörlerinin defekt iyileşmesi üzerine etkisi hakkında araştırmalar halen devam etmektedir.

Büyüme hormonlarının büyük kemik defektlerinde kendiliğinden iyileşmeyi sağlamak ve kemik greftlerinin iyileşme sürelerini hızlandırmak üzere etkileri araştırılmaktadır. Yapılan çalışmalarda hormonların kemik gelişimi üzerinde olumlu etkileri gösterilse de üretiminin elde edilmesinin zor ve pahalı olması nedeniyle klinik kullanımı sınırlıdır (David ve ark. 2014).

Sert ve yumuşak doku iyileşmesini hızlandırmak amacıyla uygulanan birinci nesil trombosit konsantrasyon ürünü “Trombositten zengin plazma (TZP)” olarak adlandırılmıştır. TZP içeriğinde bulunan yüksek miktardaki trombosit ve büyüme faktörlerinin yumuşak dokuda ve sert dokuda iyileşmeyi hızlandırdığı ve içeriğindeki lökosit ve interlökinler (IL) sayesinde antimikrobiyal özellikte davrandığı belirtilmiştir (Plachokova ve ark. 2008).

Antikoagulan madde kullanımına gereksinim duyulmadan kişinin kendi kanından elde edilen ikinci nesil trombosit konsantrasyonu olan” Trombositten zengin fibrin” (TZF) ise 2001 yılında Choukroun tarafından tanımlanmıştır (Choukroun ve ark. 2001).

Greft materyali ya da membran olarak kullanılan TZF direkt olarak ya da başka biomateriyallerle kombine olarak kullanılabilir (Bansal ve Bharti 2013).

Günümüzde fibrin yapısında tüm monositlerin tutulmasını sağlamak amacıyla santrifüj devir ve zamanının değiştirilmesi ile “Geliştirilmiş-Trombositten Zengin Fibrin” (G-TZF) geliştirilmiştir. Kullanılacak G-TZF ile kemik greft stimülasyonunun artacağı ve osteoindüksiyon, osteokondüksiyon ve osteogenezin daha hızlı olacağı görüşü savunulmaktadır.

Bu çalışmada, farklı nesil trombosit konsantrasyonlarının standart kemik defektlerinde kemik oluşumu üzerine etkilerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## **Kemik Yapısı**

Kemik vücuttaki en sert dokudur. Strese karşı dayanım kuvveti kıkırdak dokuya oranla daha azdır. Kemik dokunun mekanik, koruyucu, metabolik olmak üzere 3 önemli görevi bulunmaktadır (Alpar 1980).

1. Mekanik fonksiyon: Kas tendonlarına yapışma yüzeyi oluşturur.
2. Koruyucu fonksiyon: Yapısındaki kemik iliği ile kan elemanlarının oluşumunu sağlar.
3. Metabolik fonksiyon: Vücuttaki kalsiyum ve fosfat gibi iyonların depo görevini görür. Bu iyonların vücut sıvısındaki konsantrasyonunu ayarlar.

Kemiğin dış kısmındaki daha kalsifiye tabakaya kompakt kemik denir ve bu tabakanın mekanik ve koruyucu rolü bulunmaktadır. Kemikteki metabolik fonksiyonların yoğun olduğu tabaka ise trabeküler tabakadır. Kemik döngüsünün %80’i trabeküler tabakadan oluşmaktadır. Trabeküler kemikte besin maddelerinin iletimi, kemiğin hücre dışı sıvısından trabeküllere sızması ile sağlanırken kompakt kemikte besin maddelerinin iletimi havers kanalları ile sağlanmaktadır. Havers

kanallarının içerisinde kemik dokusunu besleyen kapiller damarlar bulunmaktadır. Havers kanalları, kemiğin enine doğru uzanan volkmann kanalları yardımıyla kemiğin dış yüzeyine ve periosteuma kadar uzanmaktadır. Kemik dokusu çok iyi damarlanmıştır. Erişkin insanda kompakt kemik 200-400 mL/dk kan akımına sahiptir (Bancroft ve Stevens 1996, Kierszenbaum 2006).

### **1.1.1 Periosteum**

Kemik ile doğrudan teması olan dış tabakaya periosteum denilmektedir. Kolajen lifler ve fibroblastlar açısından yoğun olan bu tabaka yapısında bulunan kolajen lifler aracılığı ile kemik yüzeyine bağlanmaktadır. Periost iç kısmında mitoz bölünme aktivitesi olan ve osteoblasta farklılaşma özelliği gösteren hücreler barındırmaktadır. Periosteum; kemik hasarı ve onarımı durumunda osteojenik potansiyelleri engelleyen osteoprogenitör hücreler içermektedir (Junqueira ve Carneiro 2003).

### **1.1.2 Endosteum**

Endosteum kemiğin iç kısmında yer alan tüm yüzeyi sarmaktadır. Periosta kıyasla daha ince bir tabakadır. Kan damarlarından zengindir. Endosteum, volkmann kanallarına girer ve sharpey lifleri yardımıyla kemiğe tutunurlar. Havers kanallarıyla birlikte bütün boşluklarına uzanan ve kemik iliğini barındıran süngerimsi duvarları örten endosteum, bağ doku lifleri ile yassı hücrelerden meydana gelmektedir (Bancroft ve Stevens 1996, Kierszenbaum 2006).

## **1.2 Kemik Dokusu**

Kemik dokusunda kemik hücrelerinin arasını dolduran ara madde; kemik matriksi organik ve inorganik bileşenlerden oluşur. Kemik matriksinin kuru ağırlığının %50 sini inorganik bileşenler oluşturmaktadır. İnorganik yapı içerisinde bulunan kalsiyum ve fosfat kristalleri kemikte hidroksiapatit kristalini oluşturur. Kemik

kristalleri genel formülü  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$  olup bu kristaller 20-40 nm uzunluğa ve 3-6 nm genişliğe sahiptir (Junqueira ve Carneiro 2003).

Kalsiyum ve fosfat iyonlarının dışında magnezyum, bikarbonat, sodyum, hidroksil, potasyum, klor, sitrat ve flor inorganik kemik matriksi içinde yer almaktadır. Hidroksiapatit kristallerinin yüzeyinde kristaller ve vücut sıvıları arasında iyon değişimini sağlayan hidrasyon tabakası bulunmaktadır. Kemik matriksinin organik komponentinin büyük kısmını glikozaminoglikanlar ve glikoproteinler oluştururken inorganik komponentin büyük kısmını tip 1 kolojen oluşturmaktadır.

Kondroitin sülfat, keratan sülfat, hyaluronik asitten zengin proteoglikan ve kolajen olmayan proteinler kemik dokusunu oluşturan diğer organik bileşenlerdir (Chung 1998, Arıncı ve Elhan 2001).

### **1.3 Kemik Dokusunun Hücresel Elemanları**

Kemik dokusu, osteoblast ve osteositleri içeren osteoprogenitör hücreler, monosit ve makrofajları içeren osteoklast kökenli hücrelerden meydana gelmektedir (Alpar 1980).

#### **1.3.1 Osteoprogenitör hücreler**

Mezenkim kökenli, çoğalma ve farklılaşma kapasitesine sahip hücrelerdir. Kemiğin normal büyümesi sırasında aktif olan bu hücreler erişkinlerde inaktif durumdadır. Ancak kemik yaralanması gibi durumlarda aktive olarak çoğalırlar ve bu hücrelerin bir bölümü kemiği oluşturan osteoblastlara dönüşür. Kemik yapımı durduğunda da osteoblastlar, osteoprogenitör hücrelere dönüşebilirler. Osteoprogenitör hücreler büyüme ve transkripsiyon faktörlerini içeren düzenleyici bir mekanizma ile osteoblastlara dönüşür. Osteoprogenitör hücreler endosteum ve periosteumun iç tabakasında bulunmaktadır. Osteoblastlar ürettikleri mineralleşmiş matriks içinde kaldıkları zaman osteositlere dönüşürler (Alpar 1980, Lynch ve ark. 1999, Kierszenbaum 2006).

Osteoprogenitör hücreler kemiği kaplayan hücreler olarak doğumdan sonraki yaşam boyunca kalır. Erişkinlerde kemik hasarlarının onarımı esnasında veya diğer kemikle ilgili yaralanmalarda yeniden aktive olurlar (Junqueira ve Carneiro 2003).

### 1.3.2 Osteoblastlar ve Osteositler

Osteoblastlar kemik matriksinin organik komponentini oluşturan tip I kolajen ve proteoglikanları salgılar ve inorganik komponentin depolanmasından sorumlu kübik ya da silindirik şekilli hücrelerdir. Osteoblastlar ayrıca osteokalsin, osteopontin ve kemik siyaloprotein üretmektedirler (Kalfas 2001, Kierszenbaum 2006).

Lokal mezenkimal kök hücreleri olarak kabul edilen osteoblastlar uyarılarla preosteoblastlara ve olgun osteoblastlara dönüşmektedir. Osteoblastlar kemik matriksi etrafında henüz kalsifiye olmamış osteoid doku içerisinde bulunmaktadır. Matriks sentezi ve kalsifikasyonu arasında geçen süre ortalama 10 gündür. Stoplazmik uzantılara sahip osteoblastlar diğer osteoblast ve osteositlerle bağlantı kurar ve sitoplazmik uzantılar arasındaki geçit bölgesi ile tek bir hücre gibi hareket etmektedir. Osteoblast plazma membranında bulunan alkalın fosfataz kemik matriks yapımında en üst seviyeye ulaşmaktadır. Osteoblastların ortalama yaşam süreleri 8 haftaya ulaşabilmektedir (Bancroft ve Stevens 1996, Lynch ve ark. 1999).

Osteositler kendi sentezledikleri matriks içinde hapsolmuş osteoblast olarak tanımlanmaktadır. Her bir osteosit laküna adı verilen boşluklarda yer almaktadır. Mikrofilaman yapıda uzantılara sahip osteositler kalsifikasyondan sonra kanallı ağ yapısını bu mikrofilamanlar arasında oluşturmaktadır. Osteositler kemikte meydana gelecek kimyasal ve fiziksel uyarılara hızlı yanıt vermektedir. Osteositlerin ölümünün kemik rezorpsiyonunu başlattığı bildirilmektedir. Osteositler vaskülarizasyonları devam ettiği sürece canlı kalabilirler (Baden 1999, Lynch ve ark. 1999, Kalfas 2001).

### 1.3.3 Osteoklastlar

Kıkırdak ve kemiğin rezorpsiyonundan sorumlu hücrelerdir. Kemiğe özgü makrofaj gibi çalışan osteoklastlar diğer monositik fagosit hücrelere benzer yapıdadır. Hematopoetik kök hücreler uygun uyarılarla osteoklastlara dönüşmektedir. Makrofaj-koloni stimulan faktör (M-KSF) yüksek seviyelerde osteoklast gelişimini inhibe eder ancak uygun konsantrasyonlarda osteoklast oluşumunu uyarmaktadır (Khan ve ark. 2000).

Progenitör hücrelerin osteoklastlara dönüşebilmeleri için lokal ve sistemik uyarılara ihtiyaç vardır. Lokal uyarılar içerisinde ortamda kemik stromal hücrelerinin veya osteoblastların bulunması gerekli görülürken sistemik uyarılarda 1,25-dihidroksi vitamin D3, paratiroid hormon ve tümör nekrotizan faktör (TNF) gerekliliği vurgulanmıştır. IL-6 ve IL-11 osteoklast hücre gelişimi için etkilidirler. Osteoklastlar hedef kemik matriksine bağlanarak asidik çevre meydana getirirler. Osteoklastlar tarafından salgılanan asit fosfataz ile rezorpsiyon süreci başlar. Lizozomal enzimler rezorpsiyon sonucunda oluşacak atık maddelerin dokulardan uzaklaşmasına yardımcı olur. Kemik rezorpsiyonu önce asidik ortamda inorganik maddelerin ayrılması ile başlar ve lizozomal enzimler ile organik maddelerin yıkımı ile devam etmektedir (Alpar 1980, Lynch ve ark 1999, Khan ve ark. 2000). Osteoklastlar ile kemikte meydana gelecek rezorpsiyonu takiben osteoblastlar ile rezorpsiyon görülen alanda yeni kemik oluşumu başlar (Lynch ve ark.1999, Kierszenbaum 2006).

Osteoklastlar, kalsiyumun kemikten kana hareketini gerçekleştirerek metabolik ihtiyaçlara karşı aktif hale geçebilirler (Baden 1999, Kierszenbaum 2006).

### 1.4 Kemik Gelişimi

Kemik, daha önceden var olan bağ dokunun üzerine gelişir. Histolojik olarak incelenen kemikte tamir sürecinden sorumlu primer kemik ve erişkinlerde primer kemik yerine oluşan sekonder kemik görülmektedir. Sekonder kemikte kolajen lifler birbirlerine paralel ve vasküler yapı etrafında yoğunlaşmış olarak görülmektedir.

Embriyoda kemik oluşumu intramembranöz kemik oluşumu ve endokondral kemik oluşumu olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. İntramembranöz kemikleşmede kemik dokusu doğrudan primitif bağ dokusu ya da mezenkim hücrelerden oluşur. Endokondral kemikleşmede ise mevcut hiyalin kıkırdağın yerini kemik dokusu almaktadır (Kierszenbaum 2006, Özkaynak 2007).

#### **1.4.1 İntramembranöz Kemikleşme**

Mezenkimal dokunun yoğun olduğu yerlerde kemikleşme oluşmaktadır. İntramembranöz kemikleşme yassı kemik oluşumu için gerekli bir mekanizmadır. Kısa kemik oluşumu ve uzun kemiklerin kalınlaşmasından da bu mekanizma sorumludur. Kemikleşmenin başladığı nokta primer ossifikasyon merkezi olarak tanımlanmaktadır (Kierszenbaum 2006).

İntramembranöz kemikleşmede ekstraselüler matrikste, fibroblast benzeri mezenkim hücreleri biraraya gelir ve bu hücreler osteoblastların şeklini alır. Salgılanan kemik matriksi ile birçok kemikleşme merkezi gelişir ve süngerimsi kemik meydana gelir. Erken dönemde oluşan trabeküllerde kolajen lif dağılımı düzenli olmayıp ağısı yapıda görünüm oluşturmaktadır. Kemik matriksinin mineralizasyonu ile trabeküler kemikte kalınlaşma meydana gelir. İntramembranöz kemik gelişiminin geç evrelerinde kolajen lifler düzenli demetler oluşturmak üzere dizilirler. Havers kanalını dolduran merkezi bir kan damarı, lameller ve osteonlar havers sistemlerini oluştururlar. Bağ dokusunun yoğunlaşarak periosteumun ve endosteumun oluşması ile intramembranöz kemikleşme tamamlanmış olur (Cotran ve ark. 1996, Kierszenbaum 2006).

#### **1.4.2 Endokondral kemikleşme**

Hiyalin kıkırdak yapısında meydana gelen kemikleşmedir. Kısa ve uzun kemiklerin oluşum mekanizmasından sorumludur. Mekanizmanın başlangıcında avasküler bir embriyonik kıkırdak doku oluşur. Bu dokunun oluşumunda mezenkimal kaynaklı hücrelerden önce prekondroblastlar sonra da kondroblastlar oluşur. Oluşan mezenkimal hücreler bölünmeye devam ederler. Bu apozisyonel büyümedir. Bu

olayların sonucunda kondrositler ölürler. Böylece kemik yapıya benzer kıkırdak bir yapı oluşur. Endokondral kemikleşme sürecinde oluşan primer kemikleşme merkezi tip II kolajen içermekte ve ekstraselüler matriksi depolayan çoğalabilen kondrositlerden oluşmaktadır. Hipertrofik kondrositler tarafından salgılanan büyüme faktörleri ile perikondriumdan kan damarlarının oluşumu indüklenir (Gartner ve James 2000).

Endokondral kemikleşme, kondrositler tarafından doldurulan boşluklara kan damarlarının uzanması ile başlar. Kan damarları dallanarak kemikleşme merkezinin her iki ucuna kadar uzanırlar. Endokondral kemikleşme epifizlere yaklaşıncaya epifizlerin içinde ikincil kemikleşme merkezleri belirir. Eski ve yeni kemikleşme bölgelerinde sadece bir disk kalır. Diske epifiz plağı denir. Kemikleşme sona erinceye kadar epifiz içindeki kıkırdak hücreleri diyafiz yönünde sürekli çoğalarak kıkırdak doku oluştururlar, bu kıkırdak dokusu da yerini devamlı kemik dokusuna bırakır. Böylelikle kemiklerin boyları belli bir yaşa kadar uzar. En sonunda epifiz plakları da kemikleşir ve kemik büyümesi sonlanır (Gartner ve James 2000, Kierszanbaum 2006).

### **1.5 Kemik Dokusunun Özellikleri**

Kemik dokusu, yapısında bulunan farklı hücrelerin ve ara maddenin üzerine organik ve inorganik maddelerin çökmesiyle sağlamlık, esneklik gibi fiziksel özellikler kazanmış, ileri derece özelleşmiş bir bağ dokusu türüdür (Baron 1999). Kemik; bütünleşmiş birçok hücreden oluşan, metabolik ve biyolojik açıdan dinamik bir dokudur. Bu yönden kemiğin büyüme ve iyileşmesi çok sayıda biyokimyasal, biyomekanik, hücresel, hormonal ve patolojik olayın zincirleme reaksiyonu gibi düşünülebilir (Junqueira ve ark.2003).

Kemik matriksi, organik ve inorganik matriks olmak üzere iki bölümde incelenir. Kemik matriksinin organik kısmını %90 oranında tip 1 kolajen oluşturur. %10'unu ise glikozaminoglikanlar, glikoproteinler, kemiğe özgü K vitamini bağımlı proteinler ve az miktarda tip 5 kolajen oluşturur (Lynch 2008).



İnorganik matriks kalsiyum ve fosfattan oldukça zengindir. İçerdiği diğer mineraller ise; bikarbonat, sitrat, magnezyum, potasyum ve sodyumdur.

## 1.6 Kemik İyileşmesi

**İnflamasyon Dönemi:** Kırık sonucu; periost, endosteum, çevre yumuşak dokular, kan ve lenf damarları parçalanır. Dokular arasına kan ve lenf sıvısı birikir ve ilk 48 saat içinde hematoma şekillenir. Kırık tamirinde, bu hematoma oluşumu ve organizasyonu ilk basamaktır. Kırık bölgesinde gelişen hematoma (prokallus) ve ardından bölgeye gelen damarlar ve fibroblastlar, granülasyon dokusunu oluşturur. Bu kırık iyileşmesinin ilk basamağıdır. İyileşme olgunlaşmış kemik lamelleri ile kırık uçları birleşinceye kadar devam eder (Gartner ve Hiatt 1997).

**Tamir Dönemi:** İlk 48 saatten sonra kırık hematoma organize olur. Hematom içine fibroblastların yayılması ile vaskülarize granülasyon dokusu meydana gelir. Ayrılmamış kırıklarda endosteum, ayrılmış kırıklarda periost hücrelerinin kırık iyileşmesinde aktif rolleri vardır. Bu dönemin fibröz kallus dönemi olduğu kabul edilmektedir. Bu devrede, ortamda yeterli oksijen bulunursa, kemik gelişimi ve iyileşmesinin olduğunu, aksi halde kaynama gecikmesinin veya kaynamamanın görüldüğü belirtilmektedir. Zamanla kırıkta yapı ortaya çıkar ve bu dönemde kırıkta kallus adı verilmektedir. Daha sonra kalsiyum hidroksiapatit kristallerinin kırıkta kallusa yerleşmesi ile sert kemik dokusu şekillenmeye başlar (Day ve ark. 2000).

**Yeniden Şekillenme Dönemi:** Son dönem olan bu dönemde iyileşen kemik, lameller kemiğe dönüşür. Medullar kavite ve normal kemik çapları yeniden oluşturulur. Kemikleşme olurken, osteoklastik aktivite ile rezorpsiyon ve bunu izleyen dönemde yeni kemikleşme meydana gelir. Yeniden şekillenme (remodelizasyon) en uzun devam eden dönemdir ve ortalama 1 yıl devam eder. Bu dönem sonunda, kemik korteksi ve kemik iliği devamlılığı kazanılmış olur. Kemiğin yeniden şekillenmesinde;

mekanik faktörler, kan dolaşımı, endokrin, mineral yapı ve biyoelektrik etkiler çok önemli rol oynar (Lynch 2008).

Yeniden şekillenme rezorpsiyon ile olgun kemik dokunun iskelet sisteminden uzaklaştırılması ve yerine ossifikasyon ile yeni kemik dokunun oluşmasını sağlayan ve hayat boyu devam eden kemik yeniden yapılandırma işlemidir ve 5 aşamadan oluşur.

**1. Aktivasyon:** İlk olarak faaliyet gösteren hücreler osteoklastlardır. Osteoklastlar kemiği rezorbe etmek üzere bu alana yönelmişlerdir.

**2. Rezorpsiyon:** Aktive osteoklastlarla kemik yıkımı gerçekleşir. Osteoklastlar, salgıladıkları proteolitik enzimler ile kemik yıkımını gerçekleştirirler.

**3. Geri dönüşüm:** Osteoblastlar rezorpsiyon alanına yönlendirilmiştir. Bazı mononükleer-makrofaj benzeri hücrelerin aktivasyonu ile bir sement hattı oluşturulur. Bu hat rezorpsiyon alanının sınırlarını belirlemektedir. Yeni kemik doku ile eski doku bu hat ile birbirlerinden ayrı tutulmaktadır.

**4. Formasyon:** Bu aşamada osteoblastlar etkindir. Kemik matriks sentezi bu aşamada gerçekleşir. Formasyon aşamasındaki osteoblast aktivitesi ortalama 2-3 ay kadar sürmektedir. Oluşan osteoid dokunun mineralizasyonu formasyon aşamasında gerçekleşir. Mineralizasyon süreci yaklaşık 10 gündür.

**5. Sukûnet:** Remodeling alanında oluşan kemik doku yeni bir remodeling siklusuna kadar sukûnet içerisinde kalmaya devam eder. Kemik döngüsünün hızı çocuklarda yıllık %20, erişkinlerde %3 civarındadır (Hahn 1997).

### **1.6.1 Kemik iyileşmesini etkileyen faktörler**

Yerel ve genel olarak iki gruba ayrılmaktadır (Kılıçoğlu 2002).

**Yerel faktörler;** Travmanın derecesi ve etkisi, travmaya bağlı kemiğin beslenme durumu, travmanın şekli ve şiddeti, defektin meydana geldiği kemiğin türü, yerel enfeksiyon veya patolojik doku varlığı, yumuşak doku yaralanması, immobilizasyon olarak sayılabilir (Khan 2000).

## **Genel faktörler;**

İleri yaş; İleri yaşlarda hücre farklılaşması azalır buna bağlı olarak kemik iyileşmesi olumsuz etkilenmektedir. Sistemik hastalıkların varlığı ve bu hastalıklara bağlı gelişen hiperemi ve iltihabi yanıt osteoporozu neden olmaktadır. İltihabi olaylara bağlı gelişen lökosit artışı osteoid oluşumunu engeller ve matris yapılarında bozulmalara neden olur. Özellikle diyabet, anemi, tüberküloz, raşitizm gibi hastalıklar ve beslenme bozuklukları kemik iyileşmesini geciktirir (Yılmaz ve ark. 2001).

Hormonlar; Osteoklast sayısında artışa neden olan Paratiroid hormon (PTH) osteolizi hızlandırmaktadır. Kalsitonin trabeküler ve kompakt kemik yapılığını hızlandırmaktadır. Proteine bağlı Ca artışını etkileyen büyüme hormonları ve insülin kemik iyileşmesini hızlandırmaktadır. Tiroid hormonunun kemik iyileşmesi üzerine PTH ile benzer etkiye neden olduğu ileri sürülmüştür. Kortizon bazı büyüme faktörlerinin üzerinde (BFBF, DEBF, ve TKABF) olumsuz etki yaparak kemik iyileşmesini yavaşlatır (Brond ve Rubin 1990, Gartner ve Hiatt 1997).

Vitaminler; osteoblast, osteoklast aktivitesinde önemli rol oynayan A vitamini normal dozda mezenkimal hücre farklılaşmasını uyararak kemik iyileşmesine yardım eder. Ancak doz fazlalığında hücre çoğalmasını engeller, hücrelerin osteoklastlara dönüşümünü indükleyerek kemik iyileşmesinde gecikme ve kırıldak kolonlarında erozyon meydana getirir. D vitamini normal dozlarda kemik iyileşmesini hızlandırır. D vitamini eksikliğinde Ca düzeyi düşer ve kemik kalsifikasyonu zayıflar. Kalsiyumun kemikten kana geçişi yanında, kemik hücrelerinde sitrat üretimini artırır. D vitamini normal dozda kullanıldığında kemik iyileşmesini hızlandırırken, toksik dozda olumsuz etki eder. B6 vitamini eksikliği ve K vitamini antagonistleri kemik iyileşmesine olumsuz etki ederler (Miller 1996).

İlaçlar; kondroitin sülfat, hiyalüronidaz ve dikumaral kemik iyileşmesine yardım eder. Deneysel çalışmalarda L-Dopa ve klonidin büyüme hormonunu arttırarak kemik iyileşmesini olumlu etkilemiştir. İndometazinin yüksek dozlarda kemik iyileşmesini durdurduğu bilinmektedir. Lazer tedavisinin deneysel kemik iyileşmesi üzerine olumlu etkisi gösterilmiştir (Yılmaz ve ark 2001, Khan 2000). Hiperbarik oksijen tedavisi; günde ortalama 2 saat, 2-3 atmosfer basıncında uygulanan oksijen uygulanmasının kemik iyileşmesini olumlu yönde etkilediği gözlenirken, 6 saat/gün

dozda uygulamalarının kemik iyileşmesi üzerinde olumsuz etkileri vardır (Miller 1996, Khan 2000).

Radyoterapi; mezenkimal hücrelerden osteoblast gelişimi ve matriks oluşumu için gerekli yapı taşlarının sentezini yavaşlatır (Cruess 1984, Brond ve Rubin 1990, Cotran ve ark 1999, Fındıkçıoğlu 2006).

Sitotoksik ilaçlar; malign hastalıkların tedavisinde kullanılan immunsupresif ilaçlar iyileşmeyi olumsuz etkilemektedir (Cruess 1984).

### **1.7 Trombositten Zengin Plazma (TZP)**

Trombosit seviyesi normalin üzerinde otojen kandan elde edilen plazma parçasıdır. Normal kan pıhtısının %95'ini kırmızı kan hücreleri (RBCs), %5'ini trombositler, %1 den az kısmını beyaz kan hücreleri (WBCs) ve sayısız fibrin ağları oluşturur. TZP'nin ise %4 RBCs, %95 trombositler ve %1'nin WBCs oluşturmaktadır.

TZP ilk kez Marx ve arkadaşları tarafından 1987 yılında tanımlanmıştır. Bazı araştırmacılar trombositlerden zengin plazmadaki trombosit konsantrasyonunun normal trombosit konsantrasyonunun 3-5 katı olması gerektiğini bildirirken 2 - 8,5 katını bildiren yayınlar da vardır (Gonshor 2002, Kevy ve Jacobson 2004, Marx R 1998 ).

TZP sadece yüksek düzeyde trombosit içermez aynı zamanda pıhtılaşma faktörlerinin bütün komponentlerini içerir. TZP'nin klinik olarak etkin olabilmesi için her bir mikrolitrede en azından bir milyon trombosit olması gerektiği vurgulanmaktadır (Mishra ve ark. 2009).

TZP trombositler içindeki alfa granüllerinin degranülasyonu yoluyla çalışır. Pıhtılaşmadan sonraki 10 dakika içinde alfa granüllerden büyüme faktör sekresyonu başlar ve yaklaşık 1 saat içinde presentezlenmiş faktörlerin %95'i salınır. Pratikte TZP içindeki büyüme faktörlerin salınması için TZP hazırlandıktan sonra içindeki alfa granüllerin indüklenmesi gerekmektedir. Bu indükleme in-vitro olarak hazırlanan TZP içine kalsiyum ve/veya trombin eklenerek sağlanır. Bundan dolayı TZP pıhtılaşmamış şekilde hazırlanmalıdır ve uygulama bölgesinde pıhtı başlamasıyla birlikte (aktivasyon sonrasında) 10 dakika içinde kullanılmalıdır ( Epply ve ark. 2006).

TZP cerrahi yara alanında normal pıhtının oluşması için çeşitli büyüme faktörlerinin (trombositten köken alan büyüme faktörü (TKABF)), (transforme edici büyüme faktörü (TEBF))ve (insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IBBF-1)) yara alanında toplanmasını sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırır. Direkt lezyon bölgesine uygulanabileceği gibi farklı greft materyalleri ile karıştırılarak da kullanılabilir (Nevins ve ark. 2005).

Antikoagulan kullanılarak hazırlanan TZP'nin uygulama sahasına aktarılma süresi 8 saati geçmemelidir. TZP uzun saklama süresine sahip olmasına rağmen opere alanda 7 gün kadar etkin olacağı için hızla kullanılmalıdır.

Yapılan çalışmalar kemik greftleri ile beraber kullanılan TZP'nin erken kemik rejenerasyonunu ve yumuşak doku iyileşmesini artırdığını, trabeküler kemik yoğunluğunun %15-30 oranında arttığını göstermiştir. Arıkan ve ark. yaptığı çalışmada sadece TZP kullanımının ve TZP'nin DFDBA ile birlikte kullanımının kemik oluşumundaki kazancının değerlendirildiği çalışmanın sonucunda her iki tedavi yönteminin kemik kazancında etkili olduğu ancak TZP ve DFDBA'nın beraber uygulandığı grupta daha anlamlı kazanç sağlandığı gözlenmiştir (Arıkan ve ark. 2007).

### **1.7.1 TZP'nin Kullanım Alanları**

TZP'nin kas-iskelet sistemi lezyonlarında kullanımları oldukça yaygındır. Bunlardan; tendon ve ligament yaralanmaları, epikondilit, rotator kaf yırtığı, aşil ruptürü ve tendiniti, koşucu dizi (patellar tendinit), plantar fasit, shin splint, iliotal bant sendromu, kas zorlanmaları, karpal tünel sendromu, osteoartrit (eklem içi), bası yaraları, dejeneratif disk hastalığı, kemik fraktürü, non-union, total eklem protezleri, tendon tamir ameliyatları, spinal cerrahi, baş-boyun cerrahisi, otolaringoloji, oftalmoloji, maksillofasiyal cerrahi, dental implantlar, kozmetik TZP'nin başlıca kullanım alanlarıdır (Bayram 2012).

### 1.7.1.1 TZP'nin Ortopedi Alanında Kullanımı

**Diz Rahatsızlıkları:** Murray ve ark. tarafından yapılan hayvan çalışmasında; ön çapraz bağ deformite onarımına ek olarak TZP enjeksiyonu yapılmıştır. Yapılan enjeksiyonun ön-arka diz laksitesine, tensil gücüne bir faydası olmadığı gösterilmiştir (Murray ve ark. 2009).

Filardo ve ark. diz ekleminde yaptıkları bir çalışmada ise; TZP enjeksiyonlarının kontrol grubuna bir üstünlüğü olmadığı sonucuna varılmıştır (Filardo ve ark. 2010).

**Osteokondral Lezyonlar:** Osteokondral lezyonlarda mikrofraktür tedavisine ek olarak TZP enjeksiyonu yapılmıştır uygulanan TZP'nin iyileşmede etkili olduğu gösterilmiştir, osteokondral lezyonlarda tek başına TZP enjeksiyonu yapılan herhangi bir çalışmanın olmadığı belirtilmiştir (Milano ve ark. 2010).

**Rotator Kaf Tendinopatileri:** Primer rotator kaf tendon tamirlerinde ek olarak TZP enjeksiyonu yapılmıştır; MR sonuçlarına göre yeni yırtık oranı TZP enjeksiyonu yapılmayan grupta daha azdır (Barber ve ark. 2011).

Yapılan başka bir çalışma primer rotator kaf tendon onarımında TZP ile yapılan tendon onarımının ve konvansiyonel tedavi yöntemlerinin başarılı sonuçlar verdiği ancak tedavi prosedürleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Yapılan çalışmalarda hasta sayısının limitli olması nedeniyle kesin sonuca varılamamıştır (Jo ve ark. 2011).

**Aşil Tendinopatisi:** 2672 hastanın dahil edildiği bir çalışmada; aşil tendinopatisi olan hastalarda TZP uygulamasının eksantrik egzersizlere göre daha efektif olmadığı vurgulanmıştır (Filardo ve ark. 2010).

Kronik aşil tendiniti olan 30 hasta grubunun olduğu bir çalışmada; geleneksel nonoperatif tedavi ile tek uygulamalı ve ultrason eşliğinde yapılan TZP enjeksiyonu karşılaştırılmış ve sonuçların daha iyi olduğu belirtilmiştir (Monto 2012).

10 hasta ile yapılan başka bir çalışmada ise; TZP enjeksiyonu sonrası MR değişiklikleri değerlendirilmiş fakat sadece 1 hastada olumlu sonuç bulunmuştur (Owens ve ark. 2011).

**Lateral Epikondilit:** Yapılan bir çalışmada; TZP enjeksiyonunun yapıldığı kronik, tedaviye dirençli lateral epikondilit hastalarında yapılan bu tedavinin ağrıyı

azaltmada etkili olduğu bildirilmiştir. Maliyet yönünden uygun olan TZP'nin tedavi sürecini destekleyecek uygun zamanda ve konsantrasyonda enjekte edilmesi ve başarılı rehabilitasyon programı ile tedavinin desteklenmesi lateral epikondilit hastalarında ağrıyı azaltmada etkin bulunmuştur (Thanasas ve ark. 2011).

Lokal steroid enjeksiyon uygulamalarına kıyasla TZP daha etkin ve güvenilir bulunmuştur (Gosens ve ark. 2011).

### **1.7.1.2 TZP'nin Rekonstrüktif Cerrahide Kullanım Alanları**

İlk dönemlerde TZP'nin oral ve maksillofasiyal cerrahide implant ve kemik grefti uygulamalarında faydalı etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Daha sonraları TZP'nin kronik yaralarda ve flep cerrahisi oluşturan kozmetik cerrahi prosedürlerde kullanımı artmıştır. Günümüzde yumuşak doku defeklerinde ve yağ grefti uygulamalarında TZP'nin doku rejenenerasyonu üzerine olan etkileri tartışılmaktadır (Zeynep ve ark. 2014)

Marx ve ark. yaptıkları çalışmada mandibular kemik defektlerinde kemik grefti ile beraber TZP uygulamasının kemik oluşumunu arttırdığını belirtmişlerdir (Marx R ve ark 1998).

Crovetti ve ark. değişik etiyolojileri olan kronik kutanöz yaralarda, diyabet, vasküler yetmezlik, enfeksiyöz, posttravmatik, nöropatik ve vaskülit kökenli lezyonlarda haftada 1 yapılan TZP uygulamasının yara iyileşmesinde olumlu etkilerinin olduğunu bildirmiştir (Crovettive ark. 2004). Özellikle diyabetik nöropatik ayak ülserlerinde TZP uygulamasının başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (Dougherty 2008).

Salemi ve ark. 3 yıllık kronik alt ekstremite ülseri olan 65 yaşındaki hastaya TZP ve otolog yağ doku kombinasyonunu uygulamışlardır. Uygulamadan 4 hafta sonra greft konulan hastanın postoperatif 15 aylık takibinde yaranın tamamen iyileştiği bildirilmiştir (Salemi ve ark. 2008).

Cervelli ve ark. daha sonra yaptıkları benzer çalışmalarda da TZP ile yağ grefti kombinasyonunun kronik venöz ülserlerde reepitelizasyon zamanını kısalttığı gösterilmiştir (Cervelli ve ark. 2011).

Birçok kozmetik cerrahi prosedürde de (yüz germe, küçültme mamoplastisi, abdominoplasti vb) kaldırılan fleplerin altına TZP uygulamış ve dren kullanımına ve kompresif pansumana gerek olmaması, postoperatif ağrı ve ödemi azaltması ve yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkilerine bağlı daha kısa iyileşme dönemi sağlaması gibi olumlu etkileri bildirilmiştir (Man ve ark. 2001).

Transplante yağ dokusuna fibrin enjekte edildiğinde hücre farklılaşmasının arttığı bildirilmektedir (Torio ve ark. 2007).

Cervelli ve ark. yüzdeki 3 boyutlu hacim defektlerinin onarımında yağ grefti ve TZP kombinasyonunu kullanmıştır. 1 yıl sonra yapılan takiplerde TZP ve yağ grefti kullanılan grupta restore edilen yüz hacminde %70 kalıcılık sağlanırken sadece yağ grefti uygulanan kontrol grubunda bu oran % 31 tespit edilmiştir (Cervelli ve ark. 2009).

Keyhan ve ark. yüzdeki 3 boyutlu hacim defektlerinin onarımında 25 hastada bir tarafa yağ ve TZP kombinasyonu uygularken diğer tarafa yağ ve TZF kombinasyonu uygulamışlardır. 1 yıl sonra yapılan takiplerde TZF uygulanan gruba kıyasla TZP grubunda daha fazla rezorpsiyon gözleendiği bildirilmiştir Minimal invaziv prosedürlerde, nazolabial olukta yer alan kozmetik deformite onarımında dermal ve subdermal dokulara uygulanan TZF ile nazolabial olukta 2 hafta içinde belirgin düzelme gözleendiği operasyon sonrası 3. ay kontrollerinde bile tedavinin kalıcı olduğu bildirilmiştir (Keyhan ve ark. 2013).

Trink ve ark. yaptıkları bir çalışmada TZP enjeksiyonu sonucu yeni saç oluşumunun belirgin oranda arttığı ve uygulanan enjeksiyonun saç distrofisini azalttığı bildirilmiştir (Trink ve ark. 2013).

### **1.8 Trombositten Fakir Fibrin (TFF)**

Fiziksel olarak TZP den daha güçlüdür. 18 ml kan steril tüplere alınıp 1100 rpm de 6 dakika santrifüj edilir. Elde edilen TZP kalsiyum klorür içeren tüpe aktarılır (0.25mL CaCl<sub>2</sub> 1M). 4500 rpm de 25 dakika 25 derecede santrifüj edilir. Tüp dibinde oluşan madde Trombositten Fakir Fibrin (TFF) olarak adlandırılır. Elde edilen TZF de



rezidüel serumda fibrinojen kalmamıştır. Trombositlerin %99,1 i TFF matrisi içinde yer almaktadır. İncelemelerde kompakt fibrin ağ oluşumu gözlenmiştir. TFF de mezenkimal kök hücre proliferasyonunun fazla olduğu gözlenmiştir. Fasiyal plastik cerrahide sıklıkla kullanılmaktadır. Periorbital tedavilerde (kaz ayakları, suborbital çukurlarda, glabellar hatta ve yaşlılık çizgilerinin giderilmesinde), orta yüz ve alt yüz tedavilerinde (malar bölge ogmentasyonlarında, zigomatik ark yükseltmelerinde, nazolabial oluklarda, akne ve skar tedavilerinde), yüz germe ve rinoplastide kullanılmaktadır. TFF'nin anjiyogenik etkinliğinin varlığından ötürü otojen yağ enjeksiyonlarında yağın canlılığını koruması için beraber alana enjekte edilmektedir (Anitue 2009).

McCormick TFF'nin matür yağ dokusunda anabolik yapılanmayı arttırdığını kanıtlamıştır. TFF de fibrin polimerizasyonu kalsiyum ile yapılan aktivasyonla başlamaktadır. Hipoksi ya da enfeksiyon varlığında kullanımı endike değildir (Sclafani ve McCormick 2012 ).

### **1.9 Trombositten Fakir Plazma (TFP)**

Fibrin glue olarak da bilinmektedir. Basit olarak TZP'nin trombositten fakir formu diyebiliriz (Findikcioglu ve ark. 2009). Tam kandan santrifüj sonrası elde edilen iki plazma fraksiyonundan en üstteki düşük moleküler ağırlıklı çok az trombosit daha çok fibrinojen içeren plazma kısmıdır. Fibrinojenin trombin ve kalsiyum ile polimerize edilmesi ile elde edilmektedir. Günümüzde ticari olarak elde edilmiş fibrin sealant ürünleri; Tisseel (Baxter Health Care Corp), bulunmaktadır. Bu ürünlerde hastalık transmision riski büyük oranda azaltılmakla birlikte tamamen elimine edilmemiştir. Otolog fibrin glue mükemmel bir hemostatik ajan olarak vurgulanmaktadır (Gibble ve Ness 1990).

## 2 KAN HÜCRELERİ

### 2.1 Eritrosit

Eritrosit olarak da bilinen alyuvarların esas işlevi akciğerlerden dokulara oksijeni ileten hemoglobini taşımaktır. Hemoglobin, dolaşımında kalabilmek için eritrosit içinde olmalıdır.

Alyuvarların, hemoglobin taşımının yanında başka işlevleri de vardır. Örneğin, karbonik asit ( $H_2CO_3$ ) oluşturmak üzere karbon dioksit ( $CO_2$ ) ve su arasındaki tersinir tepkimeyi katalize eden ve bu tepkimenin hızını binlerce kez artıran karbonik anhidraz enzimini büyük miktarda içerirler. Bu tepkimenin çabukluğu sayesinde fazla miktarlarda karbon dioksit, kandaki su ile tepkimeye girerek, dokulardan bikarbonat iyonu ( $HCO_3^-$ ) halinde akciğerlere taşınır ve burada tekrar  $CO_2$ 'ye çevrilerek vücut atık ürünü olarak atmosfere verilir. Hücre içindeki hemoglobin mükemmel bir asit-baz tamponudur, bu yüzden alyuvarlar tam kanın tamponlama gücünün önemli bir kısmından sorumludurlar. Alyuvarlar bikonkav disk şeklinde olup, ortalama çapları yaklaşık 7,8 mikrometre ve kalınlıkları da en kalın noktada 2,5 mikrometre, merkezde ise 1 mikrometre veya daha azdır. Alyuvar ortalama hacmi ise 90-95 mikrometreküptür. Alyuvarların şekli, kapillerden geçerken belirgin olarak değişebilir. Normalde bir milimetreküpteki alyuvar sayısı erkekte 5.200.000 ( $\pm 300.000$ ) ve kadında 4.700.00 ( $\pm 300.000$ ) dir. Yükseklerde yaşayan bireylerde alyuvar sayıları daha yüksektir. Alyuvarlar hücre sıvılarında hemoglobini 34 gr/dl hücre düzeyine kadar yoğunlaştırma yeteneğindedirler. Yoğunluk hiçbir zaman bu değeri aşmaz. Hematokrit değeri (kan hücrelerinin yüzdeki normalde %40-45 kadardır) ve her bir hücredeki hemoglobin miktarı normal olduğunda, tüm kandaki hemoglobin miktarı erkeklerde ortalama 15gr/dl, kadınlarda ortalama 14gr/dl'dir. Saf hemoglobinin 1 gramı yaklaşık 1,34 mililitre oksijen ile bağlanma yeteneğindedir. Bu nedenle, normalde her desilitre kanda erkekte yaklaşık 20 mililitre, kadında da 19 mililitre oksijen taşınabilir (Kern 2005).

## 2.2 Lökosit

Vücudumuz, farklı enfeksiyöz ve toksik ajanlarla savaşmak için özel bir sisteme sahiptir. Bu sistem kandaki lökositler (akyuvarlar) ve lökositlerden kaynaklanan doku hücrelerinden oluşmuştur. Bu hücreler bir arada çalışarak, iki yolla hastalıkları önlerler. Yayılımcı bakteri veya virüsleri fagositoz ile harap ederek ve antikorlar ve duyarlı lenfositler oluşturarak (Müftüoğlu 1994, Kern 2005). Lökositler vücudun savunma sisteminin hareketli birimleridir. Kısmen kemik iliğinde ve kısmen de lenf dokusunda oluşurlar. Akyuvarların gerçek önemleri çoğunun özellikle ciddi enfeksiyon ve inflamasyon bölgelerine taşınmalarıdır, böylece enfeksiyon etkenlerine karşı hızlı ve güçlü bir savunma sağlarlar. Kanda normalde altı çeşit akyuvar bulunur. Bunlar polimorfonükleer nötrofiller, polimorfonükleer eozinofiller, polimorfonükleer bazofiller, monositler, lenfositler ve seyrek olarak da plazma hücreleridir. Ayrıca çok sayıda trombosit bulunur, bunlar kemik iliğinde bulunan ve akyuvarlara benzeyen bir başka hücre tipi olan megakaryositlerin parçalarıdır. İlk üç tip hücre polimorfonükleer hücrelerdir ve granüler görünümlü oldukları için granülositler olarak adlandırılırlar.

Granülositler ve monositler yayılımcı organizmayı esas olarak sindirerek-yani fagositoz ile-vücudu korurlar. Lenfosit ve plazma hücrelerinin işlevi ise temelde immün sistem ile ilişkilidir. Erişkin insanda milimetre küp kanda 7.000 kadar akyuvar vardır. Nötrofiller ve doku makrofajları yayılımcı bakteriler, virüsler ve diğer zedeleyici etkenlerle savaşır ve harap ederler. Nötrofiller, bakterilerle dolaşan kanda bile savaşır, onları harap edebilen olgun hücrelerdir. Nötrofiller ve monositler kan kapillerinin porlarından sıkışarak diapedez ile geçebilirler. Nötrofil ve makrofajların en önemli işlevleri olan fagositoz, saldırgan etkenin hücresel sindirimi demektir.

Dokulara giren nötrofiller, olgun hücreler oldukları için derhal fagositoza başlayabilirler. Nötrofiller ve makrofajlar, özellikle bakterileri ve diğer yabancı proteinleri sindirmeye yarayan proteolitik enzimler ile dolu bol miktarda lizozoma sahiptir. Makrofajların lizozomları, tüberküloz basili gibi bazı bakterilerde bulunan kalın lipit zarları sindiren fazla miktarda lipazlar da içerirler. Eozinofiller normalde kandaki tüm lökositlerin %2 kadarını oluşturur. Eozinofiller zayıf fagositlerdir ve

kemotaksi gösterirler. Paraziter enfeksiyonlu kişilerde sıklıkla çok miktarda üretilirler ve parazitli dokulara fazla sayılarda göçerler. Parazitlerin çoğu eozinofiller veya diğer fagositik hücreler tarafından fagosite edilmeyecek kadar büyük olmasına rağmen eozinofiller özel yüzey molekülleri yoluyla parazitlere tutunurlar ve birçoğunu öldüren maddeleri salgırlar. Dolaşan kandaki bazofiller, vücuttaki kapillerin çoğunun hemen dışında yerleşik büyük doku mast hücrelerine benzer. Hem bazofiller, hem de mast hücreleri, kanın pıhtılaşmasını önleyen heparini kana serbestler. Mast hücreleri ve bazofiller, histamin ve az miktarda bradikinin ve serotonin de serbestlerler. Gerçekten de inflamasyon sırasında bu maddeleri serbestlenen başlıca hücreler enflamasyonlu dokudaki mast hücreleridir (Müftüoğlu 1994).

Trombositlerle ilişkili çalışmalar, iki kilit parametre olan fibrin ve lökositlerin etkisini genellikle göz ardı eder. Bazı otörler herhangi bir bilimsel kanıt olmamasına rağmen lökositlerin etkisinin göz ardı edilmesini önerir (Anitua 2007). Bazı çalışmalar ise anti-enfeksiyöz ajan olma ve immün regülasyondaki önemli rollerinden dolayı trombosit konsantrasyonlarında lökosit etkisini vurgular ( Everts ve ark. 2008).

### **2.3 Trombositler**

Trombositler; beyaz kan hücrelerinin bir tipi olan megakaryositlerin sitoplazmik fragmanları olup yaklaşık 2 mikrometre çapında, ışığı kıran, yuvarlak veya oval şekilli, kemik iliğinde oluşur. Soluk gri-mavi sitoplazmaları homojen dağılmış mor-kırmızı granüller içerir. Trombosit agregasyonundan sonra bu granüller hücrenin ortasında konsantre olurlar. Hücre zarının altında şekli sağlayan mikrotubulus şeridi vardır.

Dolaşan trombositlerin hacmi  $7.06 \pm 4.85 \mu\text{m}^3$  (femtolitre), çapı  $3.6 \pm 0.7 \mu\text{m}$  (ortalama  $\pm$ -SD) ve kalınlığı  $0.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$ dir (Frojmovic MM, Panjwani R. 1976, Paulus JM ve ark. 1979). Anormal küçük ve büyük trombositler sadece bazı hastalık durumlarında olmasına rağmen trombosit hacmi kişiden kişiye değişir. Trombositlerin kandaki normal konsantrasyonları 140.000 ile 400.000 arasında değişir (Guyton ve Hall 1996).

Trombositler çekirdeksiz olmasına rağmen, elektron mikroskopisi normal hemostazı sürdürmede önemli olan organelleri içeren sitoplazmayı gösterir (White ve Gerrard 1976). Trombositler alfa, beta, lambda olmak üzere 3 granül, mitokondri ve 2 membran yüzeyine sahiptir. Yaşamları boyunca büyüme faktörleri sentezlerler ve bunları pıhtılaşmaya cevap olarak aktif bir şekilde salgırlar. Yara alanında toplanarak hemostazı başlatmak ve desteklemek için aktivasyonları şarttır. Bu küçük hücreler sünger şeklinde tanımlanabilir ve hemorajiyi önlemek için kompleks biokimyasal ve moleküler aktiviteleri olduğu bilinmektedir (Adelson ve ark. 1961). İlk kez 1860'da Zimmerman, 1865'de Manschultz tarafından tanımlanmış ve kanın pıhtılaşmasındaki rolü 1878'de Zimmerman ve Haryan tarafından ortaya konmuştur (Lee ve ark 1993). İlk önceleri cansız hücre parçaları olarak tanınmasına rağmen, aktif hücreler olduğu ve megakaryositler tarafından yapıldığı ilk kez 1882'de Bizzazereo tarafından tanımlanmıştır (Anitua ve ark. 2004, Conley 2004). Trombositler içinde bulunan dens granüller diğer trombositlerin potent aktivatörü ve toplayıcısı olan adenzin difosfatı (ADP) depolar ve salgırlar. Lambda granüller lizozomlara benzer ve çeşitli hidrolitik enzimleri içerir. Alfa granüllerde ise büyüme faktörleri depolanır. Her bir trombosit 50-80 arasında yaklaşık 30'un üstünde biyoaktif protein içeren alfa granül bulundurur (Harrison ve Cramer 1993, Lee ve ark. 1993). Degranülasyonları sonucu yara iyileşmesinin ilk fazını başlatan sitokin ve büyüme faktörlerinin fibrin matrisi içinde salınımını sağlar. Trombositlerden salgılanan büyüme faktörleri ile anjiyogenez uyarılır, hücre farklılaşması ve nekrotik doku atımını sağlayarak yara iyileşmesini sağlar, doku rejenerasyonunu hızlandırır. Bunlara ek olarak trombositler koagülasyon faktörlerinin yani serotonin histamin, endostatin ve hidrolitik enzim salınımını yapar (Hom 2008). Çalışmalar trombositlerin özellikle TZF pıhtı ve kırmızı kan hücrelerinin yoğun olduğu kırmızı pıhtı bileşiminde yoğun olduğunu göstermiştir (Jang ve ark. 2010).

Trombosit aktivasyonu yara ile temas etmesiyle başlar ve yara alanında fibrin iskelet oluşur. Trombositlerin fibrinojeni aktive etmesi ile yara alanında fibrin pıhtısı oluşarak hemostaz sağlanır (Choukroun ve ark. 2001).

## 2.4 Trombosit Büyüme Faktörleri

Aktive trombositlerin alfa granüllerinden salınan büyüme faktörleri yara iyileşmesini modüle ederler. Trombositlerden çok sayıda büyüme faktörü salgılanmaktadır. Bunlardan başlıcaları; Trombositten Köken Alan Büyüme Faktörü (TKABF), Transforme Edici Büyüme Faktörü (TEBF), Trombosit Faktör 4, Trombosit Kaynaklı Anjiyogenez Faktör (TKAF), Damarsal Endotelial Büyüme Faktörü (DEBF), Epidermal Büyüme Faktörü (EBF), Epitelial Hücre Büyüme Faktörü (EHBF), İnsülin Benzeri Büyüme Faktör (İBBF), Basık Fibroblast Büyüme Faktörü (BFBF) (bFGF), Bağ doku Büyüme Faktörü (BBF) , Osteokalsin (Oc), Osteonektin (On), Fibrinojen (Ff), Vitronektin (Vn), Fibronektin (Fn), Trombospondin-1 (TSP-1) diye adlandırılırlar. Salgılanan bu faktörlerle hücre bölünmesi, proliferasyonu olur ve kolajen sentezi artar (Nurden ve ark. 2008, Lynch ve ark. 1999, Liu ve ark. 2008, Kaunshasky ve ark. 2010).

TKABF'ler (TKABF<sub>aa</sub>, TKABF<sub>bb</sub> ve TKABF<sub>ab</sub>) yara iyileşmesinde en fazla bilinen büyüme faktörleridir. Mezenkimal kök hücre, osteoblast, endotel hücreleri ve fibroblastların replikasyonunu stimüle ederler. Monositler, nötrofiller ve fibroblastlar, mezenkimal kök hücreleri ve osteoblastlar üzerine kemotaktik etkileri vardır. Yara iyileşmesinin tüm fazlarında (anjiyogenezis, fibröz doku formasyonu ve reepitelizasyon) fibroblast ve düz kas hücreleri üzerinde güçlü mitojen etkileri vardır (Jaehoon ve ark. 2012).

TEBF'ler, özellikle TEBF beta -1 ve beta-2 fibroblast, düz kas hücreleri ve osteoblastların replikasyonunu ve matriks üretimini stimüle ederler. Kartilaj veya kemik farklılaşmasında da kılavuzluk yaparlar. Bu nedenle morfojenler olarak da bilinirler (Kaushansky ve ark. 2010).

DEBF endotel hücre stimülasyonu ve anjiyogeneziste önemlidir, DEBF fibroblast, endotel hücreleri ve keratinositler için mitojen iken (İBBF'nin kemik iyileşmesinde ve hücre apoptozunun modülasyonunda önemli etkileri vardır (Maes ve ark. 2002, Spencer ve ark. 1993).

Yaşa ve sağlık durumuna göre salınım miktarları değişiklik göstermektedir. ELISA tekniği kullanılarak büyüme faktörlerinin seviyeleri belirlenebilmektedir (Alkan ve Esen 2005).

#### **2.4.1 Trombositten Köken Alan Büyüme Faktörü (TKABF)**

Mezenkimal hücrelerin göçü ve çoğalması için gereklidir. Hücrelerin gelişimini uyarabildikleri gibi inhibe de edebilirler. Embriyonik gelişim ve doku yenilenme mekanizmalarında rol alırlar. TKABF'ler fizyolojik iyileşme ve ateroskleroz patogeneğinde ve birçok diğer fibroproliferatif hastalıkta kritik role sahiptir.

(TKABF) 30.000 dalton ağırlığındadır. 2 polipeptid zincirinden oluşan bir moleküldür. TKABF endotelial hücreler, monosit, makrofaj ve trombositlerden izole edilmiştir. Ancak TKABF'nin asıl kaynağı trombositlerdeki  $\alpha$  granülleridir. TKABF mezenkimal orijinli fibroblast, makrofaj, nötrofil, glial, düz kas ve kemik hücrelerini stimüle eder. TKABF mitojenik ve kemotaktik aktiviteleri ile kolajen sentezi, fibroblast kemotaksis ve proliferasyonu, makrofaj aktivasyonunu sağlar, bağ dokusu büyümesini ve protein sentezini stimüle ederek yara iyileşmesinde önemli rol oynar (Dohan ve ark. 2006b).

#### **2.4.2 İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (İBBF)**

Hücre koruyucu ajandır. İnsülin benzeri büyüme faktörleri tümör hücreleri dahil birçok hücrenin farklılaşması ve çoğalması için pozitif düzenleyici ajanlardır. Bu sitokinler hücreler için çoğalma mediatörleri olmalarına rağmen, hücreleri matriksteki birçok apoptotik uyarandan koruyan sinyaller üreterek apoptozu düzenleyen en önemli sitokinlerdir.

İBBF'ler trombositlerden salgılanmalarına rağmen, dolaşımdaki kanda yüksek oranda bulunurlar. İBBF-I dışında diğer büyüme faktörlerinin miktarları TZP'de TZF'ye oranla daha fazla bulunmuştur. Fakat TZP'de sitokin ve büyüme faktörlerinin uzun süreli yavaş salınımı söz konusu değildir. Salınımları hızlı ve ömürleri kısadır (Trippel 1998).

İnsülin benzeri büyüme faktör (İBBF-I ve İBBF-II) tek zincirli serum proteinleridir. İBBF -I ve II birbirleri ile %62 homoloji gösterir ve karaciğer, plasenta, kemik ve düz kas gibi dokularda sentezlenir. Kondrosit, makrofaj, trombosit, osteoblasttan İBBF izole edilmiştir. Hedef hücreleri kondrosit, fibroblast ve osteoblastlardır. Osteoblast proliferasyonu, osteoblast sentezi ve anjiogenezden sorumludur. Kemik hücreleri, inaktif formdaki İBBF'ler için bir depodur. İBBF'ler mitojenik büyüme faktörleridir. Fibroblast kökenli dokuların rejenerasyonunda ilerletici faktör olarak rol alırlar. Kemik hücrelerinde İBBF'ler pre osteoblastların hem proliferasyonu hem de osteoblastlara farklılaşmasını aktive ederler. Böylece sentezlenen kemikteki hücre sayısını ve her bir hücrede depolanan ekstraselüler matriks miktarını arttırlar (Dohan ve ark. 2006b, Trippel 1998).

### **2.4.3 Transforme Edici Büyüme Faktörü (TEBF)**

TEBF  $\beta$ , 30'dan fazla üyesi olan çok geniş bir süper ailedir. En çok üretilen izoformu TEBF - $\beta$ 1dir.

Sadece trombositlerin alfa granüllerinden değil, hücreler arası iletişimde de üretilir. Etkileri, uygulanan miktar, matriks çevresi ve hücre tipine göre değişkenlik gösterir. Tüm sitokinler arasında en kuvvetli fibrozis ajanıdır. Osteoblast ve fibroblastlarda kolajen-1 üretimini artırır.

Transforme edici büyüme faktörü alfa (TEBF-  $\alpha$ ) ve beta (TEBF-  $\beta$ ) sağlıklı ve neoplastik dokularda izole edilmektedir. TEBF- $\alpha$  tek zincirli bir polipeptid, TEBF- $\beta$  iki aminoasit zincirine sahip bir polipeptittir. TEBF- $\beta$  makrofaj, monosit, nötrofil, T-lenfosit ve trombositlerden izole edilse de ana kaynağı trombositlerdir. Kemik iliği hücreleri, preosteoblastlar, fibroblast ve endotelyal hücreler hedef alanlardır. Kolajen sentezi, kolajenaz kontrolü, osteoblast, fibroblast proliferasyonu ve anjiogenezden sorumludur. Hücre replikasyonu ve farklılaşması için majör düzenleyici olan TEBF - $\beta$  dir. Matriks sentezini artırır. Kemik hücreleri için kemotaktiktir. Ayrıca tip 1 kolajen ve fibronektin biyosentezini artırır, kemik matriks depozisyonunu indükler. TEBF- $\beta$ 'nin kemik hücre proliferasyonunda, hücrelerin farklılaşma durumu, kültür koşulları ve konsantrasyona bağlı olarak, artış ve azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. İn vitro olarak kemik yakınına enjekte edilen TEBF, yeni kıkırdak veya kemik oluşumunu



arttırırken uzağa enjekte edildiğinde, yeni kemik oluşumunu hızlandırmadığı gösterilmiştir (Dereka 2006).

#### **2.4.4 Epidermal Büyüme Faktörü (EBF)**

Epidermal büyüme faktörü (EBF) yapısal olarak TEBF- $\alpha$  ile benzerdir. EBF'nin asıl kaynağı üriner ve tükürük bezleridir. Ayrıca trombositler ile serebrospinal ve amniyotik sıvılardan da izole edilebilmektedir. EBF, epitelyum, endotel, mezodermal kaynaklı hücrelerde hücre büyümesini uyarır (Dohan ve ark. 2006b).

#### **2.4.5 Damarsal Endotelyal Büyüme Faktörü (DEBF)**

Vaskülogenezis ve anjiogenezis olaylarında ana düzenleyici görevi görmektedir. Keratinosit ve makrofajlardan izole edilmiştir. Endotelyal hücreler hedef alanlardır. Anjiyogenezden sorumludur (Lynch ve ark. 1999, Lee ve ark. 2007).

#### **2.4.6 Fibroblast Büyüme faktörü (FBF)**

Endotelyal hücreler ve makrofajlardan kaynaklanmaktadır. Endotelyal hücreler, fibroblastlar ve keratinositler hedef hücrelerdir. Fibroblast kemotaksis ve proliferasyonu ve anjiyogenezde rol almaktadır (Globus ve ark. 1989).

#### **2.4.7ADP (Adenozin Difosfat) ve ATP (Adenozin Trifosfat)**

TZP içerisinde yüksek miktarda ADP ve ATP bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda ADP ve ATP'nin osteoblast proliferasyonunu arttırdığı bildirilmiştir (Morisson ve ark. 1998).

#### **2.4.8 Anjiopoetin-2**

Anjiopoetin-2 vasküler endotelin iyileşmesini hızlandıran büyüme faktörüdür. Anjiopoetin, endotel proliferasyonunu arttırmaz ancak damar destabilizasyonunu ve remodelasyonunu sağlamaktadır (Jang ve ark 2003).

#### **2.4.9 Faktör V, XI, XIII, Fibrinojen, Von Willebrand Faktör**

Faktör V, XI, XIII, fibrinojen ve Von Willebrand faktör pıhtılaşma mekanizmasında, pıhtının oluşmasında dolayısıyla doku iyileşmesinin başlamasında ana rolü üstlenmektedir (Jang ve ark. 2003).

#### **2.4.10 Fibronektin**

Hücre adezyonu, kemik dokusunun iyileşmesinde rol oynamaktadır. Adeziv etkisi göstermektedir. Osteoblastların proliferasyonunu ve differansiasyonunu arttırmakta ve osteoblastların hayatta kalmasını sağlamaktadır (Zimmerman ve ark. 2000, Intini 2009).

#### **2.4.11 Osteokalsin**

Moleküler ağırlığı küçük bir moleküldür. Osteokalsinin, osteoblast ve odontoblastlardan salgılandığı bildirilmektedir ancak megakaryosit ve trombosit içerisinde de bulunduğu bildirilmiştir. Osteokalsinin kemik rejenerasyonu üzerindeki olumlu ya da olumsuz etkilerini gösteren bir çalışma bulunmamasına rağmen osteokalsinin kemik regülasyonunu artırdığı düşünülmektedir (Price 1985, Intini 2009).

#### **2.4.12 Serotonin**

Serotonin; vücutta nörotransmitter madde olarak ekstrasöral olaylarda hormon olarak görev yapmaktadır. Santral sinir sistemi, karaciğer gibi dokularda mitojenik aktiviteyi arttırmaktadır. Yapılan çalışmalarda kemik dokusu içerisinde de serotonin olduğu ve osteoblast proliferasyonunu artırdığı bildirilmiştir (Vitalis ve Parnavelas 2003, Gustafsson ve ark. 2006, Intini 2009).

#### **2.4.13 Sitokinler**

Enflamatuvar sitokinler: Enflamasyonda rol alan sitokinlerin sayısı oldukça çoktur. Bunlardan en önemlileri IL-1B, IL-6 ve TNF-a'dır. IL-1B enflamasyon kontrolünde kilit role sahiptir (Dinarello CA ve ark 2004).

İyileşme sitokinleri, iki açıdan değerlendirilir:

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

-Damar yapıları gibi başlangıç iyileşme yapılarının gelişiminin düzenlenmesi ve artırılması: Bu da DEBF'nin işlevidir (Dinarello ve ark. 2004).

#### **2.4.14 Fibrin**

Çözünebilen molekül olan fibrin hem plazmada hem de trombositlerin alfa granüllerinde bulunmaktadır. Hemostaz esnasında trombosit agregasyonunda önemli rol oynamaktadır. Fibrin kaynaklı adezivler doğal hemostatik ajan olarak kullanılmaktadır. Endüstriyel üretilen bazı fibrin adezivlerinde düşük riskli viral kontaminasyon riskinin bulunması TZP gibi otojen fibrin adezivlerin arayışına neden olmuştur. TZF'de bulunan maddeler yumuşak doku iyileşmesi ve olgunlaşmasının üç

fenomeni olan anjiogenezis, immünite ve epitelyal kapanmayı destekler. Anjiogenezis yara içinde yeni kan damarlarının oluşumudur. Fibrin anjiogenezis için de doğal bir rehberdir. Fibrin matriksin direk olarak anjiogenezisi yönlendirdiği gösterilmiştir (Dohan ve ark. 2006c).

Fibrin matriksin anjiogenezis özelliği, fibrin jelin 3 boyutlu yapısı ve ağda hapis olan sitokinlerin aktiviteleri ile açıklanır. Ayrıca anjiogenezisin temel çözünebilen faktörleri olan bazik fibroblast büyüme faktörü (BFBF), DEBF, anjiopietin ve TKABF fibrin jelde bulunur. B-FGF ve TKABF'nin fibrine afinitesinin yüksek olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Feng ve ark. 1999, Sahni ve ark. 1998).

#### **2.4.15 Dolaşımdaki Kök Hücreler**

Kemik iliğinden köken alan mezenkimal hücreler birçok dokunun rejenerasyonuna katılır. Bu farklılaşmamış hücreler kan yoluyla yara alanına ulaşır ve farklı hücre tiplerine dönüşürler. Başlangıçta bu farklılaşma fibrin ve fibronektin tarafından oluşturulan geçici yara matriksinde meydana gelir. Bu nedenle bu hücrelerin transplantasyonunda fibrin, destekleyici matriks olarak kullanılır (Bensaïd ve ark. 2003, Boo ve ark. 2002, Yamada ve ark. 2003)

#### **2.5 Trombositlerin Greft Vaskülarizasyonundaki Rolü**

Trombositlerden salınan büyüme faktörlerinin aktivasyonu ile osteoblastların sayıları artar ve greft alanında toplanmaya başlar. Vasküler hücrelerin göçü alanda anjiogenezisi başlatır. TEBF-B ile fibroblast ve preosteoblastların sayıları artar ve hücre farklılaşması gerçekleşir. TEBF-B salınımı kemik matriksi oluşumunu ve fibroblastları etkileyerek kolajen matriks oluşumunu artırır. Üçüncü günde damarlar greft içine penetre olmaya başlar ve 14-17 günde greftlenen bölgenin damar ağı

tamamen oluşur. Sürecin ilk aşamaları oldukça hızlı ilerler (Yu ve ark. 1997, Marx ve ark. 1998).

Trombositlerin ömürleri kısadır ve bu durum salınan büyüme faktörlerinin işlev sürecini etkilemektedir. TKABF'nin etkisi ile makrofajlar grefte tutunur, sağlıklı komşu doku arasında oksijen değişimi oluşur. TKABF'nin etkisi azalır makrofaj kaynaklı büyüme faktörleri ve anjiyojenik faktörler bölgede etkin olur. Kemik iliği kök hücreleri, otokrin etki ile TEBF-B salgılamaya devam eder (Pierce ve ark 1992).

Greft revaskülarizasyonu dördüncü haftada tamamlanır. Olgunlaşmamış osteoid doku oluşumu gözlenir. Kemik morfogenetik protein (KMP) osteoid dokudan salınan proteinler olup olgun lamellar kemiğin oluşmasında etkindir. KMP'ler hücre farklılaşması, kemik ağının sentez ve mineralizasyonundan da sorumludur (Lynch ve ark. 1999, Öztürk ve Bozkurt 2005).

TZF'nin içeriği sayesinde kemik defekt onarımında tek başına ya da greft materyali ile kombine kullanımında kemik gelişimini uyaracağı düşünülmektedir.

## **2.6 Trombositten Zengin Fibrin (TZF)**

Trombositten zengin fibrin 2001 yılında Fransa'da Choukroun tarafından geliştirilen ikinci nesil trombosit konsantrasyonudur. TZF yapısında bol miktarda trombosit ve lökosit içeren fibrin yapısıdır (Dohan ve ark 2006a, Choukroun ve ark 2001).

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.

Fibrin matriks, TZF'nin gerçek terapötik potansiyelinden sorumlu belirleyici unsuru oluşturmaktadır (Toffler ve ark. 2009).

Trombosit konsantrasyonları başlangıçta trombopeni kaynaklı kanamaları durdurmada ve bu hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır. İlk kez 1944 yılında yara iyileşmesini başlatmak için konsantre fibrinojenden oluşan fibrin yapıştırıcıları kullanılmaya başlanmıştır (Raja ve Naidu 2008, Dohan ve ark. 2009a).

TZF hazırlanması sırasında trombin kullanılmaması sonucunda fibrin dokusu doğal fibrin yapısına sahip olup bu sayede büyüme faktörlerinin proteolizi önlenmiştir (Ling ve ark. 2009, Koçyiğit ve ark. 2012).

TZF den uzun süreli salınan büyüme faktörlerinin kemik rejenerasyonunda TZP den daha etkili olduğu bulunmuştur (Ling ve ark.2009).

TZF yapısında büyüme faktörleri, nötrofil ve lökosit bulunmaktadır. Kan örnekleri içerisindeki trombositlerin %97 si ve lökositlerin %50 si TZF içerisinde hapis olmaktadır. TZF içerisinde bulunan lenfositler enflamatuar reaksiyonların düzenlenmesinde etkindir. Lökosit ve trombositlerin TZF membran içerisinde dağılımları homojen değildir. Bu nedenle membran olarak kullanılacak TZF üzerinde bir miktar kan bırakılarak kullanılması önerilmektedir. İçeriği sayesinde TZF yara iyileşmesini hızlandırmanın yanı sıra immun sistemi desteklediği bildirilmiştir (Choukroun ve ark. 2006a, Dohan ve ark. 2006c).

TZF içerdiği büyüme faktörleri sayesinde oral ve maksillofasiyal cerrahide sealant, greft materyali ve membran olarak kullanılabilir (Şençimen ve ark.2009).

Trombositler; pıhtılaşmada önemli rolü olan ve damar yaralanmaları sırasında fazla kan kaybını engelleyen hücrelerdir. Trombositler, kemik rejenerasyonunu ve yumuşak doku matürasyonunu sağlayan çok sayıda sitokin ve büyüme faktörü içerirler. Kilit büyüme faktörlerden TKABF-AB (Trombositten köken alan büyüme faktörü- AB), TEBF B-1 (Transforme edici büyüme faktörü B-1), DEBF trombositlerde yoğun olarak bulunur. Bu büyüme faktörlerinin hücre çoğalmasını, matriks remodelasyonunu ve anjiyogenezisi stimule etme potansiyelleri vardır (Aroca ve ark. 2009).

TZF hazırlanırken biyokimyasal işleme gerek duyulmaz, basit bir işlemdir. TZP hazırlanması için özel donanıma ihtiyaç duyulurken TZF için özel bir donanım gereksinimi yoktur. TZF hazırlanma süresi TZP ye göre daha kısa ve tek santrifüj işlemine tabi olması TZF'nin maliyetini uygun hale getirmiştir. Sığır trombinine ve antikoagulan madde kullanımına gerek duyulmaz, yavaş polimerizasyon ile başarılı iyileşme sağlar, daha etkili hücre migrasyonu ve polimerizasyonu sağlanır, TZF'nin immun sistemi destekleyici ve hemostaz etkisi bulunmaktadır. TZP içeriğindeki büyüme faktörlerini çok hızlı salgılamaktadır bu durum trombinin toksik etki yaratmasına neden olur. TZP ve TZF'nin salgıladığı büyüme faktör miktarı aynı

olmasına rağmen TZF de salının daha yavaş olmaktadır. TZP 7 gün süre ile büyüme faktörü salınımı yaparken TZF 14 gün süre ile bu salınımı gerçekleştirir. Uzun etki süresine sahip olan TZF'nin kemik rejenerasyonunda daha etkin olacağı düşünülmektedir (Toffler ve ark. 2009).

### **2.6.1 TZF'nin İçeriği**

TZF'de kanda standart olarak bulunan tüm bileşenler vardır. Bunlar başlıca;

- Trombositler
- Trombosit büyüme faktörleri
- Lökositler
- Sitokinler
- Fibrin
- Dolaşımdaki kök hücrelerdir (Balcı ve Toker 2012).

### **2.6.2 TZF'nin İyileşme Mekanizmasına Etkisi**

TZF doğal fibrin kaynaklı biyomateriyaldir. Yerleştiği bölgede mikrovaskülarizasyon ve epitelyum hücre göçünü sağlar. Bu sayede açık yaralarda yara iyileşmesini hızlandırır (Dohan DM ve ark 2006b)

TZF, tetra moleküler yapısı ile endotel hücreler ve fibroblastlar için matriks oluşturur. Anjiogenezisi hızlandırır ve fibrinin kolay remodelasyonunu sağlar. TZF sadece basit bir fibrin yapı değil aynı zamanda iyileşmeyi sağlayan tüm molekülleri ve hücresel elemanları içeriğinde bulunduran bir matrikstir (Choukroun ve ark. 2006b).

Özgül ve ark. tarafından yapılan gömülü yirmi yaş dişlerinin çekimi sonrası uygulanan TZF'nin ödem ve ağrı üzerine etkisini inceledikleri çalışmada TZF uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla daha az ödem olduğu, ağrı skalasında gruplar arası fark olmadığı bulunmuştur (Özgül ve ark. 2015).

### 2.6.3 TZF'nin Avantaj ve Dezavantajları

TZF'nin doğal yavaş polimerize olarak herhangi bir otoimmün reaksiyona yol açmaması, alıcı ya da verici sahada enfeksiyon riski oluşturmaması, 28 gün boyunca büyüme faktörü salınımı yaparak kemik mezenkimal kök hücre çoğalmasında ve farklılaşmasında etkili olması avantajları arasındadır. Kullanımı sonrası alıcı sahada kanamayı azaltır. Yapıştırıcı etkisi ile greft materyalinin stabilitesini artırır. Toksik değildir. Bünyesinde barındırdığı büyüme faktörleri ile vaskülarizasyonu hızlandırır. Otojen kandan elde edildiği için immunojenik alerjik reaksiyonlara neden olmaz, enfeksiyöz hastalık geçişi oluşturmaz (Dohan ve ark.2009a). Ayrıca ekonomik ve kolay uygulanabilir bir yöntem olarak dikkat çekmektedir.

Bireyin kendisinden elde edildiği için az miktarda ürün elde edilmesi ve sadece verici kişiye spesifik olmasından dolayı doku bankalarının kullanımına izin vermemesi gibi dezavantajları da bulunmaktadır (Dohan ve ark. 2010a).

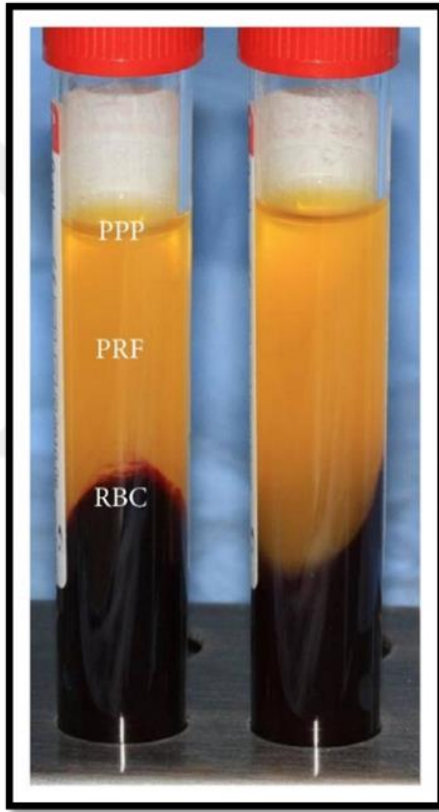
### 2.6.4 TZF'nin Hazırlanması

Hastadan herhangi bir antikoagülan içermeyen 10 ml'lik cam kaplı silikon ya da cam tüpe 18 numara kanül çapı 1.20 mm, kanül uzunluğu 45mm yeşil intraket ya da 20 numara kanül çapı 1.11 mm kanül uzunluğu 32 mm pembe intraket yardımıyla venöz kan alınır. Antikoagulan yokluğunda trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu hemen tetikleneceğinden, vakit geçirilmeden tüp daha önce 3000 rpm'e ayarlanmış santrifüje yerleştirilerek 10 dk. ya da 2700 rpm'e ayarlanmış santrifüje yerleştirilerek 12 dk. (yaklaşık 400 G) santrifüj edilir.

Santrifüj sonunda tüp içerisinde 3 ayrı tabaka gözlenir; üst kısımda trombositten fakir aselüler plazma, orta kısımda trombositten zengin fibrin (TZF) ve alt kısımda kırmızı kan hücreleri toplanır (Şekil 1). Daha sonra bir presel yardımıyla TZF ve kırmızı kan hücreleri tüpten çıkartılır. Bir makas veya bistüri yardımıyla kırmızı kan



hücreleri TZF'den kolaylıkla ayrılır. İki spanç arasında fibrin pıhtının serumu alınırsa geriye oldukça dirençli otolog fibrin membran kalacaktır. Ancak spanç yerine TZF kutusu da kullanılabilir (Şekil 2). Pıhtı TZF kutusundaki yerine yerleştirilir ve kapağı kapatılır. TZF kutusu membranları sürekli aynı kalınlıkta üretecek ve saklayacak şekilde tasarlanmıştır. Serum eksuda TZF kutusunun alt kısmında toplanır ve greft materyallerini hidrate etmek, cerrahi sahayı yıkamak veya otolog greftleri saklamak için kullanılabilir (Toffler ve ark. 2009).



**Şekil 1:** Santrifüj sonunda tüp içerisinde gözlenen 3 ayrı tabaka



**Şekil 2:** TZF Kutusu

### **2.6.5 TZF'nin Kullanım Alanları**

Diş hekimliğinde TZF'nin ve TZF membranının potansiyel kullanım alanları yumuşak doku iyileşmesinin güçlendirilmesi, kemik greftleri ile birlikte yönlendirilmiş doku ve kemik rejenerasyon uygulamaları, sinüs membran perforasyonlarının kapatılması veya tek başına sinüs lift uygulamalarında osteokondüktif greft materyali olarak kullanılması sayılabilir (David ve ark. 2010, Zucchelli ve ark. 2000, Han ve ark. 2008). TZF ayrıca kazanılmış ya da oluşturulmuş kemik defektlerinin tamirinde kullanılabileceği gibi dental implantların çevresinde oluşabilecek primer veya sekonder kemik kayıplarında da kullanım alanı bulunmuştur (Jang ve ark. 2010).

TZF oral ve maksillofasial cerrahide; doku iyileşmesini hızlandırmak amacıyla, diş çekimi sonrasında, kist enükleasyonu sonrasında, kemik defektlerinin greftlenmesinde greft materyali ya da membran olarak kullanılmaktadır (Choukroun ve ark.2006a, Choukroun ve ark. 2006b).

### 2.6.6 TZF'nin Diş Çekimi Sonrasında Kullanımı

Yapılan çalışmalar çekim sonrası soket içerisine uygulanan TZF'nin post operatif ağrı oluşumunu azalttığı, çalışma grubunda alveolit ve iltihabi reaksiyonlar gözlenmediği kaydedilmiştir. TZF soket içerisinde vaskülarizasyonu hızlandırarak epitel oluşumunu hızlandırmaktadır (Choukroun ve ark. 2006a).

Donald ve ark. 100 hastada ve 200 mandibular 3. molar diş çekimi sonrası TZF uygulanan ve uygulanmayan hastalarda yapmış oldukları çalışmada TZF uygulanan grupta %1 lokalize osteitis (LO) gözlenirken TZF uygulanmayan grupta %9,5 LO gözlenmiştir. Yapılan bu çalışmada düşük maliyetle, çözünebilir biyolojik materyal olan TZF ile LO oluşumunu önlemede ve tedavisinde başarılı olabileceği gösterilmiştir (Donald ve Gary 2013).

Özgül ve ark. 56 hastada mandibular gömülü yirmi yaş diş çekimi sonrası TZF uygulanan ve uygulanmayan hastalarda yaptıkları çalışmada TZF uygulanan grupta ödemin kontrol grubuna kıyasla daha az olduğunu ve TZF'nin gömülü diş çekimi sonrası rutin olarak uygulanabileceğini belirtmiştir (Özgül ve ark 2015).

Kardiyovasküler operasyon geçirmiş hastalar özellikle oral antikoagulan medikasyon alan hastalarda diş çekimi sonrası kanama sık karşılaşılan komplikasyonlardandır.

Bu komplikasyonları önlemek amacıyla lokal antifibrinolitik terapi ve hemostatik ajan kullanımı, traneksamik asit antifibrinolitik lokal ajan kullanımı, fibrin yapıştırıcıların kullanımı postoperatif dönemde önerilmiştir. Ancak yüksek maliyet nedeniyle son dönemlerde TZP kullanımı ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Della ve ark. 2003). TZF'nin TZP ye kıyasla daha yoğun fibrin yapısı ve içeriğindeki matriks hücre ve büyüme faktörlerindeki farklılıklar nedeniyle antikoagulan ya da aktivatör kullanmadan daha yoğun trombosit-fibrin jel kullanımı çekim soketlerinde kullanımını gündeme getirmiştir (Dohan ve ark 2009b, Dohan ve ark. 2010b).

### **2.6.7 TZF'nin Sinir Rejenerasyonunda Etkisi**

Periferik sinir hasarlarında cerrahi müdahale olmadan nadiren fonksiyonel tamir süreci gözlenmektedir. Ufak boşlukların olduğu sinir hasarlarında primer tamir ile başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Ancak sinir dokusunun hasarı ile oluşabilecek büyük boşlukların onarımında otojen sinir greftleri gerekmektedir. Limitli donör sinir elde edilmesi, alıcı sahada sinir kaybının oluşması ve ek cerrahi işlem gerektirmesi nedeniyle sinir onarımı için alternatif yöntemler araştırılmıştır.

Sariguney ve ark. siyatik sinir rejenerasyonunda TZP'nin etkin olduğunu göstermiştir (Sariguney ve ark. 2008). Ancak Piskin ve ark. TZP'nin periferik sinir hasarında akson rejenerasyonunda etkisiz olduğu görüşünü ileri sürmüşlerdir. (Piskin ve ark. 2009).

Lichtenfels ve ark. yaptıkları çalışmada 30 rat siyatik sinirinde otojen sinir greftinin (OSG) yapıldığı grupta 10 mm eksizyon yapıp reimplante edilmiş. Silikon tüp ve salin solüsyonu (SS), silikon tüp ve TZP, silikon tüp ve TZF, OSG gruplarında 5mm lik sinir eksizyonu yapıp 10 mm boşluk oluşumu sağlanmış. 90 gün sonra yapılan histolojik incelemelerde akson çapında ve miyelin kılıf kalınlığında gruplar arasında fark saptanmamıştır. OSG grubunda sinir fiber çapı diğer gruplara kıyasla daha fazla bulunmuştur. Yapılan bu çalışma TZP ve TZF'nin fonksiyonel sinir tamirinde pozitif etkisinin olduğunu bildirmektedir (Lichtenfels ve ark. 2013).

### **2.6.8 TZF'nin Kist Enükleasyonu Sonrasında Kullanımı**

Herhangi bir biyomateryal kullanımı olmaksızın kist enükleasyonu sonucu kemik defektinde meydana gelen iyileşme kan pıhtısı ile gerçekleşmektedir. Oluşan defektlerde iyileşmeyi hızlandırmak amacıyla iyi organize olmuş trombosit ve lökosit konsantrasyonları yüksek TZF'nin kullanımı ile daha kısa sürede iyileşmenin tamamlanacağı gösterilmiştir. Kist kavitesi TZF ile doldurulduğunda iyileşme süreci başlar. İyi organize olan TZF kök hücrelerin alana yönlendirilmesini sağlar ve iyileşme süreci başlar. TZF ile doldurulan kist kaviteleri 6-12 aylık fizyolojik iyileşme süresini kısaltıp bölgenin 2 aylık bir süreçte iyileşmesini sağlar (Choukroun ve ark. 2006a).

### **2.6.9 TZF'nin Greft Materyali ile Kombine Olarak Kullanımı**

Lee ve ark. tavşan kalvaryasında oluşturulan defekt alanında yaptıkları çalışmada 1 hafta sonra bilgisayarlı tomografi ve histomorfometrik analizle defekt alanını değerlendirdiklerinde TZF ile rekonstrükte edilen defekt alanında rekonstrükte edilmeyen alana kıyasla kemik iyileşmesinin daha hızlı olduğu sonucuna varılmıştır (Lee ve ark. 2010).

Jang ve ark. tavşanlarda implant ve kemik arasına yerleştirilen TZF'nin yerleştirilmeyen kontrol grubuna kıyasla etkisinin incelendiği çalışmada 8 hafta sonra yapılan histomorfometrik incelemelerde TZF uygulanan grupta yeni kemik oluşumunu % 43,07 kontrol grubunda ise % 15,37 olduğu gözlenmiştir. İmplant kemik arasındaki kontakt TZF uygulanan grupta daha yüksek bulunmuştur. Diş çekiminden hemen sonra implant yerleştirilecek olgularda oluşan defektler TZF ve silk fibrin kullanılarak kapatıldığında başarılı sonuçlar elde edilebileceği sonucuna varılmıştır (Jang ve ark. 2010).

### **2.6.10 TZF' nin Membran Olarak Kullanımı**

TZF yapısı gereği membran olarak kullanılabilir. Fibrin matrikste hapsolmuş sıvıların uzaklaştırılması ile yüksek dirençli otolog membranlar elde edilmektedir. Rekonstrükte edilen bölgede greftin ekspoz olmasında rezorpsiyonu hızlandırmaktadır. Greft materyalinin üzerinin fibrin dokusu ile örtülmesi greftin ekspoz olmasını dolayısıyla rezorpsiyonu önlemektedir (Şençimen ve ark.2009).

Çalışmalarla kanıtlanmış birçok avantajlarına rağmen TZF'nin yumuşak ve sert dokuda ne kadar süre etki ettiği, elde edilen membran kalınlığının farklı cerrahiler için yeterli olup olmadığını, farklı işlemlerde membran katman sayısının artırılması gerekliliğini araştırarak farklı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

### **2.6.11 TZF'nin Sinüs Cerrahisinde Kullanımı**

Kemik greft iyileşmesinde periostun önemi bilinmektedir ayrıca iyileşmenin oluşması inner kambiumdaki mezenkimal kök hücrelerinin kemik hücrelerine dönüşmesi ile sağlanır (Kostopoulos ve Karring 1995). Yapılan in vitro çalışmalar periosteal hücre proliferasyonunun TZF kullanımında kolajen membranlara kıyasla daha fazla olduğunu göstermiştir (Gassling ve ark. 2010).

Sert doku iyileşmesi uyarıcı proteinler aracılığıyla hücre içi ve hücre dışında meydana gelen olaylarla oluşur. Sinüs taban elevasyonlarında greft materyali ile kombine kullanılan TZF'nin hızlı kemik oluşumu sağladığı görülmüştür (Dohan ve ark 2006c, Dohan ve ark 2009b, He ve ark 2009).

TZF'nin kemik osteoblast büyüme ve salınımını sağladığını gösterse de altta yatan mekanizma henüz tanımlanamamıştır (Tsai ve ark. 2009, Chang ve ark. 2010).

### **2.6. 12 TZF'nin Dermal Ogmentasyonda Kullanımı**

Enjekte edilebilen dermal dolgu maddeleri enkapsülasyon, granüloma oluşumu, fibrotik doku yanıtı, kronik ya da gecikmiş enfeksiyonlara neden olabilmektedir. Olası komplikasyonları önlemek için otojen dolgu madde gereksinimi doğmaktadır. Kalsiyum klorit ile işleme tabi olan TZF 10 dakika likit formda durabilmekte ve dermal enjeksiyonlar için 3.0 gauge iğne ile uygulanmaktadır. TZF polimerizasyonu yavaş olmakla beraber vücut ısısı arttıkça polimerizasyonun hızlandığı görülmektedir.

Yapılan klinik çalışmalarda nazolabial sulkusun TZF kullanılarak ogmente edilmesi ile 1. hafta içerisinde bölgeye uygulanan TZF de rezorpsiyon gözlenmiş tekniğin etkisinin 9 aylık takiplerde devam ettiği gözlenmiştir. Bu teknikte intradermal olarak TZF bölgeye enjekte edilmektedir. Enjeksiyondan sonra bölgede birkaç gün süre ile ekimoz ve ödem gözlenmektedir. Tedaviden 1-2 hafta sonra bölgede ciddi bir kozmetik gelişme olduğu kaydedilmektedir (Sclafani 2009).

### **2.6.13 TZF'nin Sivilce ve Skar Tedavisinde Kullanımı**

Sivilce skar dokusunun tedavisinde ciddi sıkıntılar yaşanmakta, dermabrazyon tedavisi ile de her zaman yüz güldüren sonuçlar alınmamaktadır. Bu nedenle bu tip durumlarda TZF enjeksiyonu son yıllarda tercih edilen bir yöntem olarak ön plana çıkmaktadır. Teknikte ortalama 3cc TZF, subdermal olarak skar dokusu içerisine enjekte edilmekte ve enjeksiyon sonrası bölgede ekimoz ve ödem gözlenmektedir. Tedavinin sonuçları 1-3 hafta içerisinde görülebilmektedir (Sclafani 2009).

### **2.6.14 TZF' nin Bisfosfanat İlişkili Çene Osteonekrozlarında (BRONJ, BIONJ)**

#### **Kullanımı**

Bisfosfanat ilişkili çene osteonekrozunun 2003 te ilk kez tanımlanmasından sonra bu tip ilaçların ciddi komplikasyonu olarak tanımlanmıştır (Marx RE. 2003). BRONJ maksillofasiyal bölgede radyoterapi almayan, bisfosfanat ilaç kullanımına bağlı açığa çıkan ve 8 hafta boyunca iyileşmeyen çene osteonekrozu olarak tanımlanmıştır (Khosla ve ark. 2007). BRONJ bisfosfanatların farmakolojik etkisi ile kemik remodelasyonunun aşırı baskılanmasına bağlı olarak oluştuğu bilinmektedir (Subramanian ve ark. 2011, Reid ve Cornish. 2012).

Birçok otorite BRONJ tedavisinin konservatif yaklaşımla, sistemik antibiyotik kullanımı ve minimal debridmanla tedavi edilmesini savunsa da bu tedavilerin her zaman etkili olmadığı görülmüştür. Yeni tedavi yaklaşımlarında lazer fototerapi (Martins ve ark. 2012), recombinant human paratiroid hormon kullanımı (Lau ve ark. 2009) ve trombosit konsantrasyonlarının (Curi ve ark. 2011) kullanımı önerilmiştir.

Trombosit konsantrasyonları otolog ürünler olup yüksek konsantrasyonlarda büyüme faktörü içermektedir. Trombositten zengin konsantrasyonun doku iyileşmesi ve kemik rejenerasyonunu artırdığı düşünülmektedir. TZF ile mikrovaskülarizasyon sağlanarak hücrelerin alana göçü hedeflenmiştir (Hibi ve ark. 2006, Kitoh ve ark. 2007).

Tedavi için yeni önerilen metod lökositten zengin trombositten zengin fibrin kullanımınıdır. (L-TZF) Kimyasal eklenmeden doğal bir pıhtılaşma sürecine tabi olması ile TZP den farklı özellik taşımaktadır (Dohan ve ark. 2009b). Kullandıktan hemen sonra TZP gibi çözünmemektedir. İçeriğindeki sitokin uzun süre faaliyet gösterip lökositlerin ve trombositlerin uzun süre faaliyet gösterdiği fibrin matriksi oluşturmaktadır.

Trombosit konsantrasyonundaki lökositin görevi enfeksiyonu önleme, immün sistemi düzenleme (Everts ve ark. 2008) ve büyük miktarda DEBF salınımıdır (Werther ve ark. 2002).

Soydan ve ark. tarafından yapılan vaka takdiminde sınıf II BRONJ vakasında ekspoze kemik alanında debridman yaptıktan sonra alana TZF membran uygulanmış ve 1. ay klinik takiplerde başarılı iyileşme gözlenmiştir (Soydan ve Uckan 2014).

## 2.7 T-TZF

TZF ile ilgili başarılı sonuçlar elde edilse de bazı araştırmacılar cam tüplerin zararları konusunda şüphe duymaktadır. O'Connell klasik tüplerle hazırlanan TZF sonucu elde edilen fibrin pıhtısının silika ile temasın kaçınılmaz olduğunu belirtmiştir. Silika kırmızı kan hücreleri ile sedimente olacak kadar yoğun olsa da fibrinde trombositten fakir tabakada silika partikülleri ile asılı ince bir beyaz tabaka oluşturacak kadar ufak bir katmanın oluştuğunu belirtmiştir. Bu partiküller de hastaya tedavi esnasında geçmektedir (O'Connell 2007).

T-TZF, TZF'nin yeni trombosit konsantrasyonudur. Hazırlanma prensibi titanyum tüplerin trombosit aktivasyonunda cam tüplere kıyasla daha etkin olmasından kaynaklanır. Bu yöntem saf cam tüplerden, cam kaplı plastik tüplerden ya da silika kaynaklı uzun ya da kısa dönem yan etkilerden kaçınmak üzere geliştirilmiştir. Yapılan çalışmalarda titanyum aracılı trombosit agregasyonu ile oluşan pıhtı cam tüplerdeki ile benzerlik oluşturur. Silika partikülleri içermediği için biyoyumluluğunun fazla olduğu tahmin edilmektedir. T-TZF protokolü standart TZF protokolü ile aynıdır. T-TZF ile yapılan bir çalışmada EM incelemesine göre 3000 rpm 10 dk, 3000 rpm 15



dk, 3500 rpm 10 dakikalık santrifüj işlemlerinden sonra oluşan pıhtının klinik olarak olgunlaşmamış olduğu saptanmıştır. Kırmızı kan hücrelerinin birbirlerine bağlı olmadığı gözükmemektedir. Kısa saç görünümlü ince uzantılar saptanmıştır. Kısa ince uzantılar zayıf ve kırılğan ilkel fibrin benzeri yapılarla ayrılmıştır. 3000 rpm 15 dk santrifüjden sonra klinik olarak olgun T-TZF oluşmaktadır. Pıhtıda olgun fibrin ağı gözlenmiştir ve trombositler bu fibrin ağına gömülmüştür. Kırmızı kan hücreleri matriks dışında ya da matrikse bağlı olarak bulunur. 4000 rpm 10 dk ve 4000 rpm 15 dk santrifüjden sonra bütünlüğü bozulmuş yırtık fibriler yapı gözlenir fibrin ağı oluşmamıştır. Işık mikroskopunda; inflamatuvar hücreler iyi organize fibrin ağından geçme eğilimindedir. Membranöz doku bütünlüğü hücre içinde korunmuş olur. 5. günde T-TZF membranının yarısı rezorbe olur inflamatuvar hücreler gözlenir 10. günde yeni bağ dokusu artık T-TZF membranının yerini almaya çalışır. Daha az inflamatuvar hücre bulunur. 15. günde yeni kemik kallusu ve bağ dokusu gözlenir (Tunalı ve ark. 2013). T-TZF'nin etkinliği üzerine daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

## **2.8 G-TZF**

Doku rejenerasyon alanında, alana besin desteği sağlanması ve artık ürünlerin atılması için vaskülarizasyon önemlidir. Biyomateryalin tek başına kullanılması ya da mezenkimal endotel hücrelerle birlikte kullanımı doku mühendisliğinde uygulanabilir yöntemlerdir (Ghanaati ve ark.2010, Ghanaati ve ark. 2011, Ghanaati ve ark. 2011b).

Hücre temelli doku mühendisliğinde hücrelerin hızlı sağlam ve basit bir şekilde elde edilmesi üzerine çalışmalar yapılmıştır. Materyalin hazırlanması ve uygulanması arasındaki basamaklar minimize edilerek klinik uygulanabilirliğindeki artış hedeflenmiştir. Çalışmanın temel konsepti, doğal kaynaklı materyali, hastalara yakın olarak üretmek, hasta ve sağlık hizmetleri için mali açıdan yük oluşturmadan implantasyon sürecini kısaltmaktır.

Belirtilen ihtiyaçlar doğrultusunda kanda yeni sınıf biyomateryaller üretimi gerçekleştirilmiştir.

G-TZF sistemi; steril düz tabanlı cam vakum tüplerine (G-TZF 10 tüp) 10 ml periferik kan alınarak 1500 rpm de 14 dakika santrifüj edilerek elde edilmektedir.

Santrifüjden sonra pıhtı tüpten dikkatlice uzaklaştırılır. Kırmızı kan hücresi, fibrinden zengin pıhtının tabanındaki kan dikkatli bir şekilde uzaklaştırılır.

Ghanaati ve ark. G-TZF pıhtısının histolojik ve histomorfometrik yapısının tanımlanması için yapılan çalışmada elde edilen fibrin pıhtısı % 4 paraformaldehit ile 24 saat stabilize edilmiştir. Kesilen örnekler uzun eksen boyunca konumlandırılıp incelenmiştir. Mikroskopik incelemeye tabi tutulacak örnekler alkol ve ksilene tabi olmuştur. Parafin katılan örnekler 2-4 µm kalınlıklı 10 parçaya ayrılmıştır. Rotatory mikrotome ile kesilen örnekler lam üzerine yerleştirilmiştir. Örnekler boyanmadan önce dewaxing ve rehidratasyon işlemlerine tabi olmuştur. 3 örnek hematoksilin & eosin (H&E) and Masson-Goldner's trichome teknik ile boyanmıştır. Bu boyama yöntemi ile matriks proteinleri ve hücreler arasında ayırım rahatlıkla yapılabilmektedir. Diğer 7 örnek immunohistokimyasal boyama işlemlerine tabi olmuştur (DAKO).

Yapılan histokimyasal analiz sonuçlarına göre TZF yapısında minimal inter fibröz alanlarla yoğun fibrin pıhtısı gözlenmiştir. Hücreler pıhtı boyunca gözlenmiştir. TZF pıhtısının distal parçasına doğru hücreler azalmıştır. G-TZF nin histolojik incelemesinde gevşek yapı gözlenmiştir. Fibrinden zengin pıhtıda daha fazla hücre ve daha fazla inter fibröz alanlar gözlenmiştir. TZF'ye kıyasla hücreler daha eşit dağılmıştır. Pıhtının daha distal kısımlarında bazı hücreler bulunmaktadır. Yapılan immunohistokimyasal değerlendirmede TZF de spesifik hücre tiplerinin dağılımını değerlendirmek için yapılan boyamada kırmızı kan hücrelerine yakın olan kısımda pozitif yüklü hücrelere çokça rastlanmıştır. Bu alanlarda T-lenfositler (CD3-pozitif hücreler), B lenfositler (CD20- pozitif hücreler), kök hücreler (CD34- pozitif hücreler) ve monositler (CD68- pozitif hücreler), kırmızı kan hücrelerinin geçiş zonunda fazla miktarda görülmüştür. CD61- pozitif hücreler tüm pıhtı boyunca yaygın halde gözlenmiştir. TZF distal kısmına doğru tüm hücre sayısında azalma gözlenmiştir. Nötrofilik granüositler (CD15-pozitif hücreler) pıhtı aralığında yığılmıştır. G-TZF de CD3-, CD20- CD34- and CD68-pozitif hücreler BC yakınında (fibrin pıhtı proksimalinde) yoğunlaşmıştır ve TZF'ye kıyasla geniş alanı kaplamaktadır. Nötrofilik granüositler (CD15- pozitif hücreler) distal alanda daha fazla yayılmaktadır. Yaklaşık pıhtının 2/3 ünde nötrofilik granüositler / CD15- pozitif hücreler bulunurken son 1/3 lük kısımda gözlenmemiştir. TZF ye kıyasla CD61-pozitif hücreler periferde aynı ölçüde azalmamaktadır. Hücre penetrasyon kantitatif

histomorfometrik analizinde santrifüj protokolündeki değişiklik ile G-TZF de nötrofilik granülosit hücre dağılım derinliğinin arttığı istatistiksel olarak gösterilmiştir. Trombositler, T- lenfositler, B-1 lenfositler, kök hücreler ve monositlerde 2 santrifüj sistemi kıyaslandığında dağılım derinliğinde fark olmadığı saptanmıştır. Her 2 grupta da trombositler diğer hücrelere kıyasla daha fazla dağılım derinliği göstermiştir (Ghanaati ve ark. 2014).

## 2.9 Enjektabl TZF (E-TZF)

Beyaz kan hücrelerinin aktivasyonunun yara iyileşmesinde ve damarlanmadaki etkinliği birçok klinik çalışma ile kanıtlanmıştır. Ancak trombosit konsantrasyonlarının sıvı formunda kullanılmasının tıbbın birçok alanında ve diş hekimliğinde etkin olacağı görüşü yaygındır.

Antikoagulan madde kullanılmadan beyaz kan hücrelerinin ve trombositlerin yoğunlaştırılacağı sıvı formlar üzerinde çalışma yapılmıştır.

Choukroun kanın 800 devir ve 3 dakikalık santrifüjün ardından oluşacak lökosit zengin E-TZF 'nin yumuşak dokuya enjeksiyonu ile vaskularizasyonun artırılacağını ve greft partiküllerine enjekte edilerek daha rijit ve manipulasyonu kolay rekonstrüksiyon işleminin gerçekleştirilebileceğini düşünmektedir. Diş hekimliğinde yeni kullanıma geçen E-TZF ile ilgili yapılacak çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Choukroun 2014).

	E-TZF	TZP	PRGF/AFG
Lökosit	14.420/ml	680/ml <sup>1/20</sup>	92/ml <sup>1/150</sup>
Monosit	121/ml	2/ml <sup>1/60</sup>	1/ml <sup>1/120</sup>
Nötrofil	4270/ml	100/ml <sup>1/40</sup>	31/ml <sup>1/20</sup>
Lenfosit	8500/ml	540/ml <sup>1/20</sup>	54/ml <sup>1/200</sup>
Trombosit	600000/ml	602000/ml	605000/ml

**Tablo 1:** Trombosit Ürünlerinin İçerdiği Hücre Konsantrasyonları

### 3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Kırıkkale Üniversitesi Rektörlüğü Deneysel Hayvanları Etik Kurul Başkanlığı'nın 2013.tarihli ve 13/10 sayılı izni ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma, TZF'nin yeni kemik oluşumu üzerine etkisini incelemek amacıyla 3 gruba ayrılmış 10 adet *Oryctolagus* cins tavşan üzerinde yapılmıştır. Çalışmada 9-12 aylık (3500-4500g), erkek Yeni Zelanda tavşanı kullanıldı. Tavşanlar uygun kafeslerde,  $22\pm 2^{\circ}\text{C}$  sıcaklıkta ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamın sağlanacağı koşullarda barındırıldı. Tavşanlar yeterli sağlık şartlarının sağlanması, enfeksiyondan korunmaları, yeni yerlerine uyum sağlamaları ve sağlık durumlarının kontrolü için cerrahi öncesinde 1 ay süre ile bakıma tabi tutuldu. Tavşanlar standart laboratuvar yemi ve su verilerek beslendi. Tavşanlar su ve yiyeceğe rahat ulaşabilmeleri, yeterli hareket alanına sahip olmaları ve stressiz ortam sağlanması açısından her biri ayrı ayrı kafeslerde barındırıldı. Deneklerin günlük bakımları, kafes temizliği, deneklerin ağırlıkları düzenli olarak kontrol edildi.

Mandibula korpus bölgesinde trefan frez yardımıyla kemik kavitesi açıldı. Her grupta 10 denek olacak şekilde deneklerin sağ mandibula posterior defektine sadece TZF, sağ mandibula anterior defektine sadece G-TZF uygulandı, deneklerin sol mandibula korpusunda oluşturulan kemik defektine ek herhangi bir işlem yapılmadı.

#### 3.1 Cerrahi Yöntem

Cerrahi işlem öncesinde denek hayvanları tartıldı ve tavşanlara operasyon öncesinde premedikasyon amaçlı 1ml methylparaben (Combelen Bayer, Leverkusen 10mg/ml) 1 saat öncesinde intramuskular uygulandı. Çalışmada kullanılan hayvanların kilolarına uygun genel anestezi sağlanması amacıyla IM %10'luk ketamin HCL(50 mg/kg Alfamine IM Ketalar, Eczacıbaşı, İst.) ve ksilazin HCL (2.5 MG/KG Roumpun IM, Bayer, Almanya) kullanıldı. Genel anestezi etki süresini takiben cerrahi işlem steril koşullarda aynı cerrah tarafından gerçekleştirildi. Cerrahi operasyon öncesinde

deneklerin mandibula korpus bölgesi traş edildikten sonra cilt yüzeyi povidin iyot (Betadine, Kansuk Lab İst.) ile dezenfekte edildi (Şekil 3). Lokal anestezi ve hemostaz amacı ile operasyon bölgesine 1/10000'lik adrenalın içeren artıcaın HCL 1 cc (Ultracain DS-forte) yapıldı.

Operasyonda uygulanacak cerrahi teknik her denek için aynı şekilde uygulandı. Operasyon mandibula alt kenarına paralel olacak şekilde, premolar, molar bölgesini kapsayacak cilt bölgesinde 2.5 cm boyunda insizyon yapıldı (Şekil 4). Mandibulada korpusu açığa çıkaracak mukozal insizyon yapılarak mukoperiostal flep kaldırıldı (Şekil 5). Cerrahi işlem bölgesinde mental sinir korundu. Mandibula korpus bölgesinde trefan frez yardımıyla (Şekil 6) 4.5 mm genişlik ve 2 mm derinlikte kemik kavitesi steril serum fizyolojik altında yapıldı (Şekil 7). Kan alınması için tavşanın kulak veni kullanıldı (Şekil 8). Her deneğin;

- 1) Sağ mandibula korpus posterior defektine TZF (2400 rpm 12 dakika, Process. Nice, France) (Şekil 9)
- 2) Sağ mandibula korpus anterior defektine G-TZF (1500 rpm 14 dakika) (Şekil 9)
- 3) Sol mandibula korpusta oluşturulan kemik defekte herhangi bir materyal yerleştirilmedi.

Her grup için hazırlanan materyaller kemik kavitesinde açılan boşluğa yerleştirildi.

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunu sağlamak için opere alanda rezorbe olabilen membran kullanıldı (Bioimplon GmbH Giessen, Almanya) (Şekil 10). Periost 4.0 eriyebilen dikiş (Vicryl-Katsan Düsseldorf- Almanya) ile cilt ise 4.0 naylon dikiş (Polipropilen-Setpa İzmir- Türkiye) kullanılarak dikildi. Cerrahi sahanın kontrolünün ardından operasyona son verildi. Operasyon sonrasında deneklerin bakım ve korunmaları için 5 gün boyunca enrofloksasin (Baytril-K Bayer Türkiye 2.5 mg/kg IM) ve meloksikam (Maxicam Sanovel Türkiye 1 mg/kg IM) enjeksiyonu yapıldı.

Her gruptaki denekler 8. hafta sonunda intrakardiak letal dozda ksilazin HCL (30 mg/kg Roumpun IM) ve % 10'luk ketamin HCL (70 mg/kg Alfamine IM) enjekte edilerek kurban edildiler. Mandibula korpus bölgesinden geçecek şekilde insizyon yapıldıktan sonra periost kaldırılıp mandibulaya ulaşıldı. Operasyon sahasında yeni

oluşan kemik dokusunun histolojik incelemesi için kemik defektlerinin çevresinde 5 mm sağlam kemik bırakılarak blok halinde kemik çıkarıldı. Elde edilen örnekler, %10'luk tamponlanmış formalin solüsyonunda (neutral phosphate-buffered formalin) 24–72 saat fikse edildikten sonra %10'luk asetik asit içinde dekalsifikasyonları sağlandı. İki günde bir %10'luk asetik asit solusyonları değiştirilmek suretiyle, 7 günde dekalsifikasyonları tamamlanan örnekler 24 saat boyunca akan suda yıkanıp, rutin doku takip prosedürünü takiben parafin bloklara gömüldü. Dokulardan, adheziv lamlara (Surgipath, X-tra Adhesive Microslides, Illinois, USA) hemotoksilen-eozin boyaması için yaklaşık 4-5 µm kalınlığında, sagital düzlemde kesitler alındı.

Histopatolojik inceleme için rutin hemaotoksilen-eozin boyanan kesitler, 65°C'de etüv içinde deparafinize edilip, sırasıyla 30'ar dakika ksilol ve alkolde bekletildikten sonra çeşme suyunda yıkanıp boyama işlemine tabi tutuldu.

Vakalara ait tüm histopatolojik değerlendirmeler Leica DM 4000 B (Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Germany) ışık mikroskopunda yapıldı.

Mandibulaya ait örneklerin hematoksilen eozin boyalı kesitlerinde, kemik dolum miktarı, osteoblastik aktivite, yabancı cisim reaksiyonu ve inflamatuvar hücre infiltrasyon yoğunluğu değerlendirildi.

Hematoksilen-eozin kesitlerde defekt alanındaki inflamatuvar hücreler sayıldı ve inflamasyon yoğunluğu dört dereceli bir sistem ile skorlandı (Hirshberg, Lib et al. 2007):

0: İnflamasyon yok

1: Alan başına 15 inflamatuvar hücreden az

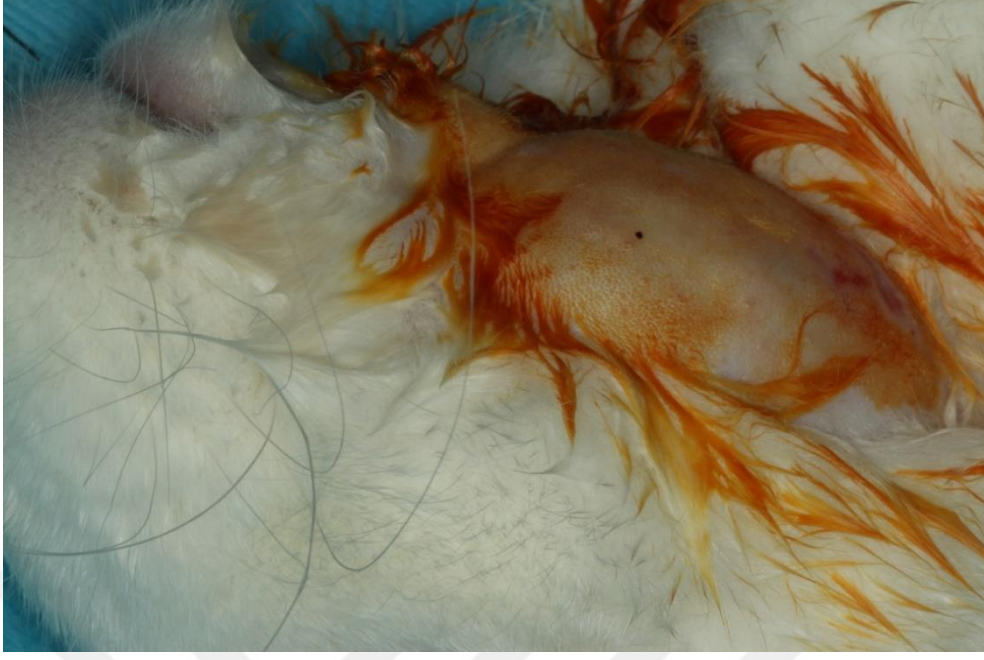
2: Alan başına 15–50 inflamatuvar hücre

3: Alan başına 50-75 inflamatuvar hücre

3: Alan başına 75 veya daha fazla inflamatuvar hücre.

Defekt alanının yeni kemik ile dolu oranı yüzde olarak verildi.

Yeni kemik dolumu= (defekt alanı/yeni kemik trabekülleri) - nonkalsifiye bağ dokusu



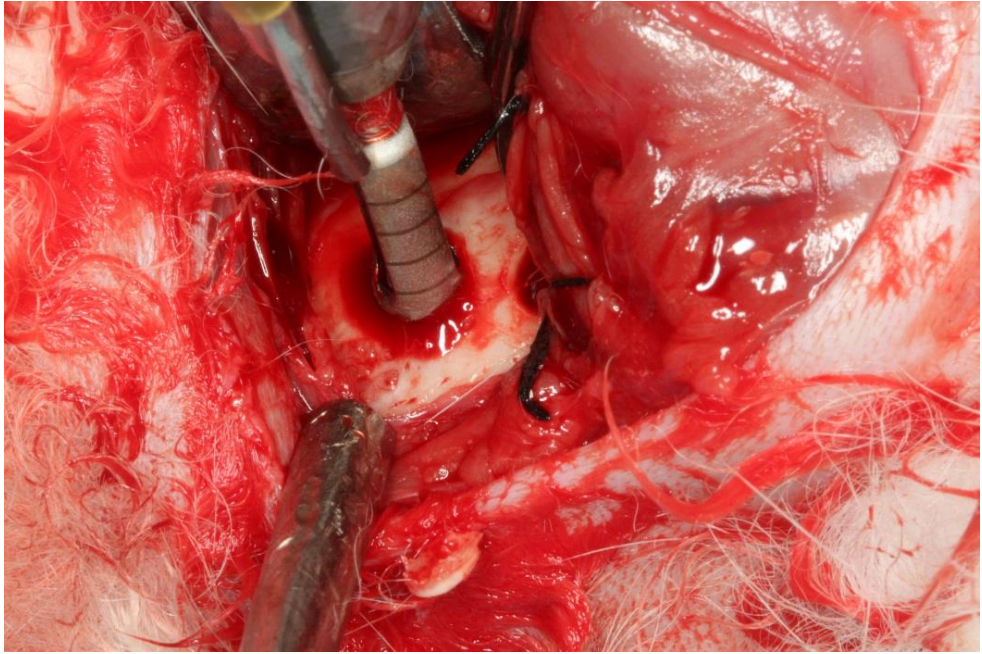
**Şekil 3:** Operasyon öncesi cerrahi sahada cilt dezenfeksiyonu



**Şekil 4:** Cilt İnsizyonu

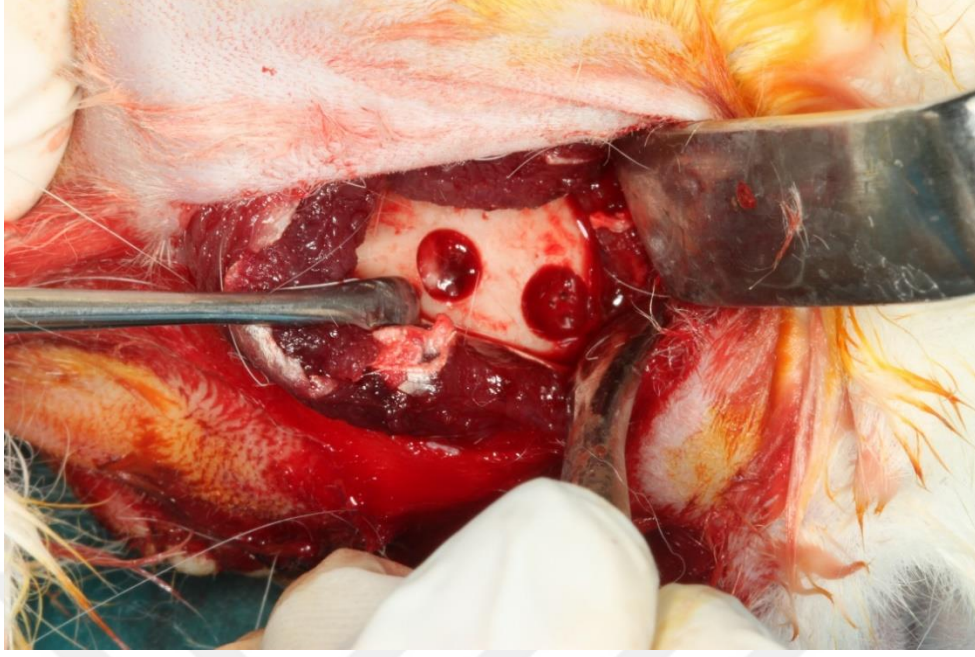


**Şekil 5:** İnsizyon sonrası korpus mandibulaya ulaşılması



**Şekil 6:** Trefan frez ile monokortikal defekt oluşturulması





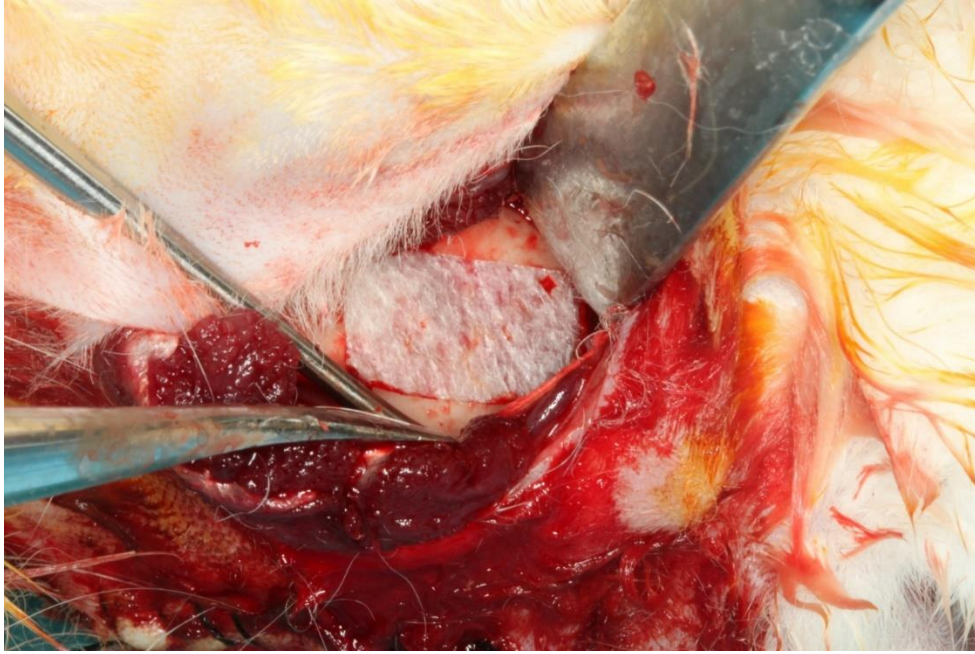
**Şekil 7:** Mandibula korpusda 5 mm aralıklarla 4.5 mm çapında 2mm derinliğinde defektler oluşturulması



**Şekil 8:** Kan alınması için tavşanın kulak veninin görüntüsü



**Şekil 9:** Sağ mandibula posterior defekte TZF, sağ mandibula anterior defekte G-TZF uygulanması



**Şekil 10:** Kolajen membran uygulaması (Bioimplon GmbH Giessen, Almanya)



Şekil 11: TZF ve G-TZF'nin tüp içerisinde görünümü



Şekil 12: TZF ve G-TZF

### 3.2 İstatistiksel Analiz

Bu çalışmada elde edilen veriler “SPSS 15.0” paket programı ile değerlendirilmiştir. Üç grup arasında kemikleşme miktarı açısından farklılık incelenirken normal dağılmayan değişkenlerde “ Bonferroni düzeltilmeli Kruskal Wallis H Testi” kullanılmıştır. Gruplar arası farklılık incelenirken; 0,05’den küçük değerler anlamlı kabul edilmiştir.



#### 4. BULGULAR

Deneysel çalışmamız süresince deneklerin cerrahi işlemi tolere ettiği ve operasyona bağlı herhangi bir enfeksiyon gelişmediği görülmüştür. 8. hafta sonunda sakrifiye edilen deneklerden elde edilen kesitler önceden belirlenen kriterlere uygun olarak yorumlanmıştır.

Tüm örneklerde defekt sınırları net bir şekilde izlenmiştir. Örneklerde çene kemiği içinde tübüler dentin ve pulpa dokusundan oluşan normal diş dokuları da izlenmiştir. Normal anatomik yapılar yer yer değerlendirmeyi zorlaştırmıştır.

Defekt dışında, mandibular trabeküler kemik altında normal selüleritede yağlı kemik iliği, kansellöz kemik ve kas-sinir paketleri içeren vasküler bağ dokusu izlenmiştir.

Defekt alanı içinde, hücreden zengin aktif-tombul fibroblastlardan oluşan zemin üzerinde; birbirleri ile anastomozlaşan, osteoblastik dizelenmeleri belirgin, hipersellüler (çok sayıda osteosit içeren) woven-trabeküler yeni kemik trabekülleri izlenmiştir.

İnflamasyon, genelde belirgin izlenmemiştir. Sadece birkaç örnekte yoğun apse formasyonu karakterli nötrofilden zengin akut inflamatuvar hücre infiltrasyonu görülmüştür. Örneklerin genelinde normal sınırlarda kabul edilebilecek mononükleer inflamatuvar hücre infiltrasyonu dikkati çekmiştir. Nekrotik örnek görülmemiştir.

Hiçbir örnekte yabancı cisim reaksiyonunu telkin eden bulgular saptanmamıştır, yabancı cisim dev hücresi görülmemiştir.

Her gruptan bir örnekte defekt bölgesi saptanamamıştır.

Gruplar arasında kemik dolumu miktarı veya kemik kalitesi açısından belirgin bir fark izlenmemiştir.

#### 4.1 İstatistik Sonuçları

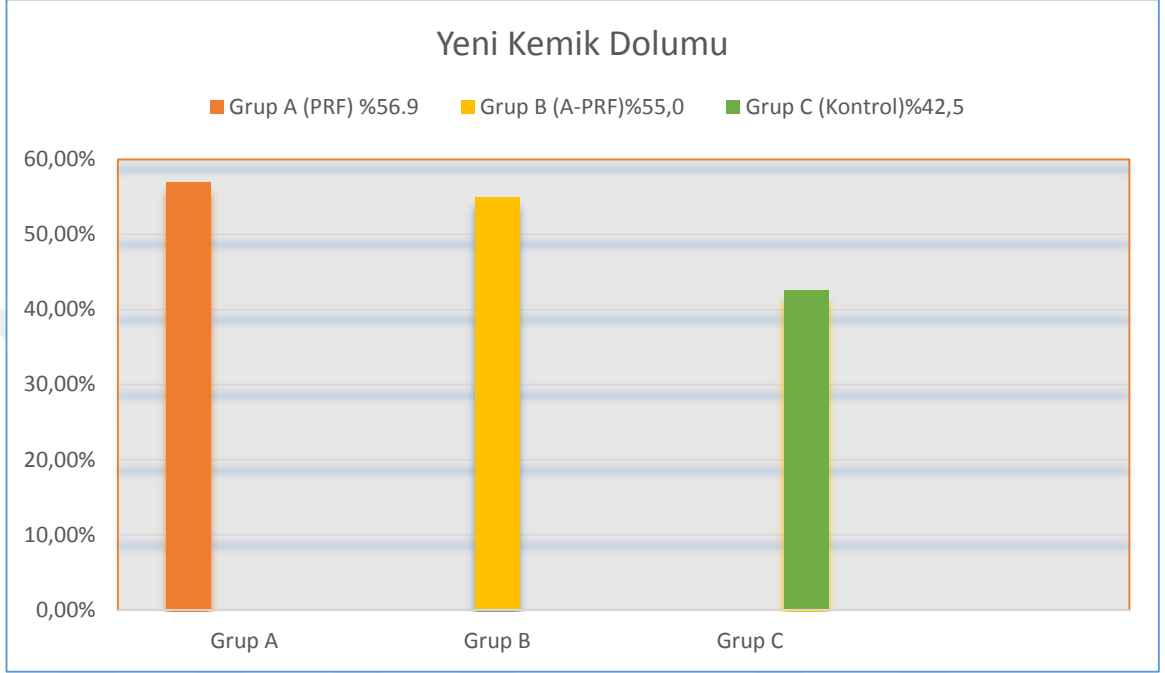
Yeni kemik dolumu (defekt alanı/yeni kemik trabekülleri)-nonkalsifiye bağ dokusu) açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemektedir ( $p>0,05$ ). İstatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte, Grup A'nın (TZF) yeni kemik dolumu puanı, diğer gruplardan daha yüksek görülmektedir. Grup B'nin (G-TZF) puanının Grup C'den (boş defekt) yüksek olduğu söylenebilir.

Yeni kemik dolumu ortalamalarının grup A (TZF) için %56,9, Grup B (G-TZF) için %55 ve Grup C (boş defekt) için %42,5 olarak görülmektedir.

**Tablo 2:** Yeni Kemik Dolumu (%) Grupların Betimleyici Özellikleri

	YENİ KEMİK DOLUMU %						Kruskall-Wallis H testi		
	n	Mean	Median	Minimum	Maximum	ss	Sıra Ort.	H	p
A Grubu(TZF)	8	56,9	62,5	30,0	80,0	22,0	14,8		
B Grubu(G-TZF)	9	55,0	60,0	25,0	75,0	18,7	13,8		
C Grubu(Kontrol)	8	42,5	40,0	10,0	80,0	19,8	10,3		
Total	25	51,6	50,0	10,0	80,0	20,3		1,6	0,437

**Çizelge 1:** Yeni Kemik Dolumu (%) Ortalamalarının Gruplara Göre Dağılımının Grafiği



### İnflamasyon Dağılımı

		Grup							
		A Grubu(TZF)		B Grubu(G-TZF)		C Grubu (Kontrol)		Total	
		n	%	n	%	n	%	n	%
İNFLAMASYON	<15	5	62,5	4	44,4	4	50,0	13	52,0
	15-50 Hücre	2	25,0	3	33,3	3	37,5	8	32,0
	50-75 Hücre	1	12,5	2	22,2	1	12,5	4	16,0
	Total	8	100,0	9	100,0	8	100,0	25	100,0

**Tablo 3:** Gruplar Arası İnflamasyon Dağılımı

**Grup A (TZF) için;** İnflamasyon sınıflarından “<15 Hücre” grubun %62,5’ini, “15-50 Hücre” grubun %25’ini ve “50-70 Hücre” grubun %12,5’ini oluşturduğu söylenebilir.

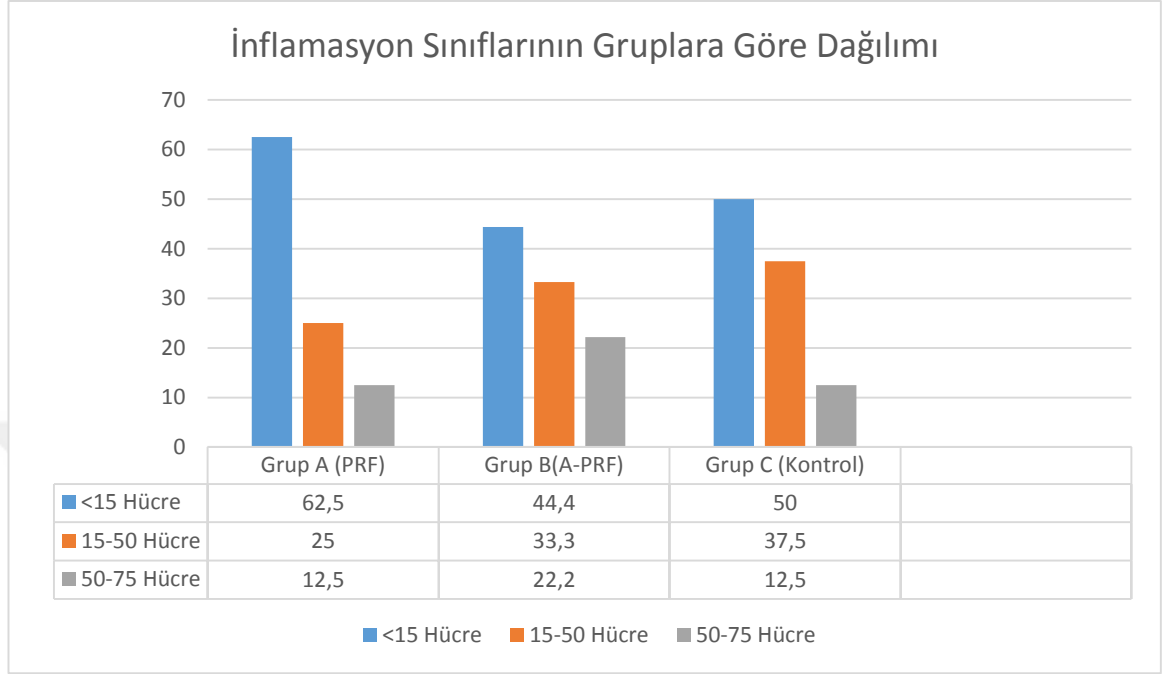
**Grup B (G-TZF) için;** İnflamasyon sınıflarından “<15 Hücre” grubun %44,4’ünü, “15-50 Hücre” grubun %33,3’ünü ve “50-70 Hücre” grubun %22,2’sini oluşturduğu söylenebilir.

**Grup C (Kontrol) için;** İnflamasyon sınıflarından “<15 Hücre” grubun %50’sini, “15-50 Hücre” grubun %37,5’ini ve “50-70 Hücre” grubun %12,5’ini oluşturduğu söylenebilir.

**Tüm gruplar için toplamda;** İnflamasyon sınıflarından “<15 Hücre” grubun %52’sini, “15-50 Hücre” grubun %32,0’ünü ve “50-70 Hücre” grubun %16,0’sini oluşturduğu söylenebilir.

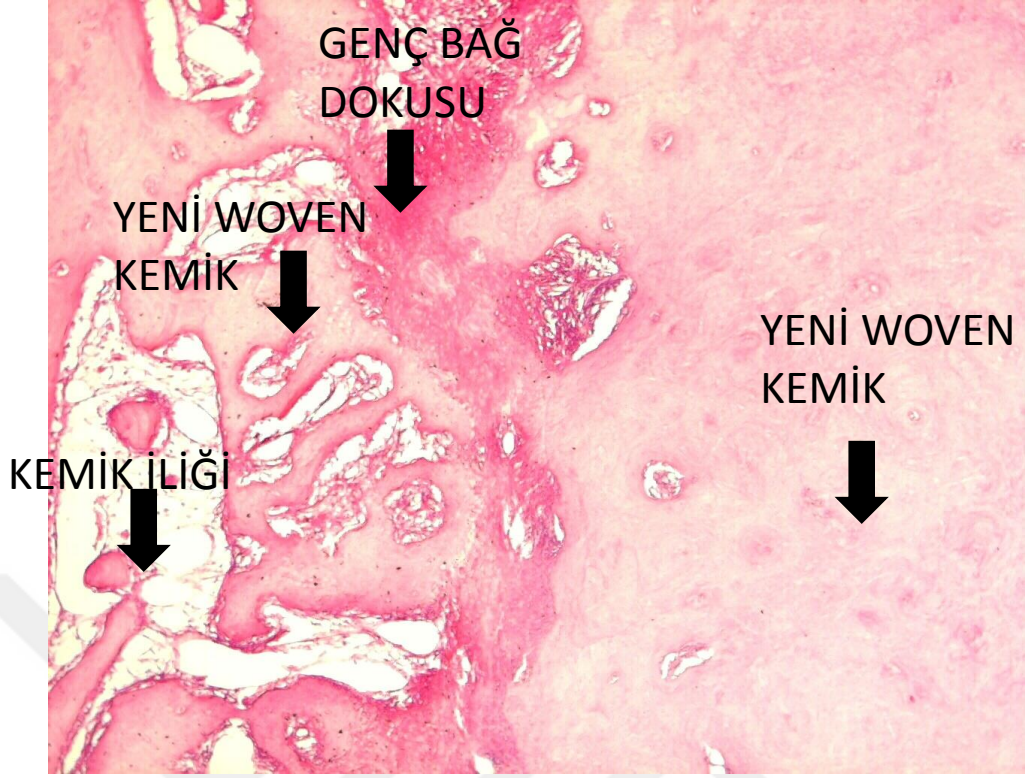


**Çizelge 2: İnflamasyon Sınıflarının Gruplara Göre Dağılımının Grafiği (Yüzdesel)**



İnflamasyon sınıflarının Grup A, B, C dağılımının yüzdesel grafiği şekilde gösterilmiştir.

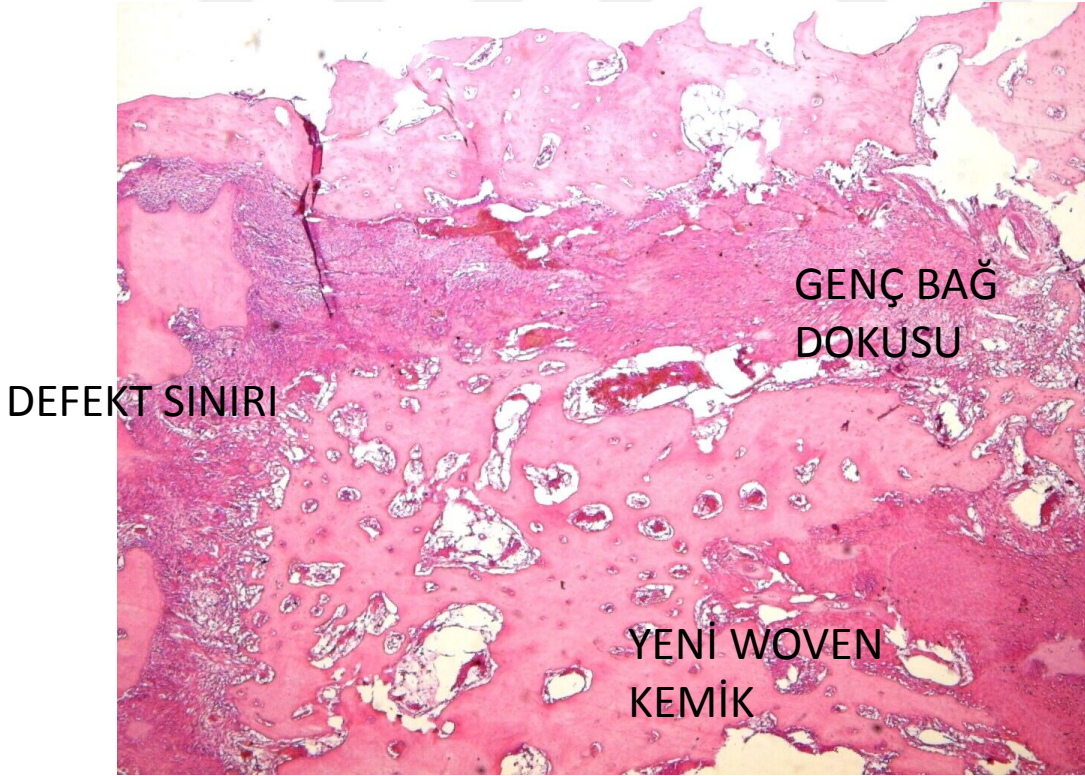
Gruplar arasında inflamasyon açısından belirgin bir fark gözlenmemiştir. Ancak Grup B (G-TZF) de diğer gruplara kıyasla birim alanda daha fazla inflamatuvar hücre tespit edilmiş olup defekt alanının %22.2 sinde 50-75 hücre tespit edilmiştir.



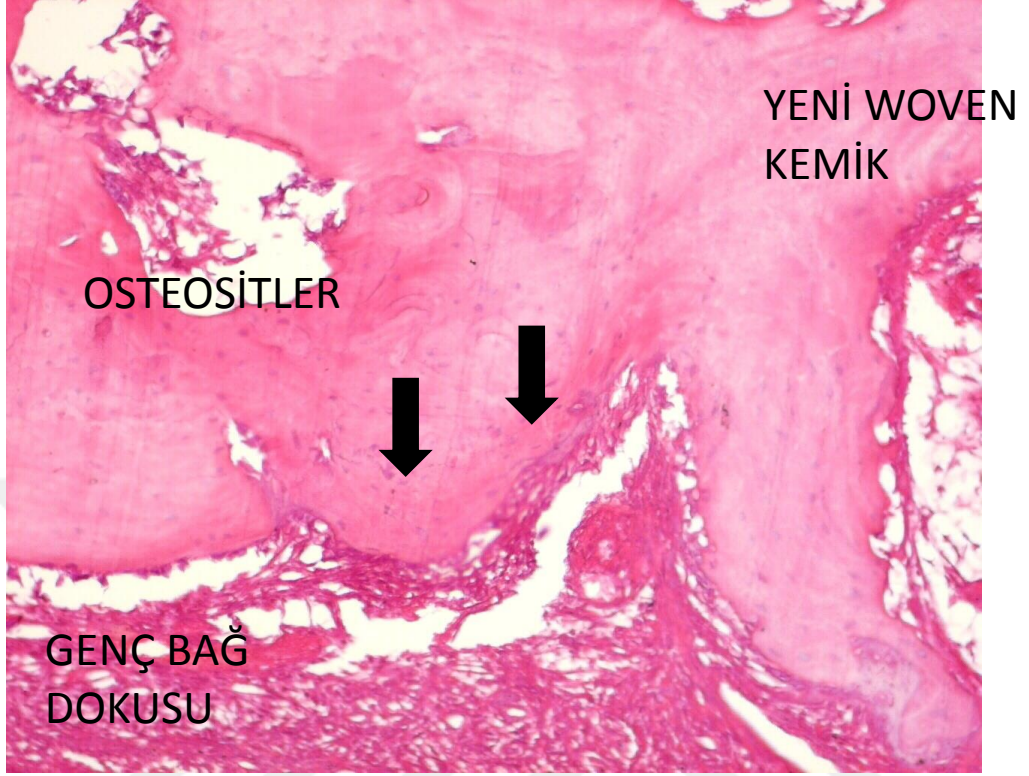
**Şekil 13:** TZF (Grup A) uygulaması sonucu yağlı kemik iliği dokusu içeren konak kemikten itibaren genç bağ dokusunda yeni kemik yapımı (H&E, x100)



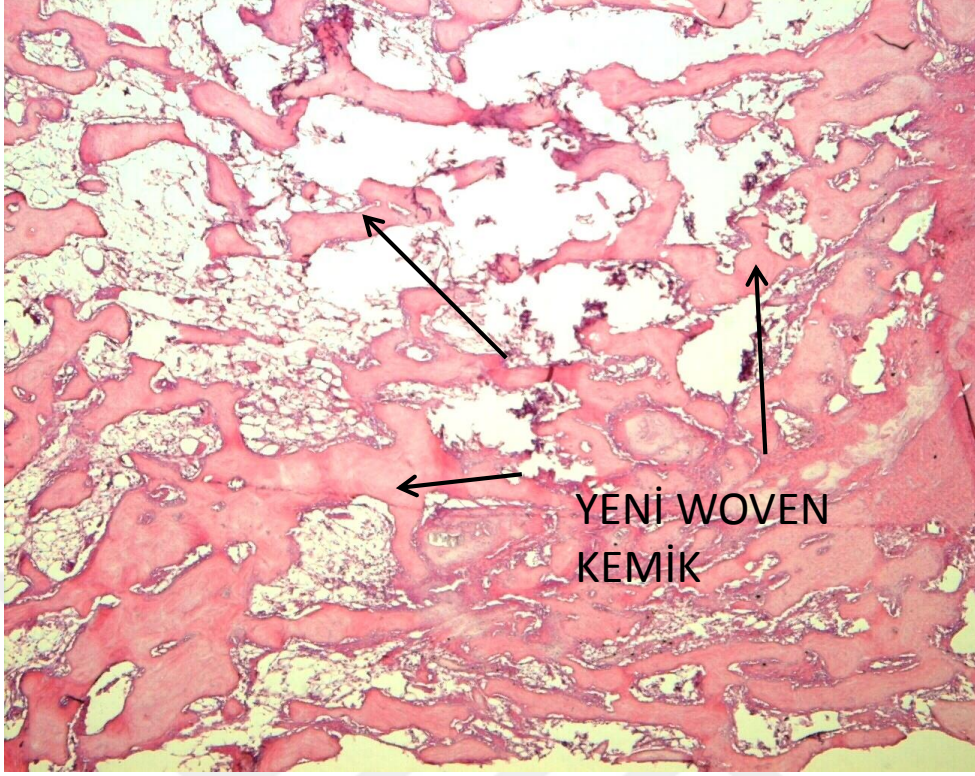
Şekil 14: Kontrol Grubunda (Grup C) Belirgin izlenen defekt sınırları içinde, defekti hemen hemen tamamiyle doldurmuş yeni kemik yapımı (H&E, x40)



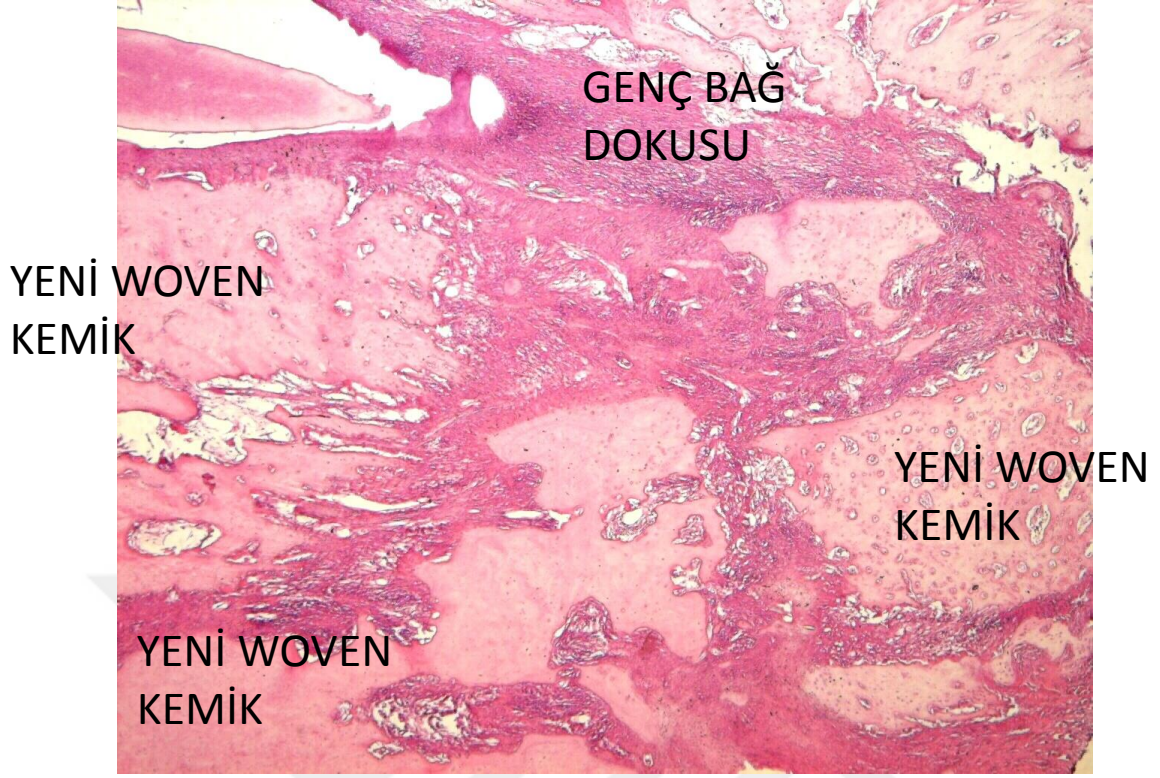
Şekil 15: Kontrol Grubu (Grup C) defekti doldurmuş yeni kemik yapımı (H&E, x40)



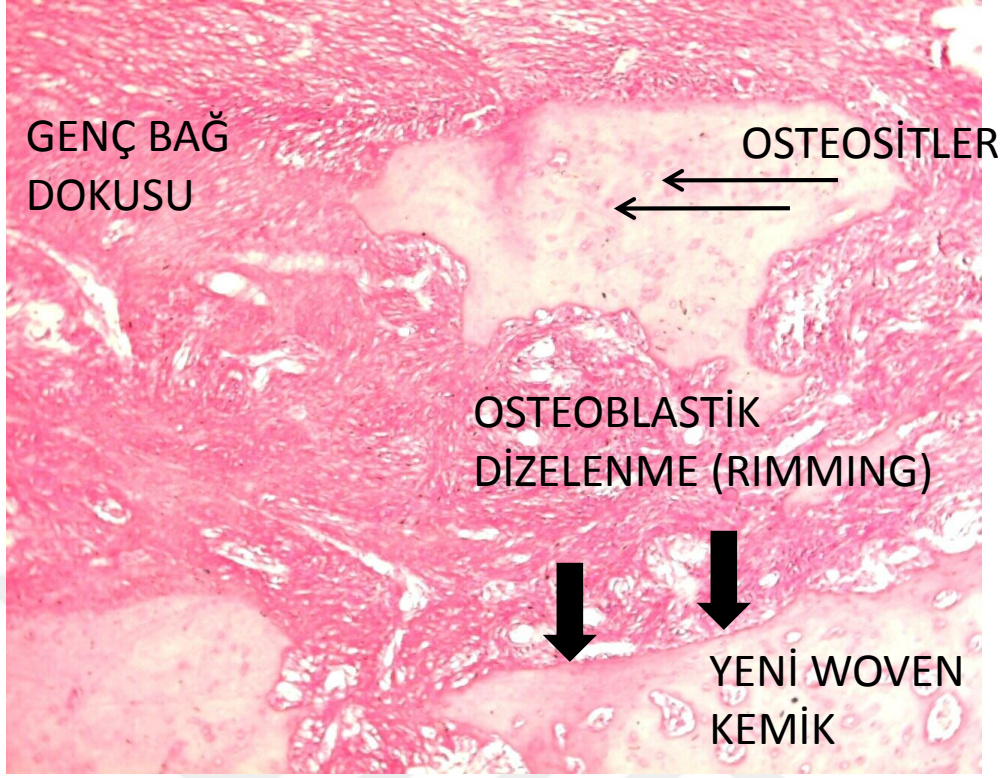
**Şekil 16:** Kontrol Grubu (Grup C) 8 hafta sonunda oluşan yeni kemik dokusu



**Şekil 17:** TZF grubu (Grup A) Yeni kemik dokusu

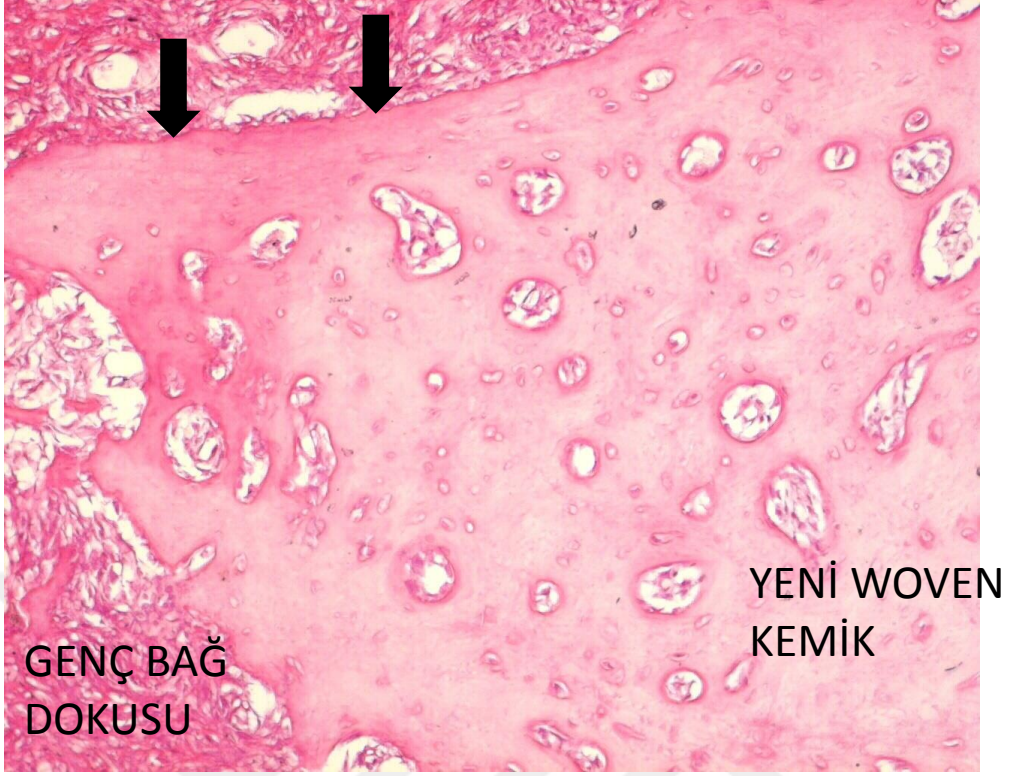


Şekil 18: G-TZF (Grup B) Yeni kemik dokusu



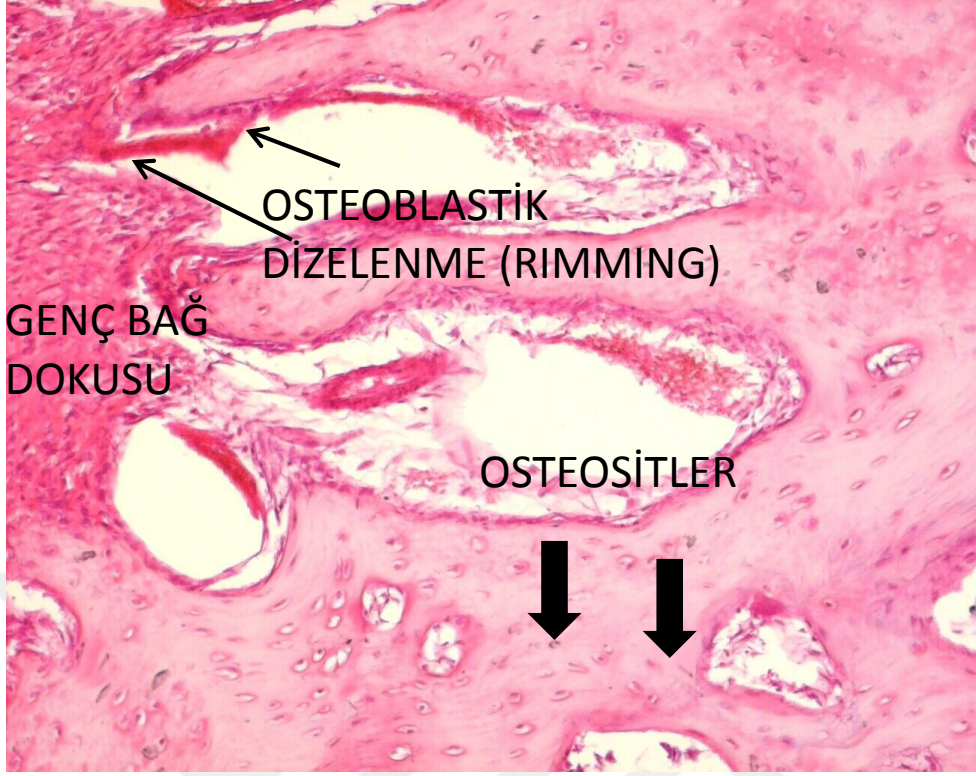
Şekil 19: G-TZF (Grup B) Yeni kemik dokusu

OSTEOBLASTİK  
DİZELENME (RIMMING)



Şekil 20: G- TZF (Grup B) Yeni kemik dokusu





Şekil 21: Kontrol Grubu (Grup C) Yeni kemik dokusu

DEFEKT  
SINIRI



YENİ WOVEN  
KEMİK

Şekil 22: TZF grubu (Grup A) Yeni kemik dokusu

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırmaya ve desteklemeye yönelik gelişmeler moleküler biyoloji ve doku mühendisliğinin temelini oluşturmaktadır. Kemik defektlerinin onarımında greftler ve çeşitli biyomateryaller ile çalışmalar devam etmektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar büyüme faktörlerinin kemik iyileşme dinamiği üzerine etkisini incelemeye yöneliktir. Doğal biyolojik mediyatör olan büyüme faktörleri hücrelerin proliferasyonu, farklılaşması, kemotaksis ve doku organ morfogenezi gibi iyileşmeyi etkileyen hücrel olayları düzenlemektedir. Otojen trombosit konsantrasyonlarından salınan büyüme faktörlerinin yara iyileşmesinde mucizeler yarattığı düşünülse de tam olarak etkileri ve güvenilirlikleri kanıtlanamamıştır. Birinci ve ikinci nesil trombosit konsantrasyonlarının iyileşme üzerine etkisini inceleyen çalışmalar olmasına rağmen yeni nesil trombosit konsantrasyonu olan G-TZF'nin kemik defektlerinin iyileşmesine etkisini araştıran güncel bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmadaki amacımız G-TZF'nin sert doku iyileşmesi üzerine etkilerini karşılaştırmalı olarak histolojik olarak değerlendirmektir.

Çene yüz cerrahisinde yapılan çalışmalarda rat veya tavşan gibi deney hayvanları kullanılmaktadır. Çalışmamızda TZF ve G-TZF hazırlanabilmesi için yeterli kan elde edilebileceği tavşanları seçilmiştir. Tavşanlarda yapılan çalışmalarda 0.5-8 mm gibi çok çeşitli defekt büyüklükleri uygulanmıştır. Ancak 5mm ve daha geniş defektlerde kırık olduğu bildirilmiştir (Durmuş ve Eröksüz 2008). Tavşan mandibula korpus yapısı dikkate alınarak 4.5 mm genişlikteki defektin bu çalışma için uygun olacağına karar verdik. Yapılan tavşan çalışmalarında 4-5 mm çapındaki defektlerin histopatolojik değerlendirmelerinde kemikleşmenin 1. ve 2. haftalarda başladığı ve defektlerin 6. ve 8. haftalarda reorganize olarak dolduğu bildirilmiştir (Durmuş ve Eröksüz 2008). Yapılan başka bir çalışmada kemik defektlerindeki iyileşmenin defektin büyüklüğüne bağlı olduğu, bölgedeki osteojenik potansiyelin değerlendirilmesi için defektin spontan iyileşmeye engel olacak kadar büyük olmaması gerektiği vurgulanmıştır. Tavşanlardaki kritik kemik defekt boyutunun 4 mm çapında olduğu daha büyük defektlerde 8 hafta içinde spontan iyileşme düzeyinin düşük olduğu iyileşmeyi hızlandıracak ek materyal kullanımına ihtiyaç duyulduğu bildirilmiştir (Hollinger ve Kleinschmidt 1990). Çalışmamızda 4.5 mm genişlik ve 2

mm derinlikte tavşan mandibulasında defektler oluşturarak 8 hafta sonra TZF, G-TZF ve spontan kemik iyileşmesini karşılaştırmayı hedefledik. Kemik iyileşmesinin incelenmesinde hücresel değişimlerin izlenebilmesi için histolojik incelemelerin yapılması gerekmektedir. Bu çalışmanın histopatolojik incelemelerinde yeni kemik dolum oranının TZF ve G-TZF uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla fazla oluşu kritik kemik defekt boyutunu aşan olgularda osteojenik potansiyeli yüksek biyomateryallerin kullanılması gerektiğini doğrulamaktadır.

Yara iyileşmesini başlatan ve destekleyen büyüme faktörlerinden özellikle TKABF ve TEBF-B2 sınırlı hacimdeki plazmada bulunan trombositlerin ayrıştırılması ve yoğunlaştırılmasından sağlanır. Otojen büyüme faktörlerini elde etmenin en kolay yolu TZP hazırlanmasıdır. Tümör cerrahisinden sonra alt çene rekonstrüksiyonunda trombositlerin kullanılması sonucu büyüme faktörlerinden TKABF ve TEBF -B2'nin %338 oranında arttığı gözlenmiştir (Marx ve ark. 1998).

İlk kez Cho ve ark. furkasyon defektlerinde en etkin büyüme faktörünü seçmek ve rejenerasyonda etkin hücre tipini tanımlamak için hayvan çalışması yapmış ve TKABF'nin periodontal ligamentlerde fibroblast migrasyon ve stimülasyonunu etkin olarak uyardığını belirtmişlerdir (Cho ve ark. 1995).

Kalsiyum klorid solüsyonunda çözünen sığır trombinin TZP ile karıştırılması ile trombosit jel elde edilir. Trombosit jeller yapısında bulunan yapışkan fibrin ağı ile kansellöz kemiğin opere alanda toplanmasını ve greftin kolay şekillendirilmesini ve stabilizasyonunu artırır. Trombosit konsantrasyonlarının içeriğindeki yüksek miktardaki lökosit enfeksiyon risk oluşumunu azaltarak otojen antibiyotik görevi görmektedir. TZP jel hazırlamakta kullanılan sığır trombininin faktör V, XI ve trombine karşı antikor geliştireceği ve bu durumun hayatı tehdit edebilecek pıhtılaşma bozukluklarına neden olabileceği görüşü savunulmaktadır (Sánchez ve ark. 2003).

Marx ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 5 mm den büyük mandibular defekt onarımı için TZP ve kemik greft kombinasyonunun tek başına greft uygulanan grupla karşılaştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda TZP ve greft kombinasyonunun uygulandığı grupta kemik yoğunluğundaki artışın %15-30, kemik maturasyonunda 1,62-2,16 oranında artış olduğunu saptamışlardır (Marx ve ark. 1998).

Anitua'nın çekim sonrası TZP'nin etkinliğini incelemek üzere yaptığı çalışmada; 10 hastada çekim sonrası otojen greft ve TZP uygulanmış kontrol

grubundaki 10 hastaya ise çekim soketine sadece otojen greft uygulamıştır. Çalışmanın sonucunda TZP uygulanan grupta daha iyi epitelizasyon ve daha kompakt yapıda kemik varlığı tespit edilmiştir (Anitua 1999).

İkinci nesil trombosit konsantrasyonu olarak tanımlanan TZF'nin içeriğindeki mediyatörlerin iyileşmedeki etkisini incelemek amacıyla çalışmalar yapılmıştır. Dohan ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada büyüme faktörlerinden olan TKABF, DEBF- $\beta$  ve İBBF'nin miktarları incelenmiştir. Elde edilen verilere göre trombosit sitokinlerinin fibrin ağı içerisinde kaldığı ayrıca fibrin ağı içerisinde glikoproteinde bulunduğu gösterilmiştir. TZF içeriğinden ötürü iyi bir iyileşme materyali olarak kabul edilebilir (Dohan ve ark. 2006a).

TZF yapısında bulunan lökosit miktarından ötürü enfeksiyon önleyici etkisinin var olduğu görüşünü araştırmak amacıyla TZF içeriğindeki lökosit kaynaklı sitokin miktarları araştırılmıştır. Çalışma kapsamında araştırılan sitokinler pro-enflamatuar sitokinlerden IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ; anti-enflamatuar sitokin olan IL-4 ve anjiogenezisden sorumlu DEBF miktarları analiz edilmiştir. İncelenen stokinlerin TZF içeriğinde yüksek miktarda sekresyonun olduğu ve sitokinlerin fibrin ağı içerisinde hapsediği ve yavaş salınım gösterdiği sonucuna varılmıştır. TZF içeriği nedeniyle iyi bir defans mekanizmasına sahiptir. İmmun sistemi destekleyerek enfeksiyon oluşumunu azaltmaktadır (Dohan ve ark. 2006c).

TZF oksidize selüloz ve traneksamik asit ile benzer antihemorajik sonuçlar vermektedir (Jang ve ark. 2010, Lee ve ark. 2010).

Salgılanan trombospondin-1 (TSP-1) pıhtılaşma faktörü değildir ancak pıhtılaşma yolunda o kaskatta görevlidir. TSP-1 in von willebrand ve fibrinojenle birleşmesi ile pıhtı formasyonu oluşur. TSP-1 ile bağlanan von willebrandın proteolizisini önler böylece trombosit bütünlüğü sağlanmış olur. TSP-1 in yavaş ve erken dönem salgılanması TZF pıhtısının erken antihemorajik özelliğini tanımlamaktadır (Jurk ve ark. 2003, Bonnefoy ve ark. 2006).

Yapılan çalışmada antikoagulan kullanan bireylerde daha güçlü TZF pıhtısı oluşturmak için TZF santrifüj süresinin artırılması önerilmiştir (18 dakika). (Sammartino ve ark. 2011).

TZF ve TZP'nin yara iyileşmesinde farklı sonuçlar vermesinin içeriğindeki büyüme faktörlerinin salınım miktar ve süresinden kaynaklandığı görüşü yaygındır. Bu durumu değerlendirmek üzere yapılan çalışmada TZP ve TZF' deki DBF - $\beta$ 1 ve TKABF-AB seviyeleri 1, 7, 14, 21 ve 28. günlerde ölçülmüştür. TZF 'deki DEBF- $\beta$ 1 seviyesi 14. günde; TKABF-AB seviyesi ise 7. günde maksimumdur. TZP 'de ölçülen büyüme faktörleri ise 1. günde maksimum seviyeye sahiptir. Çalışma sonuçlarına göre büyüme faktörleri en az 7 gün boyunca yavaş salınım yaparlar. TZF, TZP'ye göre daha kontrollü ve uzun süreli bir salınım yapmaktadır. Bu nedenle doku iyileşmesinde TZP'den daha etkili bir materyal olduğu bildirilmiştir. TZF basit bir fibrin yapısına sahip değildir. Santrifüj ile elde edilen kanda bulunan trombosit sayısının neredeyse tamamını, lökosit sayısının da yarısına yakını içerir. Bu özelliği ile erken dönemde yara iyileşmesini olumlu yönde etkilediği düşünülmektedir. Günümüz çalışmalarında TZF'nin doku iyileşmesini hızlandırdığı bildirilse de konu ile ilgili yapılan çalışma sayısı yetersizdir (He ve ark. 2009).

DEBF $\beta$ -1 ve DEBF başlangıçta daha az salınırken zaman içerisinde salınım düzeyi artar. Bu durum fibrin ağı içerisinde bulunan lökositlerin büyüme faktörlerini üretmeye devam etmesinden kaynaklanır. Koagulasyondan sorumlu olan TSP-1 TZF içerisinde yüksek miktarda bulunmaktadır. Zaman içerisinde salınımdaki artışla TZF cerrahi alanda kanama durdurucu ajan olarak kullanılabilir (Dohan ve ark. 2009b).

TZF' nin DEBF- $\beta$ 1 ve TKABF-AB gibi büyüme faktörlerini içererek insan gingival fibroblastları, dermal prekeratinositleri, preadipositleri, maksillofasiyal osteoblastları, kemik mezenkimal kök hücrelerinin çoğalmasını belirgin ve devamlı bir şekilde uyardığı saptanmış ve doku rejenerasyonunu sağlanmada etkin materyal olduğu tespit edilmiştir (Maes ve ark. 2002).

Yapılan bir başka çalışmaya göre TZF de oluşturulan fibrin pıhtısının %25-30 proksimal kısmında T- lenfosit, B-lenfosit, kök hücre ve monosit hücreleri bulunmuştur. Hücre dağılımları ile ilgili istatistiksel farklılık gözlenmemiştir. Doku rejenerasyon ve tamiri birçok hücrenin ortak aktivitesi sonucu oluşmaktadır. Osteoblastlar ve kemik mezenkimal kök hücrelerindeki çoğalma doza bağlıdır. Chang ve ark. tarafından yapılan çalışmada TZF'nin osteoblastların çoğalmasını

zamana bağımlı olarak arttırdığı bildirilmiştir. TZF'nin dokudaki etkinliğini artırmak için dokulardaki rezorbe olma sürelerini uzatmaya yönelik tekniklerin arayışı ve yeni nesil trombosit konsantrasyonlarının arayışı gündeme gelmektedir (Chang ve ark. 2010).

Sinüs yükseltmelerinde TZF ile karıştırılmış trikalsiyum fosfatın (TKF) kemik rejenerasyonu sağlama potansiyelinin değerlendirildiği hayvan çalışmasında tavşanların maksiller sinüsünün anterior duvarında sinüs membranına zarar vermeyecek şekilde kemik defektleri oluşturulmuştur. Bu defektler sırasıyla sadece TKF, rekombinant insan kemik morfogenetik proteini-2 ile kaplanmış TKF ile TZF karıştırılmış TKF ile doldurulmuştur. Örnekler histolojik ve histomorfometrik olarak incelendiğinde TZF ile karıştırılmış TKF grubunda diğer iki gruba göre daha hızlı kemik iyileşmesi olduğu bildirilmiştir. Histomorfometrik incelemelerde ise TZF ile karıştırılmış TKF grubunda diğer gruplara göre daha geniş kemik yapım alanı gözlenmiştir. Histolojik sonuçları benzer olmasına rağmen deney grubunda erken dönemde kontrol grubunda geç dönemde benzer sonuçlara ulaşılması TZF'nin sert doku iyileşmesine etkisi olabileceği ifade edilebilir (Kim ve ark. 2012).

TZF'nin kemik rejenerasyonuna etkisini incelemek için yapılan çalışmada sinüs duvarı yükseltilmesinde TZF dondurulmuş kurutulmuş kemik allogrefti (DKKA) ile birlikte kullanılmıştır. TZF ve DKKA'nın kombine edilen grupta implantlar sinüs duvarı yükseltilmesinden 4 ay sonra, sadece DKKA kullanılmış kontrol grubunda ise 8 ay sonra yerleştirilmiştir. İmplantların yerleştirildiği seansta ogmente edilen bölgeden kemik biyopsisi alınarak histolojik olarak incelenmiştir. Yapılan histomorfometrik analiz sonuçlarında grupların iyileşme periyodları aynı olmamasına rağmen test grubu (TZF+DKKA) ve kontrol grubu (DKKA)'ndan alınan kemik yapıların benzer olduğu gözlenmiştir. TZF ve DKKA kombinasyonu sonucu oluşan yeni kemik kalitesinin incelendiğinde TZF'nin sinüs duvarı yükseltilmesinde DKKA ile birlikte kullanıldığında kemik rejenerasyonunu hızlandırdığı ve bu işlem sonrasında implant yapılabilmesi için gereken bekleme süresini kısaltabileceği bildirilmiştir (Choukroun ve ark. 2006b).

TZF'nin maksiler sinüs ogmentasyonlarında sığır kaynaklı ksenogreft (SKK) ile kombine kullanımının kemik rejenerasyonu üzerine olan etkisinin değerlendirildiği

çalışmada radyolojik ve histolojik değerlendirmeler yapılmıştır. Bu çalışmada kontrol grubunda sinüs membranının dikkatli bir şekilde kaldırılması sonrasında kavite sadece SKK ile test grubunda ise TZF ile karıştırılmış SKK ile doldurulmuştur. 6 ay sonra implantlar yerleştirilirken alınan kemik biyopsileri histolojik olarak incelenmiştir. 6. ayın sonunda test grubunda yeni oluşan kemik oranı kontrol grubuna göre daha yüksek olarak bulunsa da bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu çalışma sonucunda SKK ile kombine olarak kullanılan TZF'nin ek bir yarar sağlamadığı bildirilmiştir (Zhang ve ark. 2012).

Yeni kemik dolun oranını değerlendirmek için yaptığımız çalışmada TZF uyguladığımız test grubunda bu çalışmada olduğu gibi kontrol grubuna kıyasla kemik oranı daha yüksek bulunmuştur. Zhang ve ark. tarafından yapılan çalışmayla benzer sonuçlar elde ettiğimiz bu çalışmada standart kemik defektlerinde TZF'nin rejenerasyon sağladığı ancak bu durumun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ve farklı çalışmalarla desteklenmesi gerektiği sonucuna varılabilir (Zhang ve ark. 2012).

Yapılan bir çalışmada sinüs duvarının yükseltilmesinde TZF tek başına greft materyali olarak kullanılmıştır. Yerleştirilecek implant başına en az 3 adet TZF membranı kullanılmıştır. İmplant yerleştirilmesinden 6-12 hafta sonra protez aşamasına geçilmiştir. Radyografik analiz amacıyla cerrahi öncesi, implant yerleştirilmesinden hemen sonra ve operasyon sonrası 12. ayda periapikal radyografiler alınmıştır. Bu çalışmada TZF'nin bu teknikle birlikte greft materyali olarak kullanılmasıyla sinüs duvarının altında kemik oluşumuna izin veren boşluğun sağlanabildiği ve ortalama 3,2 mm kemik kazancı olduğu bildirilmiştir. 1. yılın sonunda alınan radyografilerde ayırt edilebilir yeni kemik yapısı oluşumu gözlenmiştir (Diss ve ark. 2008).

Sinüs duvarı yükseltmelerinde TZF'nin greft materyali olarak kullanıldığı bir çalışmada 20 hastada 25 adet sinüs yükseltme operasyonu yapılmıştır. Tüm hastalarda 6. ayın sonunda panoramik radyografiler ve üç boyutlu volumetrik bilgisayarlı radyografi ile sinüs altındaki rezidüel kemik yüksekliği ölçülmüştür. 9 hastada ise alınan kemik biyopsisiyle histolojik değerlendirme yapılmıştır. Bu çalışma sonucunda TZF'nin sinüs duvarı yükseltilmesinde tek başına kullanımının doğal kemik oluşumunu desteklediği bildirilmiştir. Histolojik değerlendirmelerde ise alınan kemik



örneğinin tam olarak rejenere olarak sinüs kavitesini doldurduğu bildirilmiştir. Bu çalışma sonuçlarına göre TZF'nin implant çevresindeki doğal kemik rejenerasyonunu arttıran bir teknik olduğu sonucuna varılmıştır (Mazor ve ark. 2009).

Rezorbe olan kemiklerde alveolar kret rehabilitasyonu sağlamak amacıyla TZF başarısını değerlendirmek için yapılan çalışmada implant uygulamaları öncesinde rezorbe olmuş maksillaya TZF'nin dondurulmuş kurutulmuş kemik allogreftiyle kombinasyonu uygulanmış, greft materyalinin üzerine de TZF membran yara yüzeyinin korunması amacıyla yerleştirilmiştir ve bilgisayarlı tomografi sonuçlarına bakıldığında 10 hafta sonra greft kombinasyonu ve çevresindeki kemiğin homojenitesinin aynı olduğu bildirilmiştir. TZF membranın greft kombinasyonunun üzerine yerleştirilmesiyle de daha hızlı bir yumuşak doku iyileşmesi ve implant çevresindeki yumuşak dokular için final estetik sonuçların daha iyi olması sağlanmıştır. 3. ayın sonunda implant yerleştirilmesi için bölgeye ikinci bir cerrahi uygulama yapıldığında greft materyalinin oldukça sert ve homojen olduğu bildirilmiştir (Wallace ve Froum 2003).

Diş çekimini takiben alveoler kretin anatomisinin korunması ve bunun sonucunda ogmentasyon gereksiniminin azaltılması amacıyla çekim sonrası socketin TZF ile doldurulduğu bir vakada 6 hafta sonunda implant uygulamasının yapılması amacıyla bölge cerrahi olarak açılmıştır ve kretin morfolojisini koruduğu ve rezorpsiyonun görülmediği bildirilmiştir (Peck ve ark. 2011).

Del Corso ve ark.'nın olgu sunumunda, kırık nedeniyle çekilen maksiller santral dişin yerine immediyat implantasyon yapılmış, vestibüldeki defekt TZF+kemik grefti kombinasyonu ile doldurulmuştur. Operasyondan hemen sonra implantın üzerine geçici diş yerleştirilmeden önce implant ve greftin üzerine membran haline getirilmiş TZF yerleştirilmiştir. İyileşme döneminde yumuşak dokuda herhangi bir çökme olmamış ve papil kaybı olmadan estetik korunmuştur. Yerleştirilen TZF'nin, bir biyolojik bariyer görevi görerek implant ve grefti ağız florasından koruduğu ileri sürülmüştür (Del Corso ve ark. 2012).

Aroca ve ark. çoklu dişeti çekilmelerinin tedavisinde koronale kaydırılan flep ve membran halindeki TZF kombinasyonu ile tek başına koronale kaydırılan flep uygulamasının klinik sonuçlarını karşılaştırmışlardır. Koronale kaydırılan flebe ek

olarak TZF uygulamasının, kök yüzeyi örtülmesini daha olumlu yönde etkilemediği, ancak dişeti kalınlığında artış sağladığı bildirilmiştir (Aroca ve ark. 2010).

Jankovic ve ark. 2010 yılında yapmış oldukları araştırmaların ilkinde, koronale kaydırılan flep ve TZF'nin kombine uygulaması ile koronale kaydırılan flep ve mine matris proteininin kombine uygulamasının klinik etkinliğini karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar diğer çalışmalarında ise, koronale kaydırılan flep ve TZF'nin kombine uygulaması ile koronale kaydırılan flep ve subepitelyal bağ dokusu greftinin kombine uygulamasını karşılaştırmışlardır (Jankovic ve ark. 2012). Her iki araştırmada da kök yüzeyi örtülme oranları bakımından karşılaştırılan yöntemler arasında fark olmadığı belirlenmiştir (Jankovic ve ark. 2012, Jankovic ve ark. 2010).

Kakudo yağ kökenli kök hücrelerin ve dermal fibroblastların kalsiyum ve trombinle aktive olmuş TZF ve TZP ile kök hücrelerin sayısında artma olduğunu tespit etmiştir. Kök hücrelerdeki maksimum proliferasyonun 7. günde olduğu bu çalışmada gösterilmiştir. TZF'nin yavaş polimerizasyon özelliğine sahip oluşu iyileşme mekanizmasını destekleyen en önemli özelliktir (Kakudo ve ark. 2008).

Cilt yüksek düzeyde estetik alan olarak kabul edilmekte ve ciltte meydana gelecek iyileşme döneminde skar oluşumu gelişmektedir. Primer kapatma oluşacak skarı minimal hale getirirse de cilt kaybının yaşandığı durumlarda büyük skar oluşumu gözlenmektedir. Trombositlerin yara alanında pıhtı oluşum sürecinde sitokin ve büyüme faktörlerinin salınımına neden olduğu bilinmektedir. İyileşme hücre kemotaksisi, proliferasyonu ve farklılaşması ile oluşur, doku debrisleri alandan uzaklaştırılır, anjiogenez ve uygun doku rejenerasyonu başlar. TZF hücre migrasyonunu sağlayan yara iyileşmesini destekleyen ve dolaşımdaki peptitlere afinitesi olan glizaminoglikanların yapısında hapsolmasına neden olur. Yapılan çalışmalar fibrin teknolojisinde ilk sırada yer alan TZF'nin biyolojik yapısı nedeniyle iyileşme üzerine olumlu etkisini açıklamak için yeterlidir (Eppley ve ark. 2006).

O'Connell ve ark. 2008 yılında TZF uygulanan venöz bacak ülserlerinin %65 inin 16 hafta içerisinde düzeldiğini klinik çalışmalarda göstermiştir (O'Connell ve ark. 2008).

Periferel sinir rejenerasyonu hücreselelement ve kimyasal mediyatör arası etkileşimle olmaktadır. Trombosit jellerin siyatik sinirde ufak boşluk rejenerasyonlarında etkisinin olduğunu bulunmuştur (1cm). Boş silikon tüpler sinir rejenerasyonunda zayıf etki oluştururken silikon tüpe hücreselelementler konularak yapılan iyileşmenin daha başarılı olacağı görüşü benimsenmiştir (Kaplan ve ark. 2011). Lichtenfels ve ark siyatik sinire TZF ve TZF uygulayarak yaptıkları çalışmada median sinir gövdesinde miyelin kılıf kalınlığında ve sinir fiber çapında artma gözlenmiştir (Lichtenfels ve ark. 2003).

TZF iskeletin iyileşme için ideal kaynak olduğu gösterilmiştir. Rejenerasyonda önemli rol oynayan hematopoetik kök hücre (HSCs), otolog kan kökenli iskeletin temel kaynağıdır. Son yıllarda HSCs farklılaşma potansiyeli üzerinde araştırma yapılmıştır (Lim ve ark. 2013, Nicolaidou ve ark. 2012). Ogawa ve ark. yaptığı çalışmada HSCs'nin pluripotent kapasitesi olduğuna dair güçlü kanıtlar sunmuştur. Kök hücreler immün modülatör olarak görev yapmaktadır (Ogawa ve ark. 2013).

TZF kullanımı sonrası oluşacak osteoblast proliferasyonu değerlendirilmiştir. Ayrıca western blot uygulanarak p-ERK, RANKL gibi çeşitli proteinlerin değerleri ve OPG değerleri ölçülmüştür (Chang ve ark. 2010). OPG TZF stimülasyonu ile artmıştır. RANKL değerlerinde TZF herhangi bir değişime neden olmamıştır. TZF kullanımı ile aktive olan p-ERK and OPG ile yeni kemik oluşumunun uyarıldığı çalışmalarda gösterilmiştir. Yeni kemik oluşumu sitokin ve büyüme faktör aracılıklı moleküler sinyallerle oluştuğu ortaya konmuştur (Giannobile 1996).

Fibrin teknolojileri ile ilgili yapılan çalışmalarda elde edilen otolog kanın yavaş santrifüj edilmesi ile elde edilen fibrin ağının 3 boyutlu esnek bir ağ yapısına sahip olmasına neden olur. Esnek yapıdaki fibrin ağının artmış hücre göçüne neden olacağı görüşü yaygındır. Santrifüj hızı ve süresine bağlı olarak kemik doku oluşumunu stimüle eden monositlerin fibrin yapısında az bulunması ve hücre transformasyonlarının yavaş olması nedeniyle yeni nesil trombosit konsantrasyonu olan G-TZF geliştirilmiştir. Azalan santrifüj hızı ve süresine bağlı olarak fazla miktarda monosit fibrin içerisinde tutulur ve kemik doku stimülasyonunu sağlayacak monositlerin makrofajlara transformasyonu hızlanmaktadır. Geliştirilmiş fibrin

pıhtısında yapılan histolojik incelemelerde hücre içeriğinin TZF ile aynı olduğu ancak geliştirilmiş fibrin ağındaki yapısal değişikliğin ve hücre konsantrasyonlarının farklı oluşu iyileşme sürecini değiştirebilir görüşü yaygındır. Çalışmamızda yeni nesil trombosit konsantrasyonu olan G-TZF'nin sert doku iyileşmesine etkisinin incelemesi hedeflenmiştir.

İkinci nesil trombosit konsantrasyonlarının yapısında olduğu gibi geliştirilmiş fibrin pıhtısında da T-B lenfositler bulunmaktadır. Lenfositler yaralanmalara karşı oluşacak spesifik ya da non spesifik immün yanıtı etkiler. Doku iyileşmesinin ilk aşamalarında önemli görevleri bulunmamaktadır. Boyce ve ark. yaptığı çalışmada CD8+ T-lenfositlerin yara iyileşmesinde azalmaya, B-lenfositlerin yara iyileşmesine olumlu katkıları olduğunu göstermiştir (Boyce ve ark. 2000, Schäffer ve ark. 1998).

G-TZF ile azalan santrifüj hızı ve artmış santrifüj zamanı ile trombositlerin pıhtının distal kısmında yüksek konsantrasyonda bulunmasına neden olmuştur. Ancak bu durum tam olarak ispatlanamamıştır.

Fibrinden zengin iskelete adını veren trombositler sadece yara kapanması ve pıhtılaşma mekanizması için önemli değildir. Aynı zamanda yüksek spektrumda salgıladığı sitokin, kemokin, büyüme faktörleri ve mediatörler ile yüksek rejeneratif potansiyel sunmaktadır. Plateletler von Willebrand factor (vWF), P-selectin, fibronektin, DEBF, (TKABF), vitronektin and fibrinogen salınımını sağlamaktadır. Salgıladığı büyüme faktörleri, adezyon molekülleri ve mediatörler yardımıyla trombositleri, nötrofilleri, monositleri, endotel hücreleri ve lenfositleri etkileyerek konakta immün yanıtı başlatır. Trombositler patojenleri algılama, yakalama ve yok etme aşamalarında da görev almaktadır. Trombositler enfekte hücrelerin ölümünü sağlar (Jenne 2013).

Monositlerin doku iyileşmesinde temel görevleri bulunmaktadır. İnflamasyon alana giderek nötrofil salınımından sonra makrofajlara dönüşür (Soltan ve ark. 2012). Makrofajlar multifonksiyonel hücrelerdir. Yabancı doku reaksiyonunda anjiyogenez ve osteogenezde rol almaktadır (Ekström ve ark. 2013, Maciel ve ark. 2014). Makrofajlar DEBF, TKABF, FBF, TEBF $\alpha$  ve  $-\beta$  ve diğer aktif biyolojik molekülleri (KMP-2) salgılayarak yaralanma sonrası hücre proliferasyonu ve doku restorasyonunu

sağlamaktadır (Ekström ve ark. 2013, Maciel ve ark. 2014). Doku onarımının tüm aşamaları boyunca aktif madde salınımı gözlenmektedir (Maciel ve ark. 2014).

G-TZF ile yapılan çalışmaların temel sonucu nötrofilik granulositlerin santrifüj zamanı ve hızına bağlı olarak TZF'ye kıyasla farklı dağılım paterni gösterdiğidir. Nötrofilik granulositler fagositik kapasitesi, nötrofilik ekstraselüler tuzaklar, degranulasyon kapasitesi ile erken inflamatuvar hücreler olarak gözlenmektedir (Kolaczowska ve Kubes 2013, Brinkmann ve ark. 2004).

Son çalışmalar olan nötrofilik granulositlerin doku rejenerasyonunu sağladığı gösterilmiştir. Nötrofiller inflamatuvar artıkların (nekrotik ve apoptotik hücreler) uzaklaştırılması için monositlerin yaraya yönelmesini sağlar (Kolaczowska ve Kubes 2013, Ley ve ark. 2007). Nötrofiller MMP9 (matrix metalloproteinase 9) hücre dışı matriks (HDM) gibi proteaz salgılayarak bölgenin debridmanını sağlar. Nötrofilik granulosit tarafından salınan MMP9 doku defektinin revaskülarizasyonunda önemli rol oynar (Christoffersson ve ark. 2012, Kolaczowska ve Kubes 2013). Bu hücreler doğuştan ya da adaptif immün yanıtı direk ya da indirek olarak B-T lenfosit ile iletişime geçerek düzenler. İçerdiği nörofilik granulosit ile G-TZF daha etkili fonksiyona ve başarılı doku rejenerasyonuna neden olmaktadır. Nötrofilik granulositlerin ortalama çapı 8.5-10 µm, monositlerin ortalama çapı 15-20 µm olarak tanımlanmıştır (Welsch 2010). Nötrofilik granulositlerin ufak çaplı oluşu santrifüj aşamasında diğer hücrelere kıyasla daha derinlere dağılmasına neden olabileceği görüşü savunulmaktadır.

Diferansiyel santrifüjleme; santrifüj durumu, farklı boyut, şekil ve yoğunluktaki partiküllerin sedimentasyon oranındaki farklılık temeline dayanmaktadır. Nötrofilik granulositlerin santrifüj protokolündeki değişikliğe bağlı olarak farklı tepki sergilediği açıklanamamıştır. Bu nedenle daha fazla araştırma bu bulguları doğrulamak ve farklı nötrofil davranışı biçimlerinin tanımlanabilmesi için daha fazla araştırma yapmak gerekir.

G-TZF ile yapılan güncel çalışmalar santrifüj gücüne dayalı olarak belirli hücrelerin dağılımındaki farklılıklarını göstermektedir. Bu konsept optimal iskelet yapısı oluşturma özelliği ve içeriği sayesinde belirli klinik uygulamalar için uygun

bulunmuştur. Güçlü içeriği yara iyileşmesine katkı sağlamakta, doku onarımı ve rejenerasyonunu sağlamaktadır.

Ek olarak G-TZF nötrofil ve makrofaj gibi karşılıklı uyarı sağlayan sinerjik etkileşim ile doku rejenerasyonunu sağlayan hücreleri sunarak ideal materyal kabul edilmektedir (Kolaczowska ve Kubes 2013).

G-TZF içeriğindeki nötrofilik granülositlerin santrifüj devir ve süresine bağlı olarak TZF'ye kıyasla pıhtı içerisinde dağılımının farklı olmasına bağlı olarak daha etkin doku iyileşmesi sağlayacağı görüşü çalışmalarla gösterilmiştir. Yaptığımız çalışmanın sonucunda elde edilen bulgular, anlatılan çalışmalardan farklı olarak TZF uygulanan deneklerde kemik iyileşmesinin daha fazla olmasına rağmen bu farkın anlamlı miktarda olmadığı görülmektedir. Operasyondan 2 ay sonra alınan örneklerde kontrol grubunda oluşan yeni kemik dokusu miktarı ortalama %42,5, TZF kullanılan grupta %56,9, G-TZF uygulanan grupta ise %55 olarak tespit edilmiştir. Yapılan istatistiksel analizde ise aradaki farkın istatistiksel açıdan anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Dohan ve ark. tarafından yapılan çalışmada TZF membranının G-TZF ile oluşturulan membrana kıyasla daha güçlü yapıda olduğu gösterilmiştir. G-TZF histolojik incelemeleri sonucu KMP2 fibrin pıhtısında tespit edilememiştir. Ancak TZF yapısında 7 gün boyunca KMP2 salınımının devam ettiği gözlenmiştir. TZF protokolünde G-TZF'ye kıyasla daha yoğun ve düzenli büyüme faktör salınımı tespit edilmiştir. Fibrin hacmi incelemeleri sonucu TZF yapısının G-TZF hacmine kıyasla %30 daha büyük olduğu gözlenmiştir. In vitro incelemelerde G-TZF membranının 3 günden kısa sürede çözünmeye başladığı ancak TZF membranının en az 7 gün yapısal bütünlüğünü sağladığı gözlenmiştir (Dohan ve ark. 2014). Çalışmamızda santrifüj sonrası elde edilen fibrin hacminin G-TZF de daha az oluşu bu çalışmayla benzerlik göstermektedir. Ancak TZF ve G-TZF'nin antikoagulan içermeyen tüpte santrifüj edilmesi ile kanın tüp ile temasa geçişi tüp yüzeyine yakın bölgelerde pıhtılaşma sürecinin başlamasına ve elde edilen fibrin hacminde değişikliğe neden olmaktadır. Çalışmayla ilgili daha detaylı araştırma yapılması gerekmektedir. Sert doku rejenerasyonunda KMP2 ve büyüme faktörlerinin önemi yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır. Histolojik incelemelerde G-TZF yapısında KMP2'ye rastlanılmaması

ve büyüme faktörlerinin az ve düzensiz salınımının doku iyileşmesinde TZF'ye kıyasla başarılı sonuçlar vermeyeceği düşünülmektedir. Yeni kemik dolum oranlarını değerlendirdiğimiz çalışmamızda G-TZF yeni kemik dolum oranının %55 iken TZF yeni kemik dolum oranının %56,9 oluşu bu görüşü destekler niteliktedir.

Gelecekte doku mühendisliğinin temel amacı kısa zamanda klinik ortamda hücre temelli doku oluşumunu sağlamak olacaktır. Sentetik ve doğal birçok materyal denense de osteojenik hücrelerin migrasyonu, proliferasyon ve farklılaşmasını sağlayacak ideal iskelet materyali oluşturulamamıştır (Vacanti ve Vacanti 2000). Bu nedenle doku mühendisliğinde enfeksiyon ve doku reddinin olmayacağı otojen biyomateryaller üzerinde çalışmalar yapılmaktadır (Ahmed ve ark. 2008, Mosesson 2005). Choukroun'un TZF varyasyonlarının osteoblast ve fibroblast hücre kültürleriyle kombinasyonundan sonraki ya da osteokondüktif granüllerin TZF ile in vivo karışımlarından sonraki durumlarının in vitro ve in vivo olarak değerlendirilmesi gerekmektedir.

Doku mühendisliği alanında yapılan güncel TZF çalışmalarında TZF membran ya da pıhtısına osteoblast kültürasyonundan sonra daha çok alkaline fosfataz aktivitesi olduğu gözlenmiştir (Gassling ve ark. 2013).

Çalışmamızın sonuçlarına göre; kemik doku oluşumu açısından TZF ve G-TZF arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadığı ancak trombosit zengin biyomateryallerin kullanımının kemik doku oluşumunda etkili olabileceği söylenebilir. Trombosit zengin biyomateryallerin kullanımı ile oluşacak kemiğin kalitesi ve kemik oluşum hızının tanımlanabilmesi için yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yeni nesil trombosit konsantrasyonu olan G-TZF'nin TZF ye kıyasla hücre proliferasyonu ve kolonizasyonu açısından üstün olduğu görüşü benimsenmekte ancak konunun daha iyi aydınlanabilmesi için TZF ve G-TZF'nin etkinliğinin değerlendirildiği daha detaylı çalışmaların gerekli olduğu düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

- ADELSON E, RHEINGOLD J, CROSBY W (1961) The platelet as a sponge, *A review. Blood*, 17, 767-774.
- AHMED TA, DARE EV, HINCKE M (2008) Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications, *Tissue Engineering, Part B: Review*, 14, 199–215.
- ALKAN E, ESEN E (2005) Platelet rich plasma in dentistry, *GÜ Diş Hek. Fak. Derg*, 23, 137-142.
- ALPAR K (1980) Ortopedi ilkeleri ve uygulamaları: Kemik fizyolojisi ve mineralizasyonu, Yorgancıoğlu Basımevi, Ankara, s:100-153.
- ALTUNTAŞ Z, GÜNDEŞLİOĞLU AÖ, INCE B, DADACI M, SAVACI N (2014) Trombositten zengin plazma, trombositten fakir plazma, trombositten zengin fibrin kavramları, yara iyileşmesindeki biyolojik rolleri ve plastik cerrahide kullanım alanları, *Turk Plast Surg*, 2, 22.
- ANITUA E, ANDIA I, ARDANZA B, NURDEN P, NURDEN AT (2004) Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration, *Thromb. Haemost.*, 91, 4.
- ANITUA E (1999) Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 4, 529-35.
- ANITUA E, SÁNCHEZ M, ORIVE G, ANDIA I (2007) The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields, *Biomaterials*, 31, 4551-60
- ANITUA E, SÁNCHEZ M, ZALDUENDO MM (2009) Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors, *Cell Proff*, 42(2), 162-170.
- ARINCI K, ELHAN A, (2001) Anatomi, 3. Baskı, Güneş Kitapevi, Ankara, s:1-5
- ARIKAN F, ÖZÇAKA Ö, BIÇAKÇI N (2007) Trombositten zengin plazma ve kemik grefti ile kombinasyonunun dar kemik içi defektlerde başarısının karşılaştırılması, *EÜ Diş Hek. Fak. Derg*, 28, 151-161
- AROCA S, KEGLEVICH T, NIKOLIDAKIS D, GERA I, NAGY K, AZZI R, ETIENNE D (2010) Treatment of class III multiple gingival recessions: a randomized-clinical trial, *J Clin Periodontol*, 37(1):88–97.
- BADEN SD (1999) Bioactive factors for bone tissue engineering, *Clin Orthop*, 367, 84-95
- BALCI H, TOKER H (2012) Trombositten zengin fibrin: özellikleri ve diş hekimliğinde kullanımı, *G.Ü Diş. Hek. Fak. Derg*, 29(3), 183-192



- BALZAS EA, DENLINGER JL (1993) Viscosupplementation: a new concept in treatment of osteoarthritis, *J Rheum*, 20 (39),7-9.
- BANCROFT JD, STEVENS A (1996) Theory and practice of histological techniques. 4th ed. Churchill Livingstone, 309-339
- BANSAL C, BHARTI V (2013) Evaluation of efficacy of autologous platelet-rich fibrin with demineralized-freeze dried bone allograft in the treatment of periodontal intrabony defects, *J Indian Soc Periodontol*, 17 (3), 361-6.
- BARBER FA, HRNACK SA, SNYDER SJ, HAPA O (2011) Rotator cuff repair healing influenced by platelet-rich plasma construct augmentation, *Arthroscopy*, 27, 1029-35.
- BAYRAM K (2012) Çukurova üniversitesi tıp fakültesi ve rehabilitasyon anabilim dalı, *Adana Arşive Kaynak Tarama Dergisi (Archives Medical Review Journal)*, 21(4), 236-245
- BENSAID W, TRIFFITT JT, BLANCHAT C, OUDINA K, SEDEL L, PETITE H (2003) A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation, *Biomaterials*, 24(14), 2497-502
- BONNEFOY A, DAENENS K, FEYS HB (2006) Thrombospondin-1 controls vascular platelet recruitment and thrombus adherence in mice by protecting (sub)endothelial VWF from cleavage by ADAMTS13, *Blood*, 107, 955–964
- BOO JS, YAMADA Y, OKAZAKI Y, HIBINO Y, OKADA K, HATA K, YOSHIKAWA T, SUGIURA Y, UEDA M (2002) Tissue-engineered bone using mesenchymal stem cells and a biodegradable scaffold, *J Craniofac Surg*, 13(2), 231-9
- BOYCE DE, JONES WD, RUGE F, HARDING KG, MOORE K (2000) The role of lymphocytes in human dermal wound healing, *Br. J. Dermatol*, 143(1), 59–65
- BRINKMANN V, REICHARD U, GOOSMANN C, FAULER B, UHLEMANN Y, WEISS DS (2004) Neutrophil extracellular traps kill bacteria, *Science*, 303(5663), 1532–5.
- BROND AR, RUBIN TC (1990) Fracture healing. surgery of the musculoskeletal system. 2nd ed. Churchill Livingstone, New York, 93-114
- CERVELLI V, GENTILE P, SCIOLI MG, GRIMALDI M, CASCIANI CU, SPAGNOLI LG, ORLANDI A (2009) Application of platelet rich plasma in plastic surgery: clinical and in vitro evaluation, *Tissue Eng Part C Methods*, 15(4), 625-3

- CERVELLI V, GENTILE P, DE ANGELIS B, CALABRESE C, DI STEFANI A, SCIOLI MG (2011) Application of enhanced stromal vascular fraction and fat grafting mixed with PRP in post-traumatic lower extremity ulcers, *Stem Cell Res*, 6(2), 103-11
- CHANG IC, TSAI CH, CHANG YC (2010) Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts, *J Biomed Mater Res A*, 95, 327- 332
- CHO MI, LIN WL, GENCO RJ (1995) Platelet-derived growth factor-modulated guided tissue regenerative therapy, *J Periodontol*, 66(6), 522-30
- CHOUKROUN J, ADDA F, SCHOEFFLER C, VERVELLE A (2001) An opportunity in perio-implantology: the PRF, *Implantodontie*, 42, 55–62
- CHOUKROUN J, DISS A, SIMONPIERI A, GIRARD MO, SCHOEFFLER C, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHYI J, DOHAN DM (2006a) 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*, 101(3), 56-60
- CHOUKROUN J, DISS A, SIMONPIERI A (2006b) Plateletrich 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 Endod*, 101, 299-303
- CHOUKROUN (2014): ACBID 2014 8th Int. Congress 2014
- CHUNG KW (1998) *Anatomi*, 3th ed. Çeviren: EKİNCİ N, Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul, S:1-2
- CHRISTOFFERSSON G, VÅGESJO E, VANDOOREN J, LIDÉN M, MASSENA S, REINERT RB (2012) VEGF-A recruits a proangiogenic MMP-9-delivering neutrophil subset that induces angiogenesis in transplanted hypoxic tissue, *Blood*, 120(23), 4653–62
- CONLEY CL (2004) Hemostasis. In V. B. Mountcastle (Ed.), *Medical Physiology*. St. Louis: Mosby, 1137–46.
- COTRAN RS, KUMAR V, ROBBINS SL (1999) *Robbin's pathologic basis of disease*. 6th ed. WB Saunders Co, London

- CROVETTI G, MARTINELLI G, ISSI M, BARONE M, GUIZZARDI M, CAMPANATI B (2004) Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds, *Transfus Apher Sci*, 30(2), 145-51
- CRUESS RL (1984) Healing of bone tendon and ligament: Fractures 2nd ed. Lippincott Co, Philadelphia, 147-167
- CURI MM, COSSOLIN GS, KOGA DH (2011) Bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws—an initial case series report of treatment combining partial bone resection and autologous platelet-rich plasma, *J Oral Maxillofac Surg*, 69, 2465–72
- DAVID M, PIERRE D, GIUSEPPE M (2010) Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependent way, *Achieves of Oral Biology*, 55(3), 185-194
- DAVID M, DOHAN E, MARCO DC, BYUNG-SOO K, NICOLE L, MARC Q, HOM-LAY W, NELSON RP (2014) The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of the a leucocyte-and platelet rich fibrin (L-PRF) clot membrane. Part 3: comparison of the growth factors content and slow release between the original L-PRF and modified A-PRF (advanced palatelet rich fibrin) membranes, *Poseido*, 2(2), 155-166
- DAY MS, OSTRUM RF, CHAO EYS, RUBIN CT (2000) Orthopaedic basic science, 2nd ed. Iowa American Academy of Orthopaedic Surgeons, 371-99.
- DEL CORSO M, MAZOR Z, RUTKOWSKI JL, DOHAN EHRENFEST DM (2012) The use of leukocyte- and platelet-rich fibrin during immediate postextractive implantation and loading for the esthetic replacement of a fractured maxillary central incisor, *J Oral Implantol*, 38(2), 181-7
- DELACURE MD (1994) Physiology of bone healing and bone grafts, *Otolaryngol Clin North Am*, 27(5), 859-74
- DELLA VALLE A, SAMMARTINO G, MARENZI G (2003) Prevention of postoperative bleeding in anticoagulated patients undergoing oral surgery: use of platelet-rich plasma gel, *J Oral Maxillofac Surg*, 61, 1275–1278
- DEREKA XE, MARKOPOULOU CE, VROTSOS IA (2006) Role of growth factors on periodontal repair, *Growth Factors*, 24, 260-267

- DINARELLO CA (2004) Therapeutic strategies to reduce IL-1 activity in treating local and systemic inflammation, *Curr Opin Pharmacol*, 4(4), 378-85
- DISS A, DOHAN DM, MOUHAYI J, MAHLER P (2008) Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 105,572-579
- DOHAN EHRENFEST DM, DOGLIOLI P, DE PEPPO GM, DEL CORSO M, CHARRIER JB (2010a) Choukroun's Platelet-rich Fibrin (PRF) stimulates in vitro proliferation and differentiation of human oral bone mesenchymal stem cell in a dose-dependant way, *Arch Oral Biol*, 55(3),185-94
- DOHAN DM, CHOUKROUN J, DISS A, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHAYI J, GOGLY B (2006c) 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*, 101(3), 51-5
- DOHAN DM, CHOUKROUN J, DISS A, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHAYI J, GOGLY B (2006a) Platelet-rich fibrin (PRF): A second generation platelet concentrate. Part I: Technological concept and evolution, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101,37-44
- DOHAN EHRENFEST DM, DE PEPPO GM, DOGLIOLI P, SAMMARTINO G (2009b) 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*, 27,63-69
- DOHAN EHRENFEST DM, RASMUSSEN L, ALBREKTSSON T (2009a) Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF), *Trends Biotechnol*, 27,158-167
- DOHAN EHRENFEST DM, DEL CORSO M, DISS A, MOUHAYI J, CHARRIER JB (2010b) Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane, *J Periodontol*, 81(4), 546-55
- DOHAN DM, CHOUKROUN J, DISS A, DOHAN SL, DOHAN AJ, MOUHAYI J, GOGLY B (2006b) Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 101(3)45-50

- DONALD RH, GARY K (2013) Lines prevention of localized osteitis in mandibular third-molar sites using Platelet-Rich Fibrin, *Int J Dent*
- DOUGHERTY E (2008) An evidence- based model comparing the cost effectiveness of platelet-rich plasma gel to alternative therapies for patients with nonhealing diabetic foot ulcers, *Adv Skin Wound Care*, 21, 568-75.
- DURMUŞ AS, ERÖKSÜZ H (2008) Subkondral defektlerde otojen spongiyöz kemik grefti ve koral implant uygulamalarının karşılaştırılması. Köpek diz ekleminde deneysel çalışma, *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları Dergisi*,6,72-77
- EKSTROM K, OMAR O, GRANÉLI C, WANG X, VAZIRISANI F, THOMSEN P (2013) Monocyte exosomes stimulate the osteogenic gene expression of mesenchymal stem cells, *PLoS ONE*, 8(9), 75227
- EPPLEY BL, PIETRZAK WS, BLANTON M (2006) Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery, *Plast Reconstr Surg*, 118,147-159
- EVERTS PA, VAN ZUNDERT A, SCHONBERGER JP, DEVILEE RJ, KNAPE JT (2008) What do we use: platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res A*, 85,1135–6
- FENG X, CLARK RA, GALANAKIS D, TONNESEN MG (1999) Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of alphav/beta3 mRNA by fibrin1, *J Invest Dermatol*, 113(6), 913-9
- FILARDO G, KON E, DELLA VILLA S, VINCENTELLI F, FORNASARI PM, MARCACCI M (2010) Use of platelet-rich plasma for the treatment of refractory jumper's knee, *Int Orthop*, 34, 909-15
- FINDIKCIOGLU K, FINDIKCIOGLU F, YAVUZER R, ELMAS C, ATABAY K (2009) Effect of trombosit-rich plasma and fibrin glue on healing of critical-size calvarial bone defects, *J Craniofac Surg*, 34-40
- FINDIKCIOGLU K, (2006) Trombositten Zengin ve Fakir Plazmanın Kritik Boyutta Kemik Defekti İyileşmesi Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı.
- FROJMOVIC MM, PANJWANIR (1976) Geometry of normal mammalian platelets by quantitative microscopic studies, *Biophys J*, 16,1071-1089

- GARTNER LP, JAMES LH (2000) Color Atlas of Histology, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, s:73
- GARTNER LP, Hiatt James I. (1997) Color Textbook of Histology 114-130
- GASSLING V, DOUGLAS T, WARNKE PH, ACIL Y, WILTFANG J, BECKER ST (2010) Platelet-rich fibrin membranes as scaffolds for periosteal tissue engineering, *Clin Oral Implants Res*, 21, 543-549
- GASSLING V, HEDDERICH J, ACIL Y, PURCZ N, WILTFANG J, DOUGLAS T (2013) Comparison of platelet rich fibrin and collagen as osteoblast-seeded scaffolds for bone tissue engineering applications, *Clin Oral Implants Res*, 24 (3), 320-8
- GIANNOBILE WV (1996) Periodontal tissue engineering by growth factors, *Bone*, 19,23–37
- GIBBLE JW, NESS PM (1990) Fibrin glue: The perfect operative sealant? *Transfusion*, 30(8), 741-7
- GHANAATI S, UNGER RE, WEBBER MJ, BARBECK M, ORTH C, KIRKPATRICK JA (2011b) Scaffold vascularization in vivo driven by primary human osteoblasts in concert with host inflammatory cells, *Biomaterials*, 32(32),8150–60
- GHANAATI S, ORTH C, UNGER RE, BARBECK M, WEBBER MJ, MOTTA A (2010) Finetuning scaffolds for tissue regeneration: effects of formic acid processing on tissue reaction to silk fibrin, *J Tissue Eng Regen Med*, 4(6),464–72
- GHANAATI S, SCHLEE M, WEBBER MJ, WILLERSHAUSEN I, BARBECK M, BALIC E (2011) Evaluation of the tissue reaction to a new bilayered collagen matrix in vivo and its translation to the clinic, *Biomed Mater*, 6(1), 15010
- GHANAATI S, BOOMS P, ORLOWSKA A, KUBESCH A, LORENZ J, RUTKOWSKI J, LANDES C, SADER R, KIRKPATRICK C, CHOUKROUN J (2014) Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells, *J Oral Implantol*, 40 (6), 679-89
- GLOBUS RK, PLOUET J, GOSPODAROWICZ D. (1989) Cultured bovine osteoblasts synthesize basic fibroblast growth factor and store it in their extracellular matrix, *Endocrinology*, 124, 1539-1547

- GONSHOR A (2002) Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: Background and process, *Int. J. Periodontics Restorative Dent*, 22, 547
- GOSENS T, PEERBOOMS JC, VAN LAAR W, DEN OUDSTEN BL (2011) Ongoing positive effect of platelet-rich plasma versus corticosteroid injection in lateral epicondylitis: a double-blind randomized controlled trial with 2-year follow-up, *Am J Sports Med*, 39,1200-8
- GUSTAFSSON BI, THOMMESEN L, STUNES AK, TOMMERAS K, WESTBROEK I, WALDUM HL, SLORDAHL K, TAMBURSTUEN MV, RESELAND JE, SYVERSEN U (2006) Serotonin and fluoxetine modulate bone cell function in vitro, *J Cell Biochem*, 98(1),139-51
- GUYTON ve HALL (1996) Hemostaz ve kan pıhtılaşması. Tıbbi Fizyoloji.Nobel Tıp Kitabevi,463-473.
- HAHN HB (1997) Osteopenic Bone Diseases In: Koopman WJ. Arthritis and Allied Conditions. 13th Edition. Williams& Wilkins Company, p:2203-2250.
- HAN JS, JOHN V, BLANCHARD SB, KOWOLIK MJ, ECKERT GJ (2008) Changes in gingival dimensions following connective tissue grafts for root coverage: comparison of two procedures, *J Periodontol*, 79(8), 1346-54
- HARRISON P, CRAMER EM (1993) Platelet alpha-granules, *Blood Rev*, 7, 52
- HE L, LIN Y, HU X, ZHANG Y, WU H. (2009) 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 Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 108,707-713
- HIBI H, YAMADA Y, UEDA M, ENDO Y (2006) Alveolar cleft osteoplasty using tissue-engineered osteogenic material, *Int J Oral Maxillofac Surg*, 35, 551-5
- HOLLINGER JO, KLEINSCHMIDT JC (1990) The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials, *J Craniofac. Surg*, 1(1), 60-8
- HOM DB (2008) New developments in wound healing relevant to facial plastic surgery, *Arch Facial Plast Surg*, 10(6), 402-6.

- INTINI G (2009) The use of platelet-rich plasma in bone reconstruction therapy, *Biomaterials*, 30(28), 4956-66
- JAEHOON C, KYUNG WM, HAK C (2012) The efficacy and safety of platelet rich plasma and adipose derived stem cells. An update, *Archives of Plastic Surgery*, 585-92.
- JANG ES, PARK JW, KWEON H, LEE KG, KANG SW, BAEK DH, CHOI JY, KIM SG (2003) 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*, 109(6), 831-6
- JANG SE, PARK WJ, KWEON HY, LEE KG, KANG SW, BAEK DH, CHOI JY, KIM SG (2010) 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*, 109, 831-836
- JANKOVIC S, ALEKSIC Z, KLOKKEVOLD P, LEKOVIC V, DIMITRIJEVIC B, KENNEY EB, CAMARGO P (2012) Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial, *Int J Periodontics Restorative Dent*, 32(2), 41-50.
- JANKOVIC S, ALEKSIC Z, MILINKOVIC I, DIMITRIJEVIC B (2010) The coronally advanced flap in combination with platelet-rich fibrin (PRF) and enamel matrix derivative in the treatment of gingival recession: a comparative study, *Eur J Esthet Dent*, 5(3), 260-73
- JENNE CN, URRUTIA R, KUBES P (2013) Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity, *Int J Lab Hematol*, 35 (3), 254-61
- JUNQUEIRA LC, CARNEIRO J (2003) Basic Histology, 10th ed., McGraw-Hill, New York. S:144-146
- JURK K, CLEMETSON KJ, DE GROOT PG (2003) Thrombospondin-1 mediates platelet adhesion at high shear via glycoprotein Ib (GPIb): an alternative/backup mechanism to von Willebrand factor, *FASEB J*, 17, 1490–1492
- KAKUDO N, MINAKATA T, MITSUI T, KUSHIDA S, NOTODIHARDJO FZ, KUSUMOTO K (2008) Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts, *Plast Reconstr Surg*, 122, 1352–60.



KALFAS IH (2001) Principles of bone healing, *Neurosurg Focus*, 15, 10(4),

KAPLAN S, PISKIN A, AYYILDIZ M, AKTAS A, KOKSAL B, ULKAY MB, TURKMEN AP, BAKAN F, GEUNA S (2011) The effect of melatonin and platelet gel on sciatic nerve repair: An electrophysiological and stereological study, *Microsurgery*, 31(4), 306–313

KAUSHANSKY K, LICHTMAN MA, BEUTLEN E, KIPPS TJ, SELINGSOHN U, PRCHAL JT (2010) Williams Hematology, 8th edition, Medical, New York, p:41-64

KERN W.F. (2005) 'Hematoloji'. Çeviri editörü;Burhan Ferhanoglu. İstanbul Medikal Yayıncılık. İstanbul, S.1-16.

KEYHAN SO, HEMMAT S, BADRI AA, ABDESHAHAZADEH A, KHIABANI K (2013) Use of platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in combination with fat graft: which is more effective during facial liposuction? *J Oral Maxillofac Surg*, 71(3),610-21

KEYV SV, JACOBSON MS (2004) Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel, *J. Extra Corpor. Technol.* 36, 28

KHAN SN, BOSTROM MPG, LANE JM (2000) Bone growth factors, *Orthop Clin North AM*, 31,375-389

KHOSLA S, BURR D, CAULEY J (2007) Bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw: report of a task force of the American Society for Bone and Mineral Research, *J Bone Miner Res*, 22, 1479–91

KIERSZENBAUM AL, (2006) Histoloji ve Hücre Biyolojisi 1th ed. Çeviren: Demir R, Palme Yayıncılık, Ankara, s:95-144

KILICOGLU SS (2002) Mikroskopi Düzeyinde Kırık İyileşmesi, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası, 55(2), 143-150

KOÇYİĞİT İD, TUNALI M, ÖZDEMİR H, KARTAL Y, SÜER BT (2012) İkinci nesil trombosit konsantrasyonunun klinik uygulamaları, *Cumhuriyet Dent J*,15,279-287

- KIM BJ, KWON TK, BAEK HS, HWANG DS, KIM CH, CHUNG IK, JEONG JS, SHIN SH (2012) A comparative study of the effectiveness of sinus bone grafting with recombinant human bone morphogenetic protein 2-coated tricalcium phosphate and platelet rich fibrin mixed tricalcium phosphate in rabbits, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*, 113(5), 583-92
- KITOH H, KITAKOJI T, TSUCHIYA H, KATOH M, ISHIGURO N (2007) Transplantation of culture expanded bone marrow cells and platelet rich plasma in distraction osteogenesis of the long bones, *Bone*, 40, 522–8
- KOLACZKOWSKA E, KUBES P (2013) Neutrophil recruitment and function in health and inflammation, *Nat. Rev. Immunol*, 13(3), 159–75
- KOSTOPOULOS L, KARRING T (1995) Role of periosteum in the formation of jaw bone. an experiment in the rat, *J Clin Periodontol*, 22, 247-254
- LAU AN, ADACHI JD (2009) Resolution of osteonecrosis of the jaw after teriparatide [recombinant human PTH-(1-34)] therapy, *J Rheumatol*, 36, 1835–7
- LEE EH, KIM JY, KWEON HY (2010) 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*, 109,33–38
- LEE GR, BITHALL TC, FOERSTER J. Wintrobe's Clinical Hematology; 9. Baski, 1993- Philadelphia-London
- LEE CYS, DAVID T, NISHIME M (2007) Use of platelet rich plasma in the management of oral bisphosphonate associated osteonecrosis of the jaw: a report of 2 cases, *J. Oral Implantology*, 6,371-382
- LEY K, LAUDANNA C, CYBULSKY MI, NOURSHARGH S (2007) Getting to the site of inflammation: the leukocyte adhesion cascade updated, *Nat. Rev. Immunol*, 7(9),678–89
- LIU Y, ZHOU Y, FENG H, MA G, NI Y (2008) Injectable tissue engineered bone composed of human adipose derived stromal cells and platelet rich plasma, *Biomaterials*, 29,3338-3345

- LICHTENFELS M, COLOME L, SEBBEN AD, BRAGA SJ (2003) Effect of platelet rich plasma and platelet rich fibrin on sciatic nerve regeneration in a rat model, *Microsurgery*, 33(5),383-90
- LING H, LIN Y, HU X, ZHANG Y, WU H (2009) A comparative study of platelet rich fibrin and platelet rich plasma on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblast in vitro, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 108,707-713
- LIM WF, INOUE-YOKOO T, TAN KS, LAI MI, SUGIYAMA D (2013) Hematopoietic cell differentiation from embryonic and induced pluripotent stem cells, *Stem Cell Res Ther*, 4(3),71
- LYNCH SE (2008) Tissue engineering: applications in oral and maxillofacial surgery and periodontics. Hanover Park, IL: Quintessence Pub, 2008, 11
- LYNCH SE, GENCO RJ, MARXS RE (1999) Tissue Engineering, Quintessence books, Illinois, p:217-226
- MACIEL J, OLIVEIRA MI, COLTON E, MCNALLY AK, OLIVEIRA C, ANDERSON JM (2014) Adsorbed fibrinogen enhances production of bone and angiogenic related factors by monocytes/macrophages, *Tissue Eng Part A*, 20(1-2), 250–63
- MAES C, CARMELIET P, MOERMANS K, STOCKMANS I, SMETS N, COLLEN D (2002) Impaired angiogenesis and endochondral bone formation in mice lacking the vascular endothelial growth factor isoforms VEGFF164 and VEGF188, *Mech. DEV*, 111:61,
- MAN D, PLOSKER H, WINLAND-BROWN JE (2001) The use of autologous platelet-rich plasma (trombosit gel) and autologous trombosit-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery, *Plast Reconstr Surg*, 107(1),229-37
- MANSON PN (1994) Facial bone healing and bone grafts. A review of clinical physiology, *Clin Plast Surg*, 21(3), 331-48
- MARTINS MA, MARTINS MD, LASCALA CA (2012) Association of laser phototherapy with PRP improves healing of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaws in cancer patients: a preliminary study, *Oral Oncol*, 48:79–84

- MARX R, CARLSON E, EICHSTAEDT R, SCHIMMELE S, STRAUSS J, GEORGEFF KR (1998) Platelet rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 85, 638-646
- MARX RE (2003) Pamidronate (Aredia) and zoledronate (Zometa) induced avascular necrosis of the jaws: a growing epidemic, *J Oral Maxillofac Surg*, 61, 1115-7.2
- MAZOR Z, HOROWITZ RA, DEL CORSO M, PRASAD HS, ROHRER MD, DOHAN EHRENFEST DM (2009) 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*, 80, 2056-2064
- MILANO G, SANNA PASSINO E, DERIU L, CAREDDU G, MANUNTA L, MANUNTA A (2010) The effect of platelet rich plasma combined with microfractures on the treatment of chondral defects: an experimental study in a sheep model, *Osteoarthritis Cartilage*, 18, 971-80
- MILLER Mark D. (1996) Review of Orthopaedics 2nd edition. 1996:1-22
- MISHRA A, WOODALL J, VIERIA A (2009) Treatment of tendon and muscle 15. using platelet rich plasma, *Clin Sports Med*, 28(1), 113-25
- MONTO RR (2012) Platelet rich plasma treatment for chronic achilles tendinosis, *Foot Ankle Int*, 33, 379-85
- MORISSON MS, TURIN L, KING BF, BURNSTOCK G, ARNETT TR (1998) ATP is a potent stimulator of the activation and formation of rodent osteoclast, *J Physiol*, 511,495-500
- MOSESSON, MW (2005) Fibrinogen and fibrin structure and functions, *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 3, 1894-1904
- MURRAY MM, PALMER M, ABREU E, SPINDLER KP, ZURAKOWSKI D, FLEMING BC (2009) Platelet-rich plasma alone is not sufficient to enhance suture repair of the ACL in skeletally immature animals: an in vivo study, *J Orthop Res*, 27, 639-45
- MÜFTÜOĞLU E. (1994) 'Klinik Hematoloji' Şahin Yayıncılık, Diyarbakır, S.3

- NEVINS M, GIANNOBILE WV, MCGUIRE MK, KAO RT, MELLONIG JT, HINRICHS JE (2005) Platelet-derived growth factor stimulates bone fill and rate of attachment level gain: Results of a large multicenter randomized controlled trial, *J. Periodontol*, 76, 2205–15
- NICOLAIDOU V, WONG MM, REDPATH AN, ERSEK A, BABAN DF, WILLIAMS LM (2012) Monocytes induce STAT3 activation in human mesenchymal stem cells to promote osteoblast formation, *PLoS ONE*, 7(7), 39871
- NURDEN AT, NURDEN P, SANCHEZ M, ANDIA I, ANITUA E (2008) Platelets and wound healing, *Front Biosci*, 13, 3532-48
- O'CONNELL S, IMPEDUGLIA T, HESSLER K, WANG X-J, CARROLL R, DARDIK H (2008) Autologous platelet-rich fibrin matrix as cell therapy in the healing of chronic lower-extremity ulcers, *Wound Repair Regen*, 16, 749–56
- O'CONNELL SM (2007) Safety issues associated with platelet-rich fibrin method, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 103(5),587-93
- OGAWA M, LARUE AC, MEHROTRA M (2013) Hematopoietic stem cells are pluripotent and not just "hematopoietic" blood cells, *Mol. Dis*, 51(1),3-8
- OWENS RF JR, GINNETTÌ J, CONTI SF, LATONA C (2011) Clinical and magnetic resonance imaging outcomes following platelet rich plasma injection for chronic midsubstance Achilles tendinopathy. *Foot Ankle Int.* (32):1032-9.
- ÖZGÜL Ö, ŞENSES F, ER N, TEKİN U, TÜZ HH, ALKAN A, KOÇYİĞİT İD, ATIL F (2015) Efficacy of platelet rich fibrin in the reduction of the pain and swelling after impacted third molar surgery: Randomized multicenter split-mouth clinical trial, *Head Face Med*, 11:37
- ÖZKAYNAK C (2007) Deneysel olarak diabet oluşturulmuş tavşanlarda trombosit zengin plazma uygulamasının kemik iyileşmesi üzerine etkisinin histopatolojik olarak değerlendirilmesi. Doktora Tezi. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- ÖZTÜRK MK, BOZKURT FY (2005) Periodontal rejenerasyonda yeni bir yaklaşım: trombosit zengin plazma, *CÜ Diş Hek. Fak. Derg.* 8, 119-127
- PAULUS JM, BURY J, GROSDENT JC (1979) Control of platelet territory development in megakaryocytes, *Blood Cells*, 5, 59-88

- PECK MT, MARNEWICK J, STEPHEN L (2011) Alveolar ridge preservation using leukocyte and platelet-rich fibrin: a report of a case, *Case Rep Dent*, 345048.
- PIERCE GF, TARPLEY J, YANAGIHARA D, DEUEL TF (1992) PDGF-BB, TGF-B1, and basic FGF in dermal wound healing: neovessel and matrix formation and cessation of repair, *Am J Pathol*, 140,1375-1388
- PISKIN A, KAPLAN S, AKTAS A, AYYILDIZ M, RAIMONDO S, ALIC, T, BOZKURT HH, GEUNA S (2009) Platelet gel does not improve peripheral nerve regeneration: An electrophysiological, stereological, and electron microscopic study, *Microsurgery*, 29, 144–153
- PLACHOKOVA AS, NIKOLIDAKIS D, MULDER J, JANSEN JA, CREUGERS NH (2008) Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review, *Clin Oral Implants Res*, 19(6), 539-45
- PRICE PA (1985) Vitamin-K dependent formation of bone Gla protein (osteocalcin) and its function, *Vitam Horm*, 42, 65-108
- REID IR, CORNISH J (2012) Epidemiology and pathogenesis of osteonecrosis of the jaw, *Nat Rev Rheumatol*, 8, 90–6
- SAHNI A, ODRLJIN T, FRANCIS CW (1998) Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin, *J Biol Chem*, 273(13), 7554-9
- SALEMI S, RINALDI C, MANNA F, GUARNERI GF, PAROII PC (2008) Reconstruction of lower leg skin ulcer with autologous adipose tissue and trombosit-rich plasma, *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 61(12), 1565-7
- SAMMARTINO G, DOHAN EHRENFEST DM, CARILE F, TIA M, BUCCI P (2011) Prevention of hemorrhagic complications after dental extractions into open heart surgery patients under anticoagulant therapy: the use of leukocyte- and platelet-rich fibrin, *J Oral Implantol*, 37(6), 681-90
- SÁNCHEZ AR, SHERIDAN PJ, KUPP LI (2003) Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review, *Int J Oral Maxillofac Implants*, 18(1), 93-103.
- SARIGUNEY Y, YAVUZER R, ELMAS C (2008) Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration, *J Reconstr Microsurg*, 24, 159– 167

- SCHÄFFER M, BARBUL A (1998) Lymphocyte function in wound healing and following injury, *Br J Surg*, 85(4), 444–60
- SCLAFANI AP, MCCORMICK SA (2012) Induction of dermal collagenesis, angiogenesis, and adipogenesis in human skin by injection of platelet-rich fibrin matrix, *Arch Facial Plast Surg*, 14(2), 132–6
- SCLAFANI AP (2009) Application of platelet rich fibrin matrix in facial plastic surgery, *Facial Plast. Surg*, 25,270-276
- SOLTAN M, ROHRER MD, PRASAD HS (2012) Monocytes: super cells for bone regeneration, *Implant Dent*, 21(1), 13–20
- SOYDAN SS, UCKAN S (2014) Management of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw with a platelet-rich fibrin membrane: technical report, *J Oral Maxillofac Surg*, 72(2), 322-6
- SPENCER EM, TOKUNAGA A, HUNT KT (1993) Insulin like growth factor binding protein-3 is present in the  $\alpha$  granules of trombosit, *Endocrinology*, 132:996
- SUBRAMANIAN G, COHEN HV, QUEK SY (2011) A model for the pathogenesis of bisphosphonate-associated osteonecrosis of the jaw and teriparatide's potential role in its resolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 112:744–53
- SUNITHA RAJA V, MUNIRATHNAM NAIDU E (2008) Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate, *Indian J Dent Res*, 19, 42–6
- ŞENÇİMEN M, GÜLSES A, ÖZKAYNAK Ö, VAROL A, OKÇU KM, DOĞAN N (2009) Trombositten zengin fibrin membran kaplı otojen kemik grefti ile tek taraflı alveol yarığı onarımı, *HÜ Diş Hek. Fak. Derg*, 33,37-42
- THANASAS C, PAPADIMITRIOU G, CHARALAMBIDIS C, PARASKEVOPOULOS I, PAPANIKOLAOU A (2011) Platelet-rich plasma versus autologous whole blood for the treatment of chronic lateral elbow epicondylitis: a randomized controlled clinical trial, *Am J Sports Med*, 39, 2130-4
- TRINK A, SORBELLINI E, BEZZOLA P, RODELLA L, REZZANI R, RAMOT Y (2013) A randomized, double-blind, placebo and active-controlled, half-head study to evaluate the effects of platelet rich plasma on alopecia areata, *Br J Dermatol*, 169(3), 690-4

- TRIPPEL SB (1998) Potential role of insulin like growth factors in fracture healing, *Clin ortop Related Res*, 355,301-313
- TOFFLER M, TOSCANO N, HOLTZCLAW D, CORSO MD, DOHAN EHRENFEST DM (2009) Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu, *J Implant Adv Clin Dent*, 1,21–30
- TORIO-PADRON N, BAERLECKEN N, MOMENI A, STARK GB, BORGES J (2007) Engineering of adipose tissue by injection of human preadipocytes in fibrin, *Aesthetic Plast Surg*, 31, 285–293
- TSAI CH, SHEN SY, ZHAO JH, CHANG YC (2009) Platelet-rich fibrin modulates cell proliferation of human periodontally related cells in vitro, *J Dent Sci*, 4, 130-5
- TUNALI M, ÖZDEMİR H, KÜÇÜKODACI Z, AKMAN S, FIRATLI E (2013) In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate, *Br J Oral Maxillofac Surg*, 51(5), 438-43
- VACANTI CA, VACANTI JP (2000) The science of tissue engineering, *Orthopedic Clinics of North America*, 31, 351–356
- VITALIS T, PARNAVELAS JG (2003) The role of serotonin in early cortical development, *Dev Neurosci*, 25,245-256
- YAMADA Y, BOO JS, OZAWA R, NAGASAKA T, OKAZAKI Y, HATA K, UEDA M (2003) Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold, *J Craniomaxillofac Surg*, 31(1), 27-33
- YILMAZ C, ERDEMLİ E, SELEK H, KINIK H, ARIKAN M. (2001) The contribution of vitamin C to healing of experimental fractures, *Arc Trauma Surg*, 121, 426-8
- YU X, HSIEH SC, BAO W, GRAVES DT (1997) Temporal expression of PDGF regulatory effects on osteoblastic cells in mineralizing cultures, *Am J Physiol*, 272, 1709-1716
- ZHANG Y, TANGL S, HUBER CD, LIN Y, QIU L, RAUSCH- FAN X (2012) 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 Craniomaxillofac Surg*, 40(4), 321-8



ZIMMERMAN D, JIN F, LEBOY P, HARDLY S, DAMSKY C (2000) Impaired bone formation in transgenic mice resulting from altered integrin function in osteoblast, *Dev Biol*, 220, 2-15

ZUCCHELLI G, DE SANCTIS M (2000) Treatment of multiple recession-type defects in patients with esthetic demands, *J Periodontol*, 71(9), 1506-14

WELSCH U (2010) Lehrbuch Histologie. 3rd ed. München: Elsevier, Urban & Fischer

WERTHER K, CHRISTENSEN IJ, NIELSEN HJ (2002) Determination of vascularendothelial growth factor (VEGF) in circulating blood: significance of VEGF in various leucocytes and platelets, *Scand J Clin Lab Invest*, 62, 343-50

WHITE JG, GERRARD JM (1976) Ultrastructural features of abnormal blood platelets, *Am J Pathol*, 83, 590-614

WALLACE SS, FROUM SJ (2003) Effect of maxillary sinus augmentation on the survival of endosseous dental implants. A systematic review, *Ann Periodontol*, 8, 328-343.

## ÖZGEÇMİŞ

### I. Bireysel Bilgiler

Adı : **KÜBRA**  
Soyadı : **TİTİRİNLİ**  
Doğum Yeri/Tarihi : **MALATYA/03.06.1986**  
Uyruğu : **T.C**  
Medeni Durumu : **BEKAR**  
Adres : **Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği  
Fakültesi  
Ağız, Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim  
Dalı  
Kurtuluş Mah. 692 Sk. No: 31  
71200  
KIRIKKALE**  
Cep Telefonu : **05079919017**  
Mail Adresi: **kubra-titirinli@hotmail.com**

### Eğitim, Mezuniyet ve Görevler

**2006-21.06-2011** Yeditepe Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi  
**(MEZUNİYET)**

**09.07.2012---** Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız,  
Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi A.D **(Araştırma  
Görevlisi)**

#### Rotasyonlar

- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kulak-Burun-Boğaz Anabilim Dalı (4 Ay)
- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi, Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı (2 Ay)
- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı (1 ay)
- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Plastik Rekonstrüktif ve Estetik Cerrahi Anabilim Dalı (4 ay)

- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı (1 ay)
- Kırıkkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı (2 ay)
- Kırıkkale Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ortodonti Anabilim Dalı (1 ay)

## II. Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

- Ağız Çene Yüz Cerrahisi Birliği Derneği
- Türk Oral ve Maksillofasiyal Cerrahi Derneği

### A. **Ulusal ve Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan Ve Bildiri Kitabında Basılan Bildirileri**

1. TİTİRİNLİ K, TÜZ H.H, TEKİN U, KOÇYİĞİT İ.D, ATIL F, KUŞKAYA F.Ş, ÇAKIR A (2013) Effects of ankaferd blood stopper on alveolar osteitis (Dry Socket) following tooth extractions: a preliminary report. (P175) 7th ACBID Internationally Congress, 29 May – 2 June 2013 Antalya/Turkey.
2. TİTİRİNLİ K, TÜZ H.H, TEKİN U, KOÇYİĞİT İ.D, ATIL F, MISIRLIOĞLU M, YILMAZ S.Y (2013) A giant stone in Stensen's Duct: Two Case Report. (P174) 7th ACBID Internationally Congress, 29 May – 2 June Antalya/Turkey.
3. KOÇYİĞİT İ.D, TİTİRİNLİ K, TEKİN U, ATIL F (2014) Immediate implant placement with bone ring transplant to severe alveolar defects: three different clinical cases. Türk oral implantoloji derneği XXV. Uluslararası Bilimsel Kongresi 17-18 Ocak İstanbul/Turkey.
4. TİTİRİNLİ K, KOÇYİĞİT İ.D, ATIL F, TEKİN U, ÇULHAOĞLU A.K (2014) Maxillar Horizontal Atrophy Solution with Zygomatic İmplant. Türk oral implantoloji derneği XXVI. Uluslararası Bilimsel Kongresi 16-17 Ocak İstanbul /Türkiye.

5. TİTİRİNLİ K, KOÇYİĞİT İ.D, ATIL F, TEKİN U, ŞENGÜVEN B (2014) New Generation Platelet Concentration (A-PRF) Effects on Bone Formation in Standard Bone Defects: Animal Study (Sözlü sunum). Açıbid-Baoms Joint Congress in Conjunction with 4<sup>th</sup> Conferences of BAMFS 5-8 November İstanbul /Turkey.
6. TİTİRİNLİ K, KOÇYİĞİT İ.D, ATIL F, TEKİN U, SUER B.T (2014) Foreign Body Reaction after Dental Implant Treatment: A Rare Clinical Complication. Açıbid-Baoms Joint Congress in Conjunction with 4<sup>th</sup> Conferences of BAMFS 5-8 November İstanbul /Turkey.

### **B. Kongre, Sempozyum ve Kurs Katılımları**

1. Astra Tech 2nd Scientific Symposium 4D Aspect of implantology. 2009 Ankara/ Türkiye
2. International Craniofacial Anomalies Congress. 25-27 Nisan Isparta/ Türkiye
3. “ Aynı Günde Sabit Dişler” Dişsiz Hastada Maksimum Yaşam Kalitesi. All-on-4 Konsept: Cerrahi ve Protetik Yaklaşımlar Kursu. 11 Mayıs 2013 İstanbul/ Türkiye
4. 7th International ACBID Congress. 29 Mayıs – 2 Haziran 2013 Antalya/ Türkiye Botiss Kemik ve Doku Günleri 21 Kasım 2013 İstanbul/ Türkiye
5. Türk oral implantoloji derneği XXV. Uluslararası Bilimsel Kongresi 17-18 Ocak 2014 İstanbul/Türkiye
6. Diş Hekimliğinde Karşılaşılabilecek Acil yaklaşımlar 3-4 Nisan 2014 Kırıkkale/Türkiye
7. İş Güvenliği Kursu 7 Nisan 2014 Kırıkkale/Türkiye
8. Diş Hekimliği Lazer Güvenliği Kursu 29 Ağustos 2014 İstanbul/Türkiye
9. AÇBİD-BAOMS ortak kongresi 5-8 Kasım 2014 İstanbul/Türkiye
10. Nobel Biocare türkiye sempozyumu 14-15 Kasım 2014 Antalya/ Türkiye
11. Temporomandibular Eklem Sempozyumu “Teşhis ve Tedavi Seçenekleri 20 Kasım 2014 Kırıkkale /Türkiye
12. “Ortodonti ve Maksillo-Fasiyal Cerrahi” kursu 17 Aralık 2014 İstanbul/Türkiye
13. Oral Cerrahide A-Prf Sempozyumu 8 Ocak 2015 Ankara/ Türkiye
14. Türk oral implantoloji derneği XXVI. Uluslararası Bilimsel Kongresi 16-17 Ocak 2015 İstanbul

