



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DİŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (PRF) VE BÜYÜME
FAKTÖRLERİNDEN ZENGİN PLAZMA (PRGF)'NİN
HASARLI PERİFERİK SİNİR ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Damla TORUL

Samsun

Şubat-2018



ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
AĞIZ DIŞ VE ÇENE CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (PRF) VE BÜYÜME
FAKTÖRLERİNDEN ZENGİN PLAZMA (PRGF)'NİN
HASARLI PERİFERİK SİNİR ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Damla TORUL

**Danışman
Doç. Dr. M. Cihan BEREKET**

**Samsun
Şubat-2018**

T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Damla TORUL tarafından Doç. Dr. M. Cihan BERKET danışmanlığında hazırlanan 'Trombositten Zengin Fibrin (PRF) ve Büyüme Faktörlerinden Zengin Plazma (PRGF)'nın Hasarlı Periferik Sinir Üzerine Etkilerinin Deneysel Olarak İncelenmesi' başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından 20.02.2018 tarihinde yapılan sınav ile Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalında DOKTORA Tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Nilüfer ÖZKAN, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. S. Cemil İŞLER, İstanbul Üniversitesi

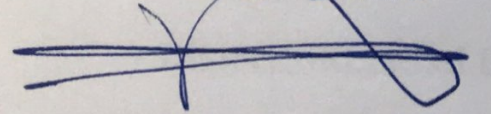
Üye : Doç. Dr. M. Cihan BERKET, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Üye : Doç. Dr. M. Melih ÖMEZLİ, Ordu Üniversitesi

Üye : Yrd. Doç. Dr. M. Emin ÖNGER, Ondokuz Mayıs Üniversitesi

ONAY: Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunca belirlenen ve yukarıda adları yazılı jüri üyeleri tarafından uygun görülmüştür.

05/03/2018



Prof. Dr. Ahmet UZUN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim sürecinde tüm akademik bilgi ve deneyimini benimle paylaşan ve tezimin planlanmasında ve yürütülmesinde büyük emekleri olan tez danışmanım Doç. Dr. M. Cihan BEREKET'e;

Tezime olan katkılarından dolayı tez izleme jürimdeki hocalarım Doç. Dr. Nilüfer ÖZKAN ve Yrd. Doç. Dr. M. Emin ÖNGER'e;

Doktora eğitimim süresince pratik ve teorik anlamda bilgi ve tecrübelerinden yararlanma fırsatı bulduğum, her zaman anlayışlı ve güleryüzlü olan Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma;

Tezimin deneysel bölümünün gerçekleştirilmesinde özveriyle yanımda olan ve en zor aşamalarda desteklerini esirgemeyen Dt. Ezgi YÜCEER, Dt. Dilara KAZAN ve Dt. Aynur TÜNEL'e;

Eğitim sürecim boyunca doktora kardeşliğini sonuna kadar hissettiren sevgi ve saygılarını yitirmeden hep yanımda olan fahri kardeşlerim Dt. Metehan KESKİN ve Dt. Hasancan AKGÜN'e

Tezimin stereolojik ve elektrofizyolojik analizlerinin yapılmasındaki katkılarından dolayı Araş. Gör. Gamze ALTUN'a;

Ağız Diş ve Çene Cerrahisi Anabilim Dalı'nda birlikte çalışma imkânı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma, klinik ve ameliyathane personeline;

Üniversite yıllarımdan beri yanımda olan ve desteğini her zaman hissettiren sevgili dostum Dr. Dt. Şenay KAYA'ya

Tez yazım sürecinde ve her ihtiyacım olduğunda bütün yoğunluğuna rağmen desteğini esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Sevda KURT'a;

Hayatımın her anında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim; fedakarlıklarını hiçbir zaman ödeyemeyeceğim sevgili aileme

TEŞEKKÜRLERİMLE...

ÖZET

TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN (PRF) VE BÜYÜME FAKTÖRLERİNDEN ZENGİN PLAZMA (PRGF)'NİN HASARLI PERİFERİK SİNİR ÜZERİNE ETKİLERİNİN DENEYSEL OLARAK İNCELENMESİ

Amaç: Bu çalışmada trombositten zengin fibrin (PRF) ve büyüme faktörlerinden zengin plazma (PRGF)'nin erken dönemde hasarlı periferik sinir üzerine etkilerinin deneysel olarak araştırılması amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Bu çalışmada Wistar Albino cinsi 30 rat kullanıldı. Denekler kontrol (K), hasar (H), PRF ve PRGF olmak üzere 4 gruba ayrıldı. H, PRF ve PRGF gruplarının sol siyatik sinirleri K grubu olarak belirlendi. H, PRF ve PRGF gruplarının sağ siyatik sinirlerinde ezilme tipi hasar oluşturuldu. PRF ve PRGF gruplarında deneklerden 2 ml kan alınarak PRF ve PRGF elde edildi ve hasarlı sinir bölgesine uygulandı. 8 hafta sonra fonksiyonel, elektrofizyolojik ve stereolojik incelemeler yapıldı.

Bulgular: Elektrofizyolojik inceleme sonuçlarına göre latans değerleri açısından H, PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). Amplitüt değerlerine göre H ile PRF ve PRF ile PRGF grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p=0,000$), ($p=0,030$). Siyatik fonksiyon indeksi sonucuna göre H grubu ile PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p=0,000$). Stereolojik inceleme sonucunda miyelinli akson sayısı bakımından PRGF ile K grupları arasında anlamlı fark bulunmazken ($p>0,05$), H ile PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p=0,007$), ($p<0,001$). Akson alanı bakımından H ile PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark saptandı ($p=0,021$), ($p=0,001$). Miyelin kılıf kalınlığı ve alan kalınlık oranı değerleri açısından H, PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$).

Sonuç: Bu çalışmanın verilerine göre; PRGF'nin erken dönemde sinir rejenerasyonunu arttırdığı ve PRF'nin erken dönemde görülen nispeten sınırlı etkisinin geç dönemde tekrar değerlendirilmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Büyüme faktörü; Periferik sinir; Sinir rejenerasyonu; Trombositten zengin fibrin

Damla TORUL, Doktora Tezi
Ondokuz Mayıs Üniversitesi-Samsun, Şubat-2018

ABSTRACT

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE EFFECT OF PLATELET RICH FIBRIN (PRF) AND PLASMA RICH IN GROWTH FACTORS (PRGF) ON INJURED PERIPHERAL NERVE

Aim: The aim of this study is to investigate the effects of platelet rich fibrin (PRF) and plasma rich in growth factors (PRGF) on the injured peripheral nerve in early period.

Material and Methods: 30 Wistar Albino rats were used in this study. Rats were divided into 4 groups as, control (C), injury (D), PRF and PRGF. The left sciatic nerves of the D, PRF and PRGF groups were identified as group C. Crush type injury was created in the right sciatic nerves of the D, PRF and PRGF groups. In the PRF and PRGF groups, 2 ml blood was obtained to prepare PRF and PRGF and were applied to the injured nerve area. After 8 weeks functional, electrophysiological and stereological evaluations were performed.

Results: Regarding electrophysiological evaluation results, latency values were not significantly different between D, PRF and PRGF groups ($p > 0.05$). There were significant differences between D and PRF, PRGF and PRF groups in terms of the amplitude values ($p = 0.000$) ($p = 0.030$) respectively. According to the sciatic functional index result, there was a significant difference between group D and the PRF, PRGF groups ($p = 0.000$). As a result of stereological evaluations, while no significant difference observed between PRGF and C groups ($p > 0.05$), significant difference observed between D group and PRF, PRGF groups in terms of number of myelinated axons ($p=0.007$), ($p<0,001$). There was a significant difference between D group and PRF, PRGF groups in terms of the axon area ($p = 0.021$), ($p = 0.001$). No significant difference observed between D, PRF and PRGF groups in terms of myelin sheath thickness and axon area-myelin thickness ratio ($p > 0.05$).

Conclusion: According to the results of this study; it has been concluded that PRGF increases nerve regeneration in the early period of healing and the relatively limited early action of PRF should be reevaluated in the late period.

Keywords: Growth factor; Nerve regeneration; Peripheral nerve; Platelet rich fibrin

Damla TORUL, Ph. D. Thesis
Ondokuz Mayıs University-Samsun, February-2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

ADP	: Adenozin difosfat
ATP	: Adenozin trifosfat
A-PRF	: Gelişmiş Trombositten Zengin Fibrin
A-PRF +	: Gelişmiş Trombositten Zengin Fibrin +
α	: Alfa
$\alpha\beta3$: Alfa-v beta-3
b-FGF	: Temel Fibroblastik Büyüme Faktörü
β	: Beta
BMP	: Kemik Morfogenetik Protein
CGF	: Konsantre Büyüme Faktörü
cm	: Santimetre
CTGF	: Bağ Dokusu Büyüme Faktörü
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
G	: Rölatif Santrifüj Kuvveti (RCF)
IGF-I	: İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-I
IGF-II	: İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü-II
IL-1β	: İnterlökin-1beta
IL-4	: İnterlökin-4
IL-6	: İnterlökin-6
I-PRF	: Enjektabl Trombositten Zengin Fibrin
kDa	: Kilodalton
kg	: Kilogram
L-PRF	: Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin
L-PRP	: Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MMP-8	: Matriks Metalloproteinaz-8
MMP-9	: Matriks Metalloproteinaz-9
m	: Metre
mm	: Milimetre
mmHg	: Milimetre civa
mg	: Miligram

ml	: Mililitre
m/s	: Metre/saniye
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
mV	: Milivolt
µl	: Mikrolitre
µm	: Mikrometre
N	: Newton
nm	: Nanometre
OFG	: Otojen Fibrin Yapıştırıcı
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PF4	: Trombosit Faktör 4
PPP	: Trombositten Fakir Plazma
PPGF	: Büyüme Faktörlerinden Fakir Plazma
PRP	: Trombositten Zengin Plazma
PRFM	: Trombositten Zengin Fibrin Matriks
PRGF	: Büyüme Faktörlerinden Zengin Plazma
P-PRF	: Saf Trombositten Zengin Fibrin
P-PRP	: Saf Trombositten Zengin Plazma
PRF	: Trombositten Zengin Fibrin
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
SFİ	: Siyatik Fonksiyon İndeksi
SS	: Standart Sapma
TGF- β	: Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta
TGF- β1	: Transforme Edici Büyüme Faktörü-beta 1
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktörü-alfa
T- PRF	: Titanyum-Trombositten Zengin Fibrin
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
γ	: Gama
δ	: Delta
°C	: Santigrad derece (Celsius)
%	: Yüzde

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
İÇİNDEKİLER	viii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Periferik Sinir Hücresinin Yapısı.....	4
2.1.1. Hücre Gövdesi	5
2.1.2. Dendrit	6
2.1.3. Akson	6
2.1.4. Miyelin Kılıf	7
2.1.5. Sinir Hücresi Tipleri	7
2.1.6. Bağ Dokusu.....	9
2.1.7. Vasküler Yapı	11
2.2. Periferik Sinir Hasarı	12
2.2.1. Periferik Sinir Hasarının Sınıflandırılması	13
2.2.2. Hasarlı Sinir Dokusunun Dejenerasyonu.....	16
2.2.3. Hasarlı Sinir Dokusunun Rejenerasyonu	18
2.3. Kandan Elde Edilen Biyomateryallerin Gelişimi	21
2.4. Trombosit Konsantreleri	23
2.4.1. Trombositlerin Yapısı	26
2.4.2. Fibrin Yapı.....	30
2.4.3. Lökositler	33
2.4.4. Sitokinler.....	34
2.4.5. Eritrositler	35
2.4.6. Trombosit Konsantrelerinin Terminolojisi ve Sınıflandırılması	36
2.5. PRGF	39
2.5.1. PRGF'nin Elde Edilişi	43
2.5.2. PRGF'nin Avantajları	45
2.5.3. PRGF'nin Dezavantajları.....	45
2.6. L-PRF.....	46

2.6.1. L-PRF'nin Elde EdiliŖi	49
2.6.2. L-PRF'nin Avantajları	53
2.6.3. L-PRF'nin Dezavantajları	54
3. MATERYAL VE METOT	55
3.1. Materyal	55
3.1.1. Deney Hayvanları	55
3.1.2. Deney Gruplarının OluŖturulması	55
3.2. Metot	56
3.2.1. Deney Protokolü	56
3.2.2. Postoperatif Bakım	63
3.2.3. İnceleme Yöntemleri	63
3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme	68
4. BULGULAR	69
4.1. SFİ Bulguları	69
4.2. Elektrofizyolojik Bulgular	70
4.2.1. Amplitüt	70
4.2.2. Latans	71
4.3. Stereolojik Bulgular	72
4.3.1. Miyelinli Akson Sayısı	72
4.3.2. Akson Alanı	73
4.3.3. Miyelin Kalınlığı	74
4.3.4. Alan Kalınlık Oranı	75
5. TARTIŖMA	76
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	95
KAYNAKLAR	97
EKLER	134
EK 1- Etik Kurul Onayı	134
EK 2- BaŖlık DeęiŖimi Onayı	135
ÖZGEÇMİŖ	136

1. GİRİŞ

Periferik sinir hasarları travma, iyatrojenik nedenler ve patolojik durumlar sonucunda ortaya çıkabilmektedir (Bowe ve ark., 2016; Senses ve ark., 2016; Zhang ve ark., 2016; Rosso ve ark., 2017). Bu hasarlar geçici bir iletim bloğundan artan ciddiye derecesine göre akson, sinir lifi, fasiküller ve nihayet tüm sinir gövdesinde devamlılık kaybına neden olan hasarlar şeklinde kendini göstermektedir (Sunderland, 1990). Periferik sinirlerde meydana gelen hasarlar çoğunlukla hayati tehlike oluşturmamakla birlikte uzun süreli iş gücü kaybına, estetik, psikolojik ve ekonomik sorunlara neden olmaktadır (Asplund ve ark., 2009; Menorca ve ark., 2013; Senses ve ark., 2016).

Maksillofasiyal cerrahi pratiğinde sıklıkla karşılaşılan bir klinik sorun olan sinir hasarlarının tedavisi sinir dokusunun sınırlı rejeneratif kapasitesi ve kompleks yapısı nedeniyle halen sorun oluşturmaktadır (Kucuk ve ark., 2014; Senses ve ark., 2016; Bastami ve ark., 2017). Periferik sinir hücreleri belirli düzeyde rejeneratif potansiyele sahip olsa da sinir hasarlarının fonksiyonel iyileşmesi çoğunlukla yetersiz olmakta ve optimal düzeye ulaşamamaktadır (Sanchez ve ark., 2017b). Hasarlı sinir hücrelerinin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün sağlanması amacıyla birçok farklı yöntem uygulanmıştır (Moy ve ark., 1988; Atabay ve ark., 1995; Lolley ve ark., 1995; Smith ve Robinson, 1995; Gorgulu ve ark., 1998; Haapaniemi ve ark., 1998; Voinesco ve ark., 1998; Wang ve ark., 1998; Galloway ve ark., 2000). Ancak, uygulanan yöntemlerin çoğunda hasarlı sinir dokusunun iyileşme süreci, zayıf rejenerasyon, anormal reinnervasyon ve hedef organ atrofisi ile sonuçlanmıştır (Kang ve ark., 2011a).

Son 30 yılda hücrel ve moleküler alanlarda ortaya çıkan ilerlemeler büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinler gibi birçok biyoaktif molekülün rol aldığı rejeneratif biyolojik süreçlerin daha iyi anlaşılmasını sağlamıştır (Arnoczky ve Sheibani-Rad, 2013). Başarılı bir rejeneratif süreç, bu biyoaktif moleküllerden gelen sinyallerin koordine edilmesi ve rejenerasyona neden olan hücrel olayların gerçekleşmesine bağlıdır (Barrientos ve ark., 2008). Periferik sinir rejenerasyonunun başarısı da büyük ölçüde hücrel elemanlar ile rejeneratif süreci yönlendiren kimyasal mediyatörler arasındaki etkileşime bağlıdır. Başarılı bir periferik sinir rejenerasyonu sağlayabilmek için hasarlı sinirin mikro çevresinde sinir hücresinin canlılığının ve fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemli rol oynayan lokal faktörlere ve hücre dışı matrikse ihtiyaç

vardır (Gao ve ark., 2008; Hart ve ark., 2008; Kang ve ark., 2011a; Faroni ve ark., 2015).

Trombositler doku rejenerasyonunda anahtar rol oynayan çok sayıda büyüme faktörü ve sitokini içerir. Trombositleri çeşitli santrifüj protokolleri ile trombosit zengin biyomateryaller haline getiren trombosit konsantreleri rejeneratif bir yaklaşım olarak popülerite kazanmıştır (Anitua ve ark., 2006a; Pal ve ark., 2012). Son yıllarda diş hekimliğinde birçok klinik problemin tedavisinde trombosit zengin ürünlerin kullanımı giderek artmaktadır (Tunali ve ark., 2013). Trombosit konsantrelerinin etkinliği, doku rejenerasyonunu koordine eden büyüme faktörleri ve proteinleri içeren biyomateryalin lokal olarak istenilen bölgeye uygulanmasına ve bu biyomateryalin içeriğindeki biyoaktif moleküllerin ortama salınımına bağlıdır (Piskin ve ark., 2009). Literatürde trombosit konsantrelerinin içerdiği biyoaktif moleküller ve fibrin matriksin sinir rejenerasyonu üzerindeki pozitif etkilerini bildiren araştırmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalarda trombosit konsantrelerinin nöroprotektif, nörojenik ve nöroinflamatuvar etkileri olduğu, duyu ve motor sinir fonksiyonlarını güçlendirici potansiyel taşıdıkları bildirilmiştir. Bunun yanında trombosit konsantrelerinin fonksiyonel sinir-kas birimi iyileşmesinde ve nöropatilerde biyolojik bir yardımcı olarak da etkili olduğu bildirilmiştir (Anitua ve ark., 2013a; Anjayani ve ark., 2014; Kuffler, 2014; Anitua ve ark., 2015a; Zheng ve ark., 2016; Sanchez ve ark., 2017a; Sanchez ve ark., 2017b).

Choukroun ve ark. (2000) tarafından geliştirilen trombosit zengin fibrin (PRF), yüksek rejeneratif potansiyeli olan bir trombosit konsantrisi olarak tanımlanmaktadır. PRF'nin biyolojik kapasitesi, trombositlerin aktivasyonu ile salınan mitojenik ve kemotaktik özelliklere sahip büyüme faktörlerinden ve fibrin yapısından kaynaklanır (Kang ve ark., 2011b). Çeşitli klinik ve deneysel çalışmalarda PRF'nin yara ve kemik iyileşmesi üzerinde olumlu etkileri olduğu bildirilmiştir (Simonpieri ve ark., 2009b; Simonpieri ve ark., 2011; Joseph ve ark., 2014; Acar ve ark., 2015; Tanaka ve ark., 2015; Aricioglu ve ark., 2017; Asaka ve ark., 2017; Du ve ark., 2017). Literatürde PRF'nin sinir rejenerasyonu üzerindeki etkileri ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır (Lichtenfels ve ark., 2013; Senses ve ark., 2016; Roth ve ark., 2017) Ancak, diğer dokular üzerinde bildirilen olumlu etkileri nedeniyle, PRF'nin sinir hasarının iyileşmesi üzerinde güçlü bir rejeneratif etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir.

Büyüme faktörlerinden zengin plazma (PRGF), plazma bazlı bir trombosit konsantresidir. Bu biyomateryalin lökositleri ihtiva etmemesi ve normal kan düzeyine oranla orta derecede yükselmiş bir trombosit konsantasyonu içermesi nedeniyle optimal bir biyolojik fayda sağladığı düşünülmektedir (Anitua ve ark., 2006a). PRGF ile ilgili birçok alanda araştırmalar yapılmış ve büyüme faktörlerinden zengin bu preparatın etkinliği ile ilgili olumlu sonuçlar bildirilmiştir (Sanchez ve ark., 2009; Anitua ve ark., 2011; Anitua ve ark., 2014; Anitua ve ark., 2015a; Fernandez-Ferro ve ark., 2017).

Maksillofasiyal bölgede görülen periferik sinir hasarlarının optimum düzeyde tedavisini sağlayan bir protokol henüz bildirilmemiştir. Dolayısıyla hem hasta hem de hekim için önemli bir klinik sorun olan sinir hasarlarının tedavisi için yeni yöntemlerin geliştirilmesine ihtiyaç vardır. Bu çalışmanın amacı hasarlı periferik sinir rejenerasyonu üzerinde, literatürde birçok doku üzerinde rejeneratif potansiyelleri olduğu kanıtlanmış olan PRF ve PRGF'nin erken dönemdeki etkilerinin araştırılması ve rejeneratif kapasiteleri açısından bu iki trombosit konsantresinin karşılaştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

Sinir sistemi milyarlarca sinir hücresi ve bu hücreler arasındaki trilyonlarca bağlantıdan oluşan organizmanın en karmaşık yapısıdır. Beyin ve omurilikten oluşan merkezi sinir sistemi ile kranial sinirler, omurilik sinirleri ve bunlarla ilişkili gangliyonlardan oluşan periferik sinir sistemi bu karmaşık yapının iki ana parçasıdır. Sinir sisteminin tüm vücuda yayılmış kısmı olan periferik sinir sistemi, merkezi sinir sistemi ile periferik organlar arasında çift yönlü etkileşimi sağlar (Myers, 1998; Shenaq ve Kim, 2006; Levitan ve Kaczmarek, 2015).

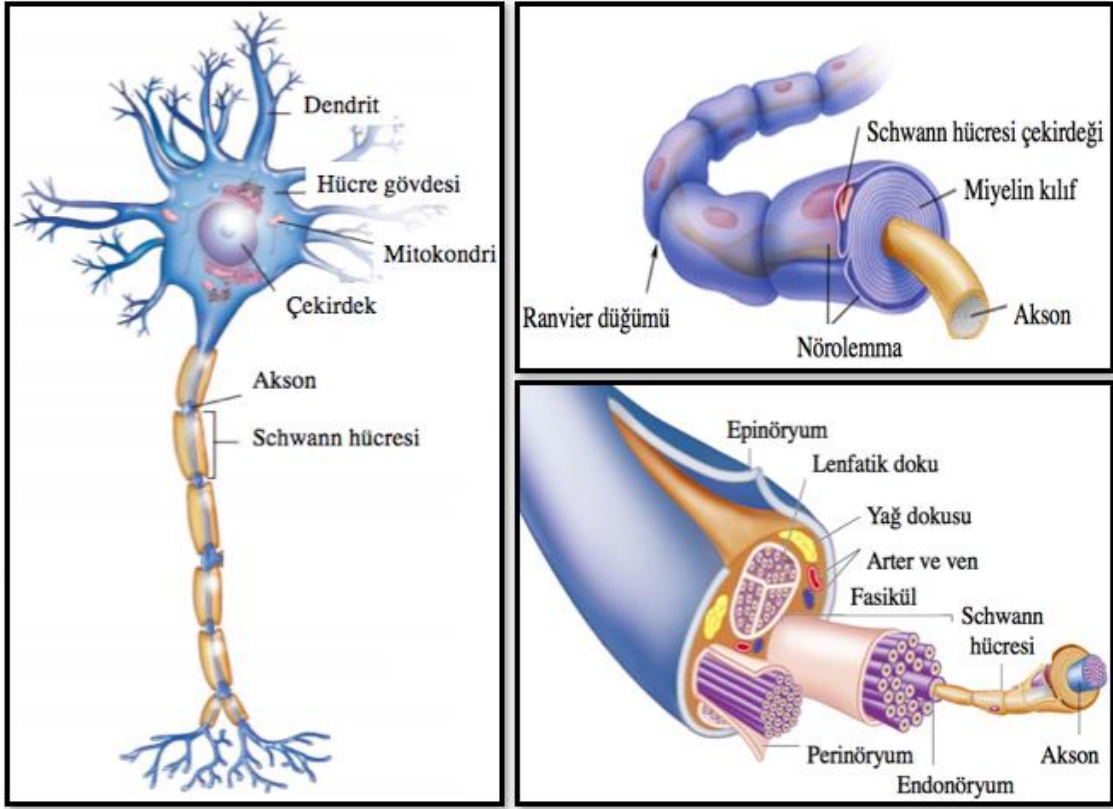
19. yüzyılın sonlarında ortaya atılan nöron teorisine göre bu karmaşık sistemin genetik, anatomik ve fonksiyonel olarak temel yapısal birimi sinir hücreleridir. Sinir hücreleri fiziksel ve kimyasal uyarılara yanıt vermek, elektrokimyasal sinyallerin iletimi ve çeşitli vücut süreçlerini düzenleyen kimyasalları salgılamak için özelleşmiş hücrelerdir. Karakteristik olarak sinir hücreleri uyarılabilir ve iletken bir yapıya sahiptir (Barr ve Kiernan, 1988; Snell, 1992; Fodstad, 2001).

2.1. Periferik Sinir Hücresinin Yapısı

Periferik sinir sisteminde motor, duyu ve otonom olmak üzere farklı görevleri olan üç tip sinir hücresi bulunur (Myers, 1998; Shenaq ve Kim, 2006). Bu hücreler; hücre gövdesi, çeşitli uzantılar ve destekleyici yapılardan meydana gelir (Şekil 1). Sinir liflerini çevreleyen bağ dokusu stroması ve sahip olduğu vasküler destek nedeniyle periferik sinir sistemi ayrı bir organ olarak da kabul edilmektedir (Kerns, 2008; Kaplan ve ark., 2009).

Farklı uyarıların iletimini sağlamak için vücudun çeşitli bölgelerine dağılmış olan periferik sinirler, morfolojik olarak her biri belirli bir fonksiyona sahip dört ana kısımdan oluşur:

- Hücre gövdesi (Soma)
- Dendrit
- Akson
- Presinaptik terminal (Barr ve Kiernan, 1988).



Şekil 1. Miyelinli bir periferik sinirin yapısı (Thibodeau ve Patton, 2013'dan uyarlanmıştır)

2.1.1. Hücre Gövdesi

Soma veya perikaryon olarak da bilinen hücre gövdesi, mikroskopik açıdan yuvarlak, oval veya piramit şeklinde gözlenebilir. Hücre gövdesinin en önemli özelliği, sinyal iletiminde görev alan birçok uzantıya sahip olmasıdır. Hücre gövdesi metabolik reaksiyonların gerçekleştiği yerdir ve büyüklüğü sinir hücreleri arasında farklılık gösterebilir. Her bir hücre gövdesi, büyük bir çekirdeğin yanı sıra büyüme, üretim ve çoğalmadan sorumlu endoplazmik retikulum, nissl cisimcikleri, lizozomlar, mitokondri, nörotübüller, nörofilamentler ve golgi aygıtı gibi organelleri de içerir. Nörotübüller ve nörofilamentler, hücre gövdesindeki uzantılara doğru yayılan ve her birinin uzun eksenine paralel olarak yerleşmiş iplikli lipoprotein yapılarıdır. Nörotübüller, hücre büyümesi, onarımı ve iletkenliğinden sorumlu kimyasalların ve proteinlerin hücre içi taşınmasına yardımcı olur. Nörofilamentler ise sinir hücresinin iskeletini oluşturur (deGroot ve Chusid, 1988; Carp, 2015).

2.1.2. Dendrit

Dendritler hücre gövdesine doğru sinir iletimini sağlayan kısa, ipliksi yapılardır. Dendritler çok sayıdadır ve yüksek oranda dallanmış yapıları bilgi almak için yüzey alanını artırır. Tipik periferik sinir hücre gövdesinde yaklaşık 300 kadar dendrit bulunabilir. Sinir hücrelerinde dendritlerin yapısı, dallanması ve voltaj kapılı iyon kanallarının mevcudiyeti hücrenin impuls iletimini düzenler. Voltaj kapılı iyon kanalları, elektrik potansiyelindeki değişikliklerle aktive edilen transmembran iyon kanallarının bir grubudur. Bu kanallar, sinir hücrelerinin impulslara verdiği tepkiyi güçlü bir şekilde etkiler (deGroot ve Chusid, 1988; Carp, 2015). Bir sinir hücresinden diğerine aktarılan iletiler, iletiyi yollayan hücrenin akson ucu ile iletiyi alan hücrenin dendrit membranı ya da hücre gövdesi arasındaki birleşme yeri olan sinapslar aracılığıyla transfer edilir (Snell, 1992).

2.1.3. Akson

Akson, hücreye bağlı olarak uzunluğu 1 mm ile 1 m ve çapı 0,1 ile 20 µm arasında değişiklik gösterebilen uzantılardır. Aksonun sitoplazması aksoplazma, plazma membranı ise aksolemma olarak adlandırılır. Akson plazmasında mitokondri, mikrotübüller, nörofibriller ve granülsüz endoplazmik retikulum bulunur. Poliribozomların ve granüler endoplazmik retikulumun aksoplazmada bulunmaması aksonal gereksinimlerin perikaryondan karşılandığını gösterir. Aksonlar, merkezi veya çevresel olarak dağılırken genellikle fasiküller olarak adlandırılan demetler halinde gruplandırılır. Eklem hareketlerinden olumsuz etkilenmemek için aksonlar fasiküller içerisinde dalgalı bir rota izler. Fonksiyonel olarak aksonlar, hücre gövdesi ile sinir, bez, reseptör veya motor ünite arasındaki aksiyon potansiyelini taşır. Sinirsel ileti akson vasıtasıyla diğer sinir hücrelerinin dendritlerine veya kaslar gibi diğer hedef dokulara iletilir. Akson, hücre gövdesi üzerindeki akson tepeciği (axon hillock) olarak adlandırılan koni şekilli kısımdan köken alır. Bu kısım aksonun uyarılabilirliğinin en yüksek olduğu ve aksiyon potansiyelinin kaynaklandığı bölgedir (deGroot ve Chusid, 1988; Snell, 1992; Carp, 2015).

Akson ve akson tepeciğinin birleştiği bölge, başlangıç segmenti olarak adlandırılır. Bu bölge miyelinsiz, kısa ve dar bir bölgedir. Burada sinir hücresinden gelen farklı uyarıcı veya inhibe edici iletiler değerlendirilerek bir aksiyon potansiyeli üretilip üretilmeyeceği belirlenir. Ana aksondan çıkan yan dallar, kollateral dallar olarak

adlandırılır. Akson ve kollateral dallar, telodendria denilen daha küçük dallardan oluşur. Telodendria'nın dallarında, sinaptik butonlar adı verilen küçük kısımlar bulunur. Sinaptik butonların başka bir sinir hücresinin plazma membranı ile etkileşime girdiği yer sinaps olarak adlandırılır (deGroot ve Chusid, 1988; Carp, 2015).

2.1.4. Miyelin Kılıf

Periferik sinir sistemindeki bazı sinir hücrelerinin aksonları, miyelin kılıf adı verilen, yalıtkan ve yüksek lipid içeriğine sahip bir kılıf ile çevrilidir. Miyelinli sinir hücrelerini koruyan ve iletim hızlarını arttıran miyelin kılıf, Ranvier düğümleri adı verilen bölgelerde düzenli aralıklarla kesintiye uğrar. Miyelinli sinirler 3 ile 120 m/sn; miyelinsiz lifler ise 0,6 ile 2 m/sn arasındaki hızlarda iletim gerçekleştirebilir. Miyelinli sinir liflerinde miyelin boyunca Schwann hücreleri tarafından oluşturulan eğik kesintiler görülür. Bu eğik kesintilere Schmidt-Lanterman yarıkları adı verilir (Barr ve Kiernan, 1988; Flores ve ark., 2000; Geuna ve ark., 2009).

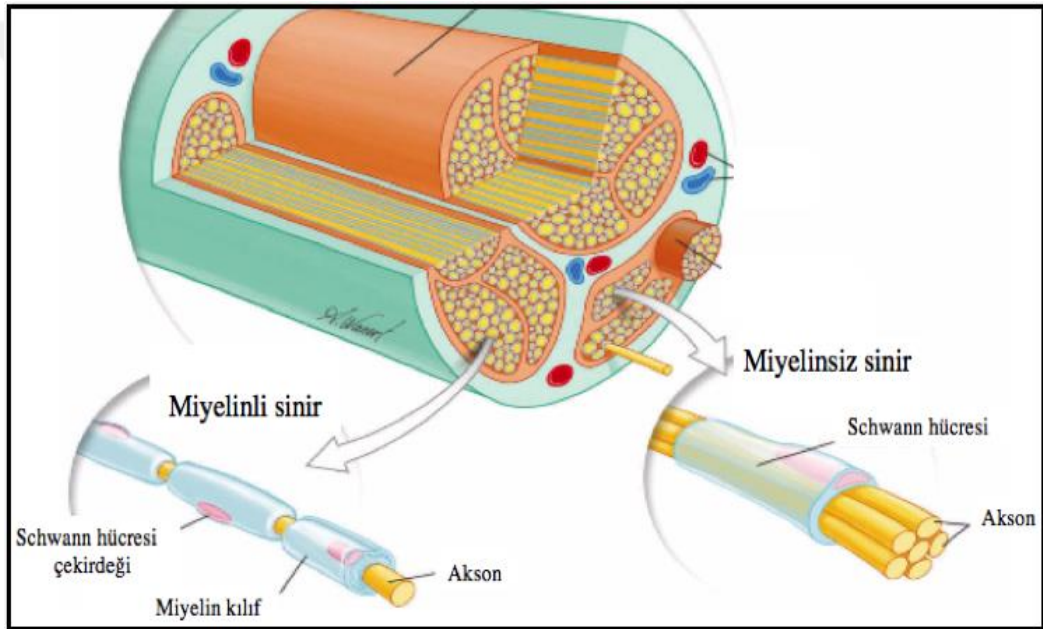
Periferik sinirlerde miyelin kılıfı nörolemosit veya Schwann hücresi tarafından oluşturulur. Schwann hücresi, aksonları sararak miyelin oluşturan bir çeşit glial hücredir. Schwann hücreleri iskemiye dayanıksızdır. Mekanik veya toksik faktörlerle hasar görmeleri aksonların demiyelinizasyonuna neden olur. Bu durumda, şiddetli sinir hasarı oluşabilir ve tam iletim blokajı meydana gelebilir. Diğer yandan, Schwann hücreleri sinir hasarını takiben bölgeyi temizlemek ve aksonların rejenerasyonunu yönlendirmekte de görev alır (Frostick ve ark., 1998; Hirata ve Kawabuchi, 2002; Mirajullah ve Shen, 2002; Burnett ve Zager, 2004; Makwana ve Raivich, 2005).

2.1.5. Sinir Hücresi Tipleri

Sinir lifleri miyelin içeriğine göre miyelinli ve miyelinsiz olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 2).

Miyelinli sinir lifi tek bir Schwann hücresi tarafından spiral şeklinde sarılan aksonlardan oluşur. Miyelin kılıfın Ranvier düğümleri ile bölündüğü kısımlarda aksiyon potansiyeli sıçrayıcı tarzda ilerler ve böylece uyarının hızlı iletimi sağlanır. Bu kılıf kalınlaştıkça iletim de hızlanır (Flores ve ark., 2000; Geuna ve ark., 2009). Başlangıçta tüm lifler miyelinsizdir. Daha sonra Schwann hücreleri sinir liflerinin etrafını spiral şeklinde sarar. Gelişme devam ederken spiral sayısı artmakta ve olgun miyelin

oluşmaktadır. Miyelin kalınlığı akson boyunca sabittir. Küçük çaplı aksonların miyelinleri ince, büyük çaplı olanlarıki ise kalındır. Miyelin kalınlığı Ranvier düğümleri arasındaki mesafe ile doğru orantılı olarak artar (Heath ve ark., 1991; Girault ve Peles, 2002; Ertekin, 2006). Miyelinsiz sinir lifleri genellikle çapı 1 μm 'den küçük olan sinir lifleridir. Histolojik preparatlarda fazla gözlenmemelerine rağmen miyelinli ve daha geniş liflere göre sayıları fazladır (Snell, 1992). Miyelinsiz lifler Schwann hücrelerinin sitoplazmalarıyla çevrenmiştir ve Ranvier düğümü içermezler. Bu liflerde miyelin kılıf olmadığından sıçrayıcı tarzda iletim görülmez (Geuna ve ark., 2009; Kaplan ve ark., 2009).



Şekil 2. Miyelinli ve miyelinsiz sinir lifi (Ilfeld ve ark., 2016'dan uyarlanmıştır)

Periferik sinir lifleri yapı ve fonksiyonuna göre de üç grup altında toplanabilir. A grubu lifler α , β , γ , δ gibi alt gruplara bölünür. A grubu lifler en kalın ve en hızlı iletim değerine sahip liflerdir. B grubu lifler daha ince ve miyelinli liflerdir. B grubu lifler pregangliyonik otonomik efferent lifler içerir. C grubu lifler ise ince ve miyelinsizdir. Ağrı ve ısı duyusunun taşınmasında görevli liflerin çoğunluğu bu grupta yer alır (Snell, 2010; Carp, 2015).

2.1.6. Bağ Dokusu

Periferik sinirler bağ dokusu ile çevrilidir. Bağ dokusu yapıları, içten dışa endonöryum, perinöryum, epinöryum ve mezonöryum olmak üzere dört farklı kılıftan oluşur. Bu yapılar sinir liflerini organize eden ve koruyan bir çerçeve oluşturur (Flores ve ark., 2000; Kaplan ve ark., 2009).

Endonöryum

Periferik bir sinirde en içte yer alan mezenkim kaynaklı bağ dokusu tabakası endonöryumdur. Endonöryum, ekstremitenin hareketleri sırasında ve travmalarda sinir fasiküllerini koruyan gevşek bağ dokusudur (Geuna ve ark., 2009). Endonöryum'un gevşek kollajenöz matriksi; fibroblastları, makrofajları, mast hücrelerini, hücre dışı matriks bileşenlerini (kollajen lifler), Schwann hücrelerini ve bir kılcal damar ağını içerir (Kerns, 2008; Kaplan ve ark., 2009). Ancak, bu matrikste elastin lifler ve lenfatik dokular bulunmaz. Endonöryumun iki ana fonksiyonu vardır. Bunlar; endonöral boşluktaki sıvı basıncını korumak ve sinir lifi çevresinde homeostatik bir ortamın devamlılığını sağlamaktır. Endonöral sıvı basıncı epinöral basınca nazaran biraz daha yüksektir. Bu basınç farkının sinir demetinin dışındaki zararlı maddelerin endonöryuma ulaşmasını engellemek için işlev gördüğü düşünülmektedir (Powell ve ark., 1979).

Endonöryumdaki hücre popülasyonunun çoğunluğunu Schwann ve endotel hücreleri oluşturmaktadır. Fibroblastlar bu popülasyonun yalnızca % 4'ünü oluşturur (Geuna ve ark., 2009). Endonöral tüpün içerisindeki kollajen boylamsal olarak her bir sinir lifinin etrafına sıkıca yerleşir, bu da endonöryumun gerilmeye karşı sinir hücrelerini korumasına yardımcı olur (Tassler ve ark., 1994; Geuna ve ark., 2009).

Perinöryum

Sinir liflerinin bir araya gelerek oluşturduğu fasiküllerden her biri, perinöryum olarak bilinen çok katlı bir kılıfla çevrilidir (Geuna ve ark., 2009). Perinöryum düzleşmiş epitelyal perinöral hücrelerden oluşan hücresel bir tüp olarak tanımlanır. Perinöryumun hücreleri birbirleriyle sıkı ve geçirgen olmayan bağlantılar kurar (Kerns, 2008). Bu nedenle, perinöryum kan sinir bariyeri olarak da bilinir. Bu yapılanma büyük veya istenmeyen moleküllerin endonöryuma infiltrasyonunu engeller (Parmantier ve ark., 1999; Kerns, 2008; Kaplan ve ark., 2009) Bu bariyer hasara uğrarsa istenmeyen moleküllerin endonöryuma ulaşması engellenemez ve endonöral ödem gelişir.

Perinöryum ayrıca siniri enfeksiyöz ajanlara karşı koruyan bir bariyer olarak da görev yapar (Flores ve ark., 2000).

Perinöryum osmotik ortamı ve endonöryumdaki sıvı basıncını korumada da önemli bir rol oynamaktadır (Geuna ve ark., 2009). Fasikül içerisinde fasikül dışına kıyasla daha az miktarda pozitif basınç bulunmaktadır. Nispeten pozitif fasiküler basınç homeostatik endonöral bir çevre sağlamak, kan akışını kolaylaştırmak, sinir iletimini sağlamak ve aksoplazmik yükü korumak için gereklidir (Carp, 2015). Perinöryumun mekanik gücü de etkileyicidir. Perinöral membranın yırtılmadan 300-750 mmHg intrafasiküler basınca dayanabildiği deneysel olarak gösterilmiştir (Geuna ve ark., 2009).

Özetle perinöryum dört ana fonksiyona sahiptir:

- Endonöral tüpü normal eklem hareketleri sırasında elastin ve kollajen liflerin gerilme ve baskıya dirençli özelliklerinden yararlanarak korumak,
- Endonöral tüpü travmalardan korumak,
- Potansiyel nörotoksik maddeleri perinöral ve endonöral ortamdan uzak tutarak moleküler difüzyon bariyeri olarak hizmet etmek,
- Endonöryumun aksine dairesel ve açılı bir şekilde yerleşmiş olan matriks kollajen lifleri ile fleksiyon, ekstansiyon ve rotasyonel manevralar karşısında sinirleri kıvrılma eğilimine karşı korumak (Carp, 2015).

Epinöryum

En dışta yer alan ve embriyolojik olarak mezoderm kökenli olan bağ dokusu tabakası epinöryumdur. Perinöryumun hemen dışında uzanır ve sinirdeki tüm fasiküllerin etrafını sarar. Epinöryum tip 1 ve 3 kollajen liflerden, elastin liflerden, fibroblastlardan ve değişen oranlarda yağ dokusundan meydana gelir (Kerns, 2008; Kaplan ve ark., 2009). Epinöryum intranöral vasküler sistemin ana besleme kanallarını taşıyan destekleyici ve koruyucu bir bağ dokusudur (Geuna ve ark., 2009). Epinöryum, iç ve dış bileşenlere ayrılır. İç tabaka fasikülleri bir arada tutar ve fasiküller arası kaymayı kolaylaştırır. Periferik sinirin iç epinöryumunun içeriği, sinirin seyri boyunca değişir. Sinirin çapı ile epinöryum hacmi arasında doğrudan bir ilişki vardır. İnsanda, epinöryum sinir demetinin toplam kesit alanının % 30-70'ini oluşturur. Periferik bir sinirde ne kadar fasikül mevcutsa, epinöryum o kadar kalın olur. Epinöryumun miktarı sinirler, düzeyler ve bireyler arasında değişiklik gösterir (Thomas ve ark., 1993; Geuna

ve ark., 2009; Carp, 2015). Eklemlerin çevresinde epinöryum genellikle diğer bölgelerden daha fazla miktarda bulunur (Lundborg, 1987). Dış epinöryum sinir gövdesini çevreler, basınç ve gerilme kuvvetlerine karşı koruma sağlar (Tassler ve ark., 1994; Carp, 2015).

Mezonöryum

Sinirin kan damarlarını ve epinöryumu çevreleyen bir doku tabakasıdır (Carp, 2015). Ancak, bir diseksiyon artefaktı olabileceği de öne sürülmüştür (Brandt ve Mackinnon, 1997). Sinir gövdesinde anastomoz sağlayan venöz ve arteriyel damarların birçoğunun giriş portalıdır (Lundborg, 1975). Mezonöryumun fonksiyonu tam olarak anlamamıştır. Bununla birlikte, mezonöryumun kaygan yüzeyinin; sinir gövdesinin boylamsal ve yan hareketlerinde sürtünme kuvvetlerini sınırladığı, mezonöryum ve dış epinöryum arasında sinirin uzayabilmesini kolaylaştıran önemli bir kayma hareketi olduğu ve aynı zamanda sinir gövdesini etkileyen basınç ve çekme kuvvetlerine karşı da sınırlı koruma sağladığı düşünülmektedir (Carp, 2015).

2.1.7. Vasküler Yapı

Periferik sinirlerdeki dolaşım sistemi vasa nervorum olarak bilinir. Bu sistem; kılcal damarların, dış ve iç arterlerin anastomozlarından oluşarak sinirin oksijenli kan ihtiyacını karşılar. Dış sistem, mezonöryum içinde seyreden sinirin dış yüzeyindeki damarlardan oluşur. Bu damarlar, sinirlere komşu olarak seyreden damarlardan gelen besleyici dallardır. Aralıklarla, küçük damarlar ana arteri bölerek epinöral tabakaya girer. İç sistemde ise siniri saran bağ dokusu katmanları içerisinde yer alan vasküler pleksuslar bulunur. Bu iki sistem siniri oluşabilecek herhangi bir vasküler probleme karşı koruyan dengeleyici bir mekanizma ile çalışır. Epinöral damarlar hem fasiküllere besleyici dallar gönderir hem de perinöral damarlar ile anastomoz yapar. Perinöral damarlar ise oblik şekilde endonöral tabakaya girerek endonöryumun vasküler yapısını oluşturur. Böylelikle endonöral vasküler pleksus fasiküller boyunca sabit bir kan akışı sağlar (Lundborg, 1975; Brandt ve Mackinnon, 1997; Carp, 2015).

Endonöral damarlar çap olarak kas liflerindeki kılcal damarlara kıyasla oldukça geniştir. Bu yapı farklılığı kan-sinir bariyerinin korunmasında önem arz eder (Lundborg ve Dahlin, 1991). Lokal perfüzyon basıncı bölgedeki dolaşım basıncını dengeleyen primer etkidir. Ayrıca, bu vasküler sistem sahip olduğu sinüzoidal yapı ile travmatik

streslere de karşı koyar (Myers, 1998). Periferik sinirlerde lenfatik taşıma görevini lenfatiklere benzer taşıma görevi yapan perinöryum ve endonöryumda bulunan kanallar üstlenmiştir. Travma endonöral boşlukta ödeme neden olarak fasikül içerisindeki basıncı artırır, sinirin normal fonksiyonunun devamı için gereken mikroçevreyi bozar. Normalde geçirgen olmayan endonöral damarlar travma sonucu geçirgenlik kazanır ve ödemin uzaklaştırılması da bu kanallar yoluyla gerçekleşir (Hirakawa ve ark., 2003).

2.2. Periferik Sinir Hasarı

Vücudun farklı bölgelerine ileti taşıyan periferik sinirler fibröz kılıflarla çevrili olsalar bile nispeten korunmasızdır ve çeşitli dış etkenlere bağlı olarak hasar görebilmektedir. Periferik sinir hasarları gerilme, laserasyon, kompresyon veya ezilmeye bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. (Burnett ve Zager, 2004; Yegiyants ve ark., 2010). En sık karşılaşılan hasar tipi gerilmeye bağlı hasarlardır. Gerilmeye bağlı sinir hasarları, traksiyon kuvveti sinirin gerilme kapasitesinin üstüne çıktığında oluşur (Sunderland, 1990). Kesici cisimlere bağlı oluşan laserasyonlar sinir hasarlarının % 30'unu oluşturur (Jacques ve Kline, 2000). Laserasyonlara bağlı oluşan hasarlarda sinir dokusu devamlılığını yitirebileceği gibi çoğunlukla bir miktar doku devamlılığını korur. Kompresyon sonucunda oluşan hasarlar sinirde kopma ve ayrılmanın olmadığı hasarlardır. Bu tip hasarlarda hem motor hem de duyuşal fonksiyon kaybı meydana gelebilmektedir. Bu kayıplardan sorumlu patofizyoloji tam olarak bilinmemektedir. Kompresyon sonucu oluşan hasarlarda iki patolojik mekanizmanın rol oynadığı düşünülmektedir. Bunlar; mekanik kompresyon ile oluşan direkt ve iskemi ile oluşan indirekt hasardır. Uzun süreli kompresyon vasküler staz, permeabilite artışı ve endonöral ödeme neden olur. İnateçli ödem intranöral mikrodolaşımı bozarak sinir iletiminde indirekt hasara, fibrozise ve ektranöral skara neden olur. Direkt yolla ise mekanik hasar miyelin kılıf ya da aksonu etkileyerek sinirde iletim bozukluğuna yol açar (Sunderland, 1976; Goubier ve Teboul, 2015).

Kompresyona bağlı ortaya çıkan sinir hasarlarında hangi mekanizmanın daha baskın olduğu net değildir. 1930'larda yapılan turnike deneylerinde kısa süreli sıkışma sonrasında fizyolojik iletim bloğuna neden olan asıl etkenin basınçtan ziyade iskemi olduğu bildirilmiştir. Altta yatan mekanizma tam olarak anlaşılammış olsa da kalın miyelinli liflerin, ince ve miyelinsiz liflere oranla iskemiye daha duyarlı olması bu durumun temel nedeni olarak gösterilmiştir. Sekiz saatten kısa sürdüğü takdirde

kompresyona bağlı hasarlarda çok az histolojik değişiklik olduğu ve iskemik etkilerin ortadan kalktığı gözlemlenmiştir (Lewis ve ark., 1931; Burnett ve Zager, 2004). Diğer yandan bazı araştırmacılar, fonksiyonların haftalarca kaybolabildiği ve tam düzelmenin gerçekteşmediği daha şiddetli kompresyon vakalarının başlıca mekanizmasının mekanik deformasyon olduğunu öne sürmüştür (Zochodne, 2000; Burnett ve Zager, 2004; Robinson, 2004). Bu tip hasarların patolojisini araştıran pnömatik manşet deneyleri, dejeneratif değişikliklerin iskeminin en şiddetli olduğu manşetin orta kısmında görülmediğini ortaya koymuştur (Ochoa ve ark., 1971). Sinirin ultrastrüktürel incelenmesinde aksoplazma ve miyelinin manşetin kenarlarına doğru itildiği ve dolayısıyla hasardan sorumlu mekanizmanın mekanik deformasyon olduğu gösterilmiştir (Ochoa ve ark., 1972). Diğer bir hasar tipi olan ve ezilmeye bağlı oluşan hasarlar tipik olarak cerrahi klemp gibi künt bir ezici nesne ile meydana gelen hasarlardır. Bu tip hasarlar sinirin devamlılığını yitirmesiyle sonuçlanmayan, akut travmatik sıkışma sonucunda ortaya çıkmaktadır (Menorca ve ark., 2013). Ezilmeye bağlı oluşan hasarlar, Seddon (1943) veya Sunderland (1951) tarafından tanımlanan hasar tiplerinden herhangi birini ya da Mackinnon (1989) tarafından bildirilen karışık tip sinir hasarını temsil edebilir. Bunların dışında kimyasal irritasyon, yanıklar veya ateşli silah yaralanmaları da sinir hasarına neden olabilen diğer etkenler arasındadır (Daneyemez, 2008; Moradzadeh ve ark., 2010; Goubier ve Teboul, 2015).

Periferik bir sinir hasar gördükten sonra, karmaşık ve çok iyi organize olmuş olaylar dizisi hasar gören dokuyu kaldırarak onarım sürecini başlatmak için devreye girer. Periferik sinirin hasara karşı cevabı, vücudun diğer bölgelerindeki hücre onarımına benzemekle birlikte, mitoz ve hücre proliferasyonunu içermez. İyileşme sürecinde makrofajlar, iltihap hücreleri ve Schwann hücreleri kritik rol oynar (Burnett ve Zager, 2004). Sinir hasarlarına bağlı fonksiyon kaybı tamamen hasarın şiddeti, tipi ve yeri ile ilgilidir. Bu nedenle, sinir hasarlarında lezyon tipi ve denervasyon süresi onarımın başarısını doğrudan etkilemektedir (Muller ve Stoll, 1998; Burnett ve Zager, 2004; Roghani ve Rayegani, 2012).

2.2.1. Periferik Sinir Hasarının Sınıflandırılması

Periferik sinir onarımının başarısı hasarın derecesine ve tedavinin zamanlamasına bağlıdır. Sinir hasarından sonra meydana gelen mikroskopik değişiklikler ve hasta semptomlarını ilişkilendiren, klinik olarak faydalı sınıflandırma

sistemleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında en çok kabul gören sınıflandırma sistemleri Seddon (1943) ve Sunderland (1951) tarafından geliştirilenlerdir. Seddon sinir hasarlarını ciddiyet derecesine göre nöropraksi, aksonotmezis ve nörotmezis olmak üzere üç kategoriye ayırmıştır (Burnett ve Zager, 2004).

En hafif hasar tipi olan nöroprakside, sinir devamlılığında bir kayıp yoktur ve geçici bir işlev kaybı ortaya çıkar. Motor fonksiyonda daha fazla olmak üzere lokalize bir iletim bloğu görülür. Bu hasarın geçici olmasının nedeninin, miyelin yapısındaki küçük değişikliklerden ziyade hasar yerinde ortaya çıkan, lokal iyon kaynaklı bir iletim bloğu olduğu düşünülmektedir. Yaralanan bölgenin proksimal ve distalinde iletim normaldir. Genellikle sinirin fonksiyonları 6-8 haftada normale döner. Nöropraksi; gerilme tipi hasarlar, ateşli silah yaralanmalarında merminin indirekt etkisi, künt travmalar ve kompresyon hasarları sonucunda ortaya çıkabilmektedir. Bu tip hasarlarda oluşan bölgesel demiyelinizasyon elektromiyografi ile tespit edilebilir (Burnett ve Zager, 2004; Ertekin, 2006; Daneyemez, 2008; Carp, 2015).

Aksonotmezis, sinir çevresindeki mezenkimal yapılar korunurken akson ve miyelin kılıfın tam olarak bütünlüğünü kaybetmesi sonucunda oluşur. Genellikle uzamış sıkışma ya da gerilime bağlı olarak ortaya çıkar. Bölge hiperemiktir ve endonöral ödem görülür. Hasar noktasının distalinde Wallerian dejenerasyon meydana gelir ve bu da tam denervasyona neden olur. Akson çevresindeki hasar görmemiş mezenkimal kafes yeni filizlenen aksonların reinnervasyonuna rehberlik ettiğinden dolayı bu tür hasarlarda prognoz iyidir. Aksonal filizler günde 1-2 mm kadar endonöral tüpler boyunca ilerler. İyileşme süreci yaşa, hasarın şiddetine ve süresine göre farklılık gösterir (Burnett ve Zager, 2004; Ertekin, 2006; Daneyemez, 2008; Goubier ve Teboul, 2015).

Nörotmezis sinirin bütünlüğünü kaybetmesidir. Total bir fonksiyonel kayıp vardır. Skar oluşumu ve mezenkimal rehberin kaybının bir sonucu olarak aksonal rejenerasyon düzgün bir şekilde yönlendirilemez. Cerrahi müdahale yapılmaksızın iyileşme bu tip hasarlarda genellikle mümkün değildir (Burnett ve Zager, 2004; Goubier ve Teboul, 2015).

Sunderland (1951)'in sınıflandırma sistemi, Seddon (1943) tarafından bildirilen üç hasar tipini şiddet derecesine göre beş kategoriye ayırmıştır. Birinci derece hasar Seddon'un nöropraksisi ve ikinci derece hasar ise aksonotmezisi ile eşdeğerdir. Üçüncü derece sinir hasarı, akson yapısının bozulması ve endonöryumda kısmi hasar olması

durumunda ortaya çıkar. Bu tip hasar, Seddon'un aksonotmezisi ve nörotmezisi arasında üçüncü derecede yer alır. Endonöral hasarın derecesine bağlı olarak, fonksiyonel iyileşme mümkün olabilir. Üçüncü derece sinir hasarı, kronik kompresyon, akut ezilme ve gerilme sonucunda ortaya çıkabilir. Endonöryum ve Schwann hücrelerinin bazal laminalarında hasar vardır. Sunderland, Seddon'un nörotmezisini dördüncü ve beşinci derece hasarlar olarak ikiye ayırmıştır. Dördüncü derece hasar sinirin epinöryum haricinde tüm bölümlerini içerir. Genellikle nedeni gerilme ve akut ezilmelerdir. Beşinci derece hasar, sinirin devamlılığını yitirmesi anlamına gelir. Cerrahi müdahale olmadan iyileşme mümkün değildir (Burnett ve Zager, 2004; Daneyemez, 2008). Seddon (1943) ve Sunderland (1951) tarafından önerilen sinir hasarı sınıflandırmaları, daha sonra Mackinnon (1989) tarafından fasikül ve liflerde farklı derecelerde hasar görülen karışık tipte bir sinir hasarını temsil eden altıncı kategoriye de içerecek şekilde genişletilmiştir (Şekil 3).

Seddon (1943)	Sunderland (1951)	Hücre gövdesi Akson Epinöryum Perinöryum Endonöryum Miyelin kılıf	Hasarlı Bölge
<i>Nöropraksi</i>	<i>Sunderland I</i>		Miyelin
<i>Aksonotmezis</i>	<i>Sunderland II</i>		Miyelin, Akson
	<i>Sunderland III</i>		Miyelin, Akson, Endonöryum
	<i>Sunderland IV</i>		Miyelin, Akson, Endonöryum, Perinöryum
<i>Nörotmezis</i>	<i>Sunderland V</i>		Miyelin, Akson, Endonöryum, Perinöryum, Epinöryum
Mackinnon (1989) <i>Karışık tip hasar VI</i>			

Şekil 3. Periferik sinir hasarı sınıflandırılması (Gainor, 2006'dan uyarlanmıştır)

2.2.2. Hasarlı Sinir Dokusunun Dejenerasyonu

Sinir hasarını takiben dejeneratif bir süreç başlar. Rejenerasyonun başarısı büyük oranda ilk hasarın ciddiyetine ve bu dejeneratif değişikliklere bağlıdır. Sinir hücresi aksonal hasara nispeten öngörülebilir bir şekilde tepki verir. Hasara uğrayan sinir hücresinde miyelin kılıf 36-48 saat içinde aksondan belirgin bir şekilde ayrılmaya başlar. Aksonda variköz şişlikler meydana gelirken nörotübül ve nörofilamentler düzensizleşir. Bu dejeneratif değişikliklerin ardından 48-96 saat içinde devamlılığını yitiren aksonda iletim bozulur (Burnett ve Zager, 2004; Carp, 2015).

Distal segmentte, hasarı takiben Wallerian dejenerasyon olarak adlandırılan bir dejeneratif süreç başlar. Bu süreçte Schwann hücreleri dejenerasyon ve onarıma yardımcı olacak birçok molekül için gen ekspresyonunu arttıran farklılaşmış hücreleri oluşturmak üzere hızla bölünür. Hasarın ilk 24 saati içinde Schwann hücrelerinde nükleer genişleme, sitoplazmik genişleme ve mitoz artışı meydana gelir (Bunge, 1994; Reichert ve ark., 1994; Torigoe ve ark., 1996; Burnett ve Zager, 2004). Aksonal hasarın algılanmasından sonra Schwann hücreleri enflamasyon başlatan sitokinler ve kemokinler salınması yoluyla makrofajları hasar bölgesine toplar. Makrofajların toplanması miyelin enkazının temizlenmesini hızlandırır. Sinirlerde bulunan yerleşik makrofajlar da diğer makrofajları çekmek için daha fazla kemokin ve sitokin salgılar. Makrofajlar, hasar bölgesine hemopoietik bir yolla göç ederek, bölgede geçirmiş hale gelen kılcal damar duvarlarından geçer. Schwann hücreleri ve makrofajlar, bir hafta ile birkaç aylık süreçte fagositoz ile hasar alanını temizlemek için birlikte çalışır. Hasardan sonraki ilk 2 hafta içinde endonöral mast hücreleri de çoğalarak makrofaj göçünü kolaylaştıran ve kapiller permeabiliteyi arttıran histamin ve serotonin salgılar (Douglas ve ark., 1996; Hirata ve Kawabuchi, 2002; Burnett ve Zager, 2004; Carp, 2015).

Distal segmentte her ne kadar akson dejenere olup ortadan kaldırılrsa da bağ dokusu bazal membranı kalarak endonöral tüpleri oluşturur. Endonöral tüpler ilk aşamalarda, travmaya yanıt olarak şişer. Ancak ilk iki haftadan sonra çapları küçülmeye başlar. Prolifere olan Schwann hücreleri endonöral tüpler boyunca bazal tabakaya uzanan kordonlar oluşturur. Schwann hücrelerinin bu kordonlarına Büngner bantları adı verilir (Burnett ve Zager, 2004; Campbell, 2008). Yenilenen aksonlar periferik sinir matriksine tekrar girdiklerinde Büngner'in bantları içinde büyür (Bunge, 1994; Torigoe ve ark., 1996). Schwann hücrelerinden oluşan bu yapı, aksonal rejenerasyona rehberlik

eder. Rejenere olan akson genellikle endonöral tüp ile birleşir. Yeniden filizlenen akson ile birleşemeyen endonöral tüpler sonunda skar dokusu ile oblitere olur. Schwann hücreleri kalıcı değildir; aksonal rejenerasyon oluşmazsa dejenere olarak kaybolur (Allodi ve ark., 2012). Wallerian dejenerasyon hasar saatleri içinde başlar ve 6-8 haftada tamamlanır (Hall, 1989; Kang ve ark., 2003; Campbell, 2008).

Proksimal segmentte hasar bölgesine yakın nöronal hücre cisimcikleri ve sinir liflerindeki değişiklikler, hasarın ciddiyetine ve hasar gören segmentin hücre gövdesine yakınlığına bağlıdır. Schwann hücreleri hasar bölgesinin yakınındaki proksimal segment boyunca parçalanır. Akson ve miyelinin gözle görülür şekilde çapı azalır. Bu proksimal bozulma minimal olabilir veya hücre gövdesine kadar uzanabilir (Burnett ve Zager, 2004). Hasardan 24 saat sonra proksimal uçta aksonal tomurcuklanma meydana gelmeye başlar. Aksonun hasar görmemiş Ranvier düğümlerinden kollateral ve hasarlı aksonun proksimalinden terminal filizler köken alır. Hasar sonrası ilk saatler içinde tomurcuklanma başlamış olsa da bu yeni filizler genellikle dejenere olarak kaybolur. Kalıcı olan ve her biri rejenerasyon ünitesi olarak adlandırılan akson filizleri 24-48 saat sonra belirir. Bu filizlerin her birinin uç kısmındaki bölüm büyüme konisi olarak tanımlanır (Geuna ve ark., 2009; Allodi ve ark., 2012). Bu aşamada büyüme konisinin organizasyonu ve akson rejenerasyonu için gerekli yapısal proteinlerin sentezi artarken, taşımada görev alan proteinlerin sentezi azalır (Terzis ve Smith, 1990; Campbell, 2008; Geuna ve ark., 2009).

Büyüme konisi; protrüzyon, angorjman ve konsolidasyon olmak üzere üç şekilde hareket eder (Mortimer ve ark., 2008). Büyüme konisi merkezi bir alan, bir geçiş bölgesi ve bir periferik alandan oluşan fonksiyonel bölgelere sahiptir (Bouquet ve Nothias, 2007). Büyüme konisi parmaksı çıkıntılar aracılığıyla ilerler. Yenilenen akson filizleri büyüme konisinin distal segmentin bazal laminasında bulunan fibronektin ve laminine afinitesi sayesinde proksimalden distale doğru yönlendirilir (Seckel, 1990; Letourneau ve ark., 1994; Myers ve ark., 2011). Aksonal rejenerasyon hızı anastomoz sağlanana kadar günde ortalama 1–2 mm kadardır (Ducker, 1972; Kingham ve Terenghi, 2006; Grinsell ve Keating, 2014).

Şiddetli hasarların ardından özellikle uygun son organlar arasında fonksiyonel bağlantılar tekrar sağlanamazsa, proksimal segmentin çapı azalır. Sinir iletim hızı da buna bağlı olarak azalır. Rejenerasyon ilerledikçe aksonal çap artar; ancak asla normal

seviyelere ulaşamaz. Hücre gövdesi ile akson arasında iyileşme açısından kesin bir bağımlılık vardır. Hücre gövdesi fonksiyonel periferik bağlantılarını yeniden kurmadan tam olarak düzelmez ve nihai aksonal fonksiyon büyük oranda hücre gövdesinin iyileşmesine bağlıdır. Hücre gövdesinde hasardan 6 saat sonra hacim artar ve çekirdek hücrenin periferine göç eder. Granüllü endoplazmik retikulum ve nissl cisimcikleri yıkılır. Bu değişikliklere kromatoliz denir (Burnett ve Zager, 2004; Shenaq ve Kim, 2006; Winograd ve Mackinnon, 2006; Allodi ve ark., 2012). Hasar sonrası 2. ve 3. haftalarda en yüksek değerde olan bu değişikliklerin amacı kaybolan sitoplazmik hacmi kompanse etmektir. Kromatoliz hücrede hasar oluşturan travmanın şiddetini de yansıtmaktadır. Kromatoliz ile rejeneratif bir süreç ve onarım mekanizması devreye girse bile şiddetli travmalar ve hasarın proksimal segmente yakınlığı, geniş hacim kayıpları ve hücre ölümü ile sonuçlanabilir (Seckel, 1990; Ertaş, 2004).

2.2.3. Hasarlı Sinir Dokusunun Rejenerasyonu

Hasarlı sinir dokusunun tamirinde hasar alanının mikro ortamı oldukça önemlidir. Periferik sinirin rejeneratif kapasitesi, 1900'lerin başında Cajal rejenerasyon başarısının içsel nöronal farklılıklardan ziyade periferik sinirin mikro ortamına bağlı olduğunu öne sürdüğünden bu yana araştırılmaktadır. Araştırmalar merkezi sinir sistemindeki hücrelerin periferik bir çevrede rejenerasyon kapasitesine sahip olduğunu ve periferik sinir sistemindeki hücrelerin merkezi bir ortama yerleştirildiğinde bu yeteneğini kaybettiğini göstermiştir (Burnett ve Zager, 2004). Periferik sinirin rejeneratif kapasitesi birçok molekül ve reseptör aracılığı ile yönetilen sinir hücreleri ve komşu glial hücreler arasındaki etkileşimler ve hücre dışı alana salgılanan trofik faktörden etkilenir. Bu rejeneratif süreçte önemli fonksiyonu olan birçok faktör bulunmasına rağmen moleküler olaylar, özellikle de gen ekspresyonunun tetiklenmesi ve bunlara karşılık gelen sinyal yollarının ardışıklığı arasındaki ilişki hala tam olarak anlaşılammıştır (Allodi ve ark., 2012).

Hasardan sonraki ilk 30 dakika içinde, onarım ve yenilenmeyi uyaran hücre içi süreçler çoktan başlamış olur. Yenilenme ve onarım süreçleri sinir hücresi gövdesi ile hasar bölgesi arasındaki bölüm (proksimal segment), hasar yerinin kendisi, hasar bölgesi ile hedef organ arasındaki segment (distal segment) ve hedef organ arasında devam eder (Seckel, 1990; Burnett ve Zager, 2004). Onarım işlemleri bu alanlardan birinde veya daha fazlasında kesintiye uğrayabilir. Hafif hasarlarda rejenerasyon ve

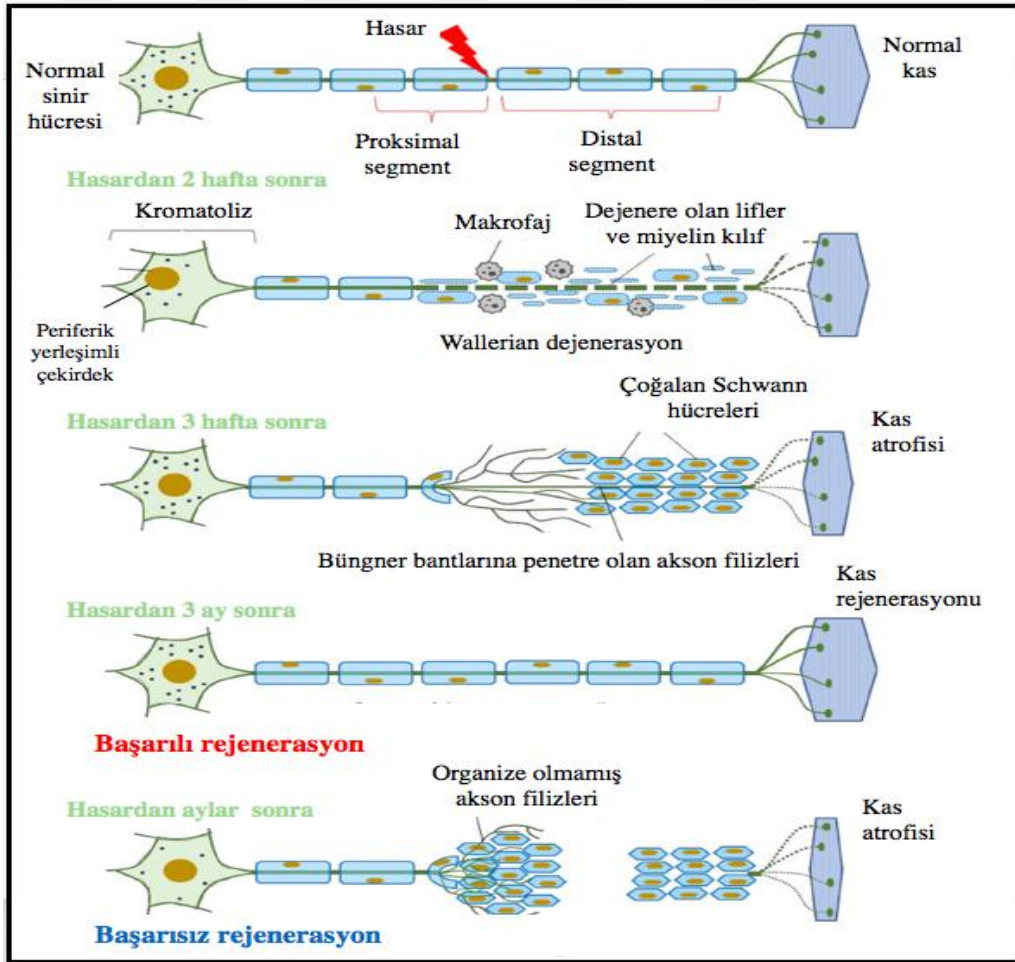
tamir hemen başlar. Nöropraksi tipi hasarlarda remiyelinizasyon oldukça hızlı bir şekilde ortaya çıkabilmektedir. Daha ağır hasarlarda ise ilk şok fazının ardından, rejenerasyon ve onarım evreleri aylarca devam edebilir (Campbell, 2008).

Aksonal rejenerasyon, yenilenen akson filizlerinin distal segmente hareketi ve sinyal düzenlenmesini kapsayan karmaşık bir süreçtir (Kuffler, 1994; Zheng ve Kuffler, 2000; Gallo ve Letourneau, 2002). Proksimal segmentte rejenerasyon, her aksonal filizin ucundaki büyüme konisinin etkinliğine bağlıdır (Krystosek ve Seeds, 1981; Chierzi ve ark., 2005). Büyüme konisi oluşumuna yol açan süreç, hasardan sonraki saatler içinde başlar ve her ana aksondan birçok filiz oluşur. Büyüme konileri, uzak mesafe algılayıcıları gibi davranan, çevreyi keşfeden, örnekleyen ve filapoid olarak adlandırılan parmak benzeri uzantılar oluşturan yapılardır (Kater ve Rehder, 1995; Dahlin, 2006). Büyüme konileri, dört farklı mekanizma ile yönlendirilirler. Bu mekanizmalar, birçok farklı rehber molekül ailesi tarafından yönetilmektedir (Goodman, 1996; Tessier-Lavigne ve Goodman, 1996). Aktin filamentleri, bu rehberlik sinyalizasyonunun ortak hedefidir (Mueller, 1999).

Schwann hücreleri rejenerasyon sürecinde önemli bir role sahiptir. Hasardan sonraki birkaç gün içinde, Schwann hücreleri bölünmeye başlar ve pluripotent yavru hücrelerden oluşan bir havuz oluşturur. Bu hücreler yüzeyel hücre adezyon moleküllerinin sentezini artırarak rejenerasyonun geliştirilmesinde, laminin ve fibronektin gibi ekstraselüler matriks proteinleri içeren bazal membranın hazırlanmasında rol oynar (Fu ve Gordon, 1997; Dahlin, 2006). Schwann hücreleri gen aktivasyonunu sağlayan sinyalden sorumludur (Funakoshi ve ark., 1993). Schwann hücreleri, yenilenen akson filizinin miyelinizasyonunu desteklemek için, kendi proteinlerinin sentezini inhibe ederek normal miyelin mRNA'larını eksprese etmeye başlar (Hall, 2005).

Onarım; remiyelinizasyon, korunmuş aksonlarda kollektif filizlenme ve hasar yerinden rejenerasyonu içeren üç mekanizma ile gerçekleşebilir (Zochodne ve Levy, 2005). Aksonların % 20-30'undan daha az bir kısmının hasarlı olduğu lezyonlarda, rejenerasyon çoğunlukla hayatta kalan aksonlardan gelen kollektif filizlenme ile gerçekleşir ve 2-6 ay kadar sürebilir. Aksonların % 90'ından fazlası yaralandığında,

onarımın başlıca mekanizması hasar alanından yenilenmedir. Endonöral tüpleri içeren şiddetli hasarlarda rejenera filizler ciddi engeller ile karşılaşabilir. Burda kritik olan faktör, proksimal ve distal segmentler arasındaki boşluğun uzunluğudur. Distal segmente erişemeyen aksonlar komşu dokulara ulaşarak nörinom oluşumuna neden olabilir veya proksimal ve distal segmentler arasındaki boşlukta oluşan skarla kaplanabilir. Bu skar, rejenerasyona engel olur veya aksonların fonksiyonel olarak ilişkisiz endonöral tüplerle birleşmesi sonucu anormal rejenerasyona yol açar. İyi bir motor iyileşme gerçekleştiğinde bile, özellikle propriosepsiyondaki bozukluklar, fonksiyonel sonucu olumsuz yönde etkileyebilir. Akson hedefine ulaştıktan sonra işlevsel iyileşme için remiyelinizasyon, aksonal genişleme ve son organ ile bağlantı kurulması gibi bir dizi olgunlaşma süreci gereklidir (Şekil 4) (Campbell, 2008).



Şekil 4. Sinir hasarına karşı hücresel cevap: dejenerasyon ve rejenerasyon (Arslantunali ve ark., 2014'dan uyarlanmıştır)

2.3. Kandan Elde Edilen Biyomateryallerin Gelişimi

Kan hücresel bileşenler ve plazma bileşenlerinden oluşan zengin bir terapötik kaynaktır. Kanın hücresel bileşenleri, büyük oranda medullar aplazi, akut lösemi veya uzun süreli cerrahiler sırasında ortaya çıkan ciddi trombositopeniyi tedavi etmek veya önlemek amacıyla kullanılmaktadır (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Arora ve Agnihotri, 2017). Kanın hücresel bileşenlerinin transfüzyon dışında iyileşme sürecinin uyarılması ve yara izolasyonu gibi endikasyonlarla kullanılması 40 yıl kadar önce gündeme gelmiştir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b). Vücutta kanamaya karşı hızlı ve kompleks bir yanıt oluşmaktadır. Bu yanıt hemostazın sağlanması sırasında ortaya çıkan ve birçok biyoaktif molekülü yapısında barındıran güçlü bir fibrin matriksin şekillenmesine yol açmaktadır. Oluşan fibrin matriks hem yara bölgesinin korunmasını sağlamakta hem de yapısında bulundurduğu lökositler, büyüme faktörleri ve birçok biyoaktif molekül ile yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunu düzenlemektedir. Kandan elde edilen biyomateryaller de bu doğal sürece benzer şekilde, istenilen sahada çeşitli hücresel olayların yönlendirilebileceği düşüncesiyle ortaya çıkmıştır (Clark, 2001; van Hinsbergh ve ark., 2001; Del Corso ve ark., 2012).

Kandan elde edilen biyomateryallerin cerrahi alanlara topikal olarak uygulanması ilk olarak fibrin yapıştırıcılar ile gündeme gelmiştir. 1970'lerin sonlarında konsantre fibrinojenden elde edilen ilk biyomateryal olan fibrin yapıştırıcı, Matras (1970)'ın deneysel çalışmalarının sonucunda kullanılmaya başlanmıştır (Matras, 1970; Radosevich ve ark., 1997; Saluja ve ark., 2011; Anitua ve ark., 2012a; Arora ve Agnihotri, 2017)

Fibrin yapıştırıcılar, fibrin pıhtı yapısında olan plazma türevidir. Aktif proteinleri konsantre fibrinojen ve trombin olan fibrin yapıştırıcıların yapısında ayrıca fibrin polimerizasyonunu hızlandıran kalsiyum klorür de bulunmaktadır. Fibrin yapıştırıcılar kimyasal olarak fibrinojenin, trombin ve kalsiyum ile polimerizasyonu sonucunda oluşur. Fibrin yapıştırıcılar allojen ve otojen olarak elde edilebilir (Gibble ve Ness, 1990; Radosevich ve ark., 1997; Arora ve Agnihotri, 2017). Otojen fibrin yapıştırıcılar plazmadaki fibrinojen konsantrasyonunun düşük olması nedeniyle daha düşük stabiliteye sahiptir. Buna ek olarak otojen preparatların üretim protokolleri karmaşık ve oldukça maliyetlidir. Düşük stabilite, basınç ve gerilme gibi fiziksel streslere karşı biyomateryalin direncini azaltarak otojen

fibrin yapıştırıcıların dokularda cerrahi sızdırmazlık sağlama amaçlı kullanımlarını engellemiştir. Diğer yandan allojen fibrin yapıştırıcılar çapraz enfeksiyon riski nedeniyle kaygılara yol açmıştır. Tüm bu dezavantajlarından dolayı fibrin yapıştırıcıların klinik kullanımları sınırlı kalmıştır (Soffer ve ark., 2003; Sunitha Raja ve Munirathnam Naidu, 2008; Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Kiran ve ark., 2011; Kumar ve Shubhashini, 2013; Nanditha ve ark., 2017).

Fibrin yapıştırıcıların fiziksel özelliklerini geliştirmek amacıyla yapılan araştırmalarda, diğer dezavantajlarının yanı sıra trombosit yokluğunun da biyomateryalin biyolojik ve fiziksel kapasitesini etkilediği anlaşılmıştır (Dohan ve ark., 2006a; Bielecki ve Dohan Ehrenfest, 2012; Nanditha ve ark., 2017). İlerleyen yıllarda fibrin yapıştırıcıların içeriğinde trombositleri de bulunduran daha geliştirilmiş bir formu üretilmiştir. Bu biyomateryal 'Trombosit-fibrinojen-trombin karışımı' olarak adlandırılmıştır. Fibrin yapıştırıcıların içeriğinde yapılan bu değişikliklerle, doğal yapıya daha yakın biyomateryaller hazırlaması ve terapötik etkili daha fazla kan elemanının bu biyomateryale entegre edilmesi mümkün olmuştur. Bu yeni biyomateryalde, temel olarak biyomateryalin mekanik özelliklerini güçlendirmek amaçlanmıştır. Trombositlerin biyolojik süreçler üzerindeki etkileri göz ardı edilerek, bu yeni formülasyonun sadece temel fibrin yapıştırıcılardan daha etkili bir doku sızdırmazlığı sağlaması beklenmiştir (Rosenthal ve ark., 1978; Dohan Ehrenfest ve ark., 2014; Arora ve Agnihotri, 2017).

Trombosit konsantrelerinin iyileşmeyi lokal olarak desteklediğini gösteren ilk klinik bulgu Knighton ve ark. (1986) tarafından bildirilmiştir. Araştırmacılar, iki aşamalı bir santrifüj prosedürü kullanarak ürettikleri preparatı "Trombosit türevi yara iyileşme faktörü" olarak tanımlamışlardır. Sonraki yıllarda Whitman ve ark. (1997) oral ve maksillofasiyal cerrahide gradyan yoğunluklu hücre ayırıcısı ile yeni bir biyomateryal elde etmiş ve bu biyomateryale "Trombosit jeli" adını vermişlerdir. Yazarlar elde ettikleri ürünün trombositlerin aktivasyonunu ve ardından büyüme faktörlerinin salınımını sağlayarak iyileşmeyi arttırdığını öne sürmüşlerdir (Whitman ve ark., 1997). Aynı dönemlerde Tayapongsak ve ark. (1994) fibrin matriksinin bir iskelet görevi görerek mandibular kemik remodelingini desteklediğini rapor etmişlerdir. Günümüzdeki anlamıyla Trombositten Zengin Plazma (PRP) terimi ilk olarak Marx ve ark. (1998) tarafından kullanılmıştır. Marx ve ark. (1998) maksillofasiyal cerrahide

kemik greftleri ile gerçekleştirilen rekonstrüksiyon sırasında trombosit bakımından zengin ürünlerin kullanımının rejenerasyonu desteklediğini bildirmişlerdir.

PRP, trombositlerin küçük bir plazma hacmindeki konsantresi olarak tanımlanmaktadır (Marx, 2004). PRP; % 4 eritrosit, % 95 trombosit ve % 1 oranında lökositten oluşur (Toffler ve ark., 2009). Büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınması fibrin yapıştırıcılar ile mümkün değilken, PRP ile trombosit ürünlerini trombin ile aktif hale getirmek ve büyüme faktörlerini istenilen alanda kullanmak mümkündür (Marx, 2004). PRP, otojen olmasının yanında çapraz enfeksiyon ve immünojenik reaksiyona neden olmaması, kolay elde edilebilir olması ve antibakteriyel etkiye sahip olması nedeniyle fibrin yapıştırıcılara kıyasla birçok avantaj sağlamaktadır. Bununla birlikte, sığır trombinine nadiren verilen reaksiyonlar biyomateryalin kullanımı ile ilgili kaygılara yol açmıştır. Takiben PRP'nin elde edilmesi için daha düşük konsantrasyonlarda trombin kullanılmaya başlanmıştır (Jameson, 2007; Arora ve Agnihotri, 2017). Ancak, düşük konsantrasyonda trombin kullanımı sonuncu ortaya çıkan zayıf mekanik özellikler, PRP'nin klinik kullanımını zorlaştırmıştır (Lucarelli ve ark., 2010). Büyüme faktörlerinin çoğunun kısa sürede salınımı da PRP'nin kısa ömürlü olmasına ve rejeneratif potansiyelinin sınırlı kalmasına neden olmuştur (Saluja ve ark., 2011).

Mevcut PRP'lerin sahip olduğu dezavantajları ortadan kaldırabilmek ve biyomateryalin etkinliğini arttırmak için sonraki yıllarda, birçok araştırmacı farklı santrifüj kuvvetlerini (160- 3000 G) ve sürelerini (farklı santrifüj aşamaları için 3 ila 20 dakika arasında) kullanarak çeşitli protokoller geliştirmiştir. Ancak, elde edilen materyallerin tümü içeriği ve yapısı göz önünde bulundurulmadan PRP olarak adlandırılmıştır. Bu durum literatürde karışıklıklara neden olmuştur (Dohan Ehrenfest ve ark., 2012b; Dohan Ehrenfest ve ark., 2014; Arora ve Agnihotri, 2017). PRP ile ilgili Fransız yasalarındaki kısıtlamalar nedeniyle 2000'lerin başında PRP'lerden farklı bir başka trombosit konsantresi geliştirilmiştir. Güçlü fibrin matriks polimerizasyonu nedeniyle ikinci nesil trombosit konsantresi olarak ortaya çıkan bu yeni biyomateryal PRF olarak adlandırılmıştır (Kawase, 2015; Shah ve ark., 2017).

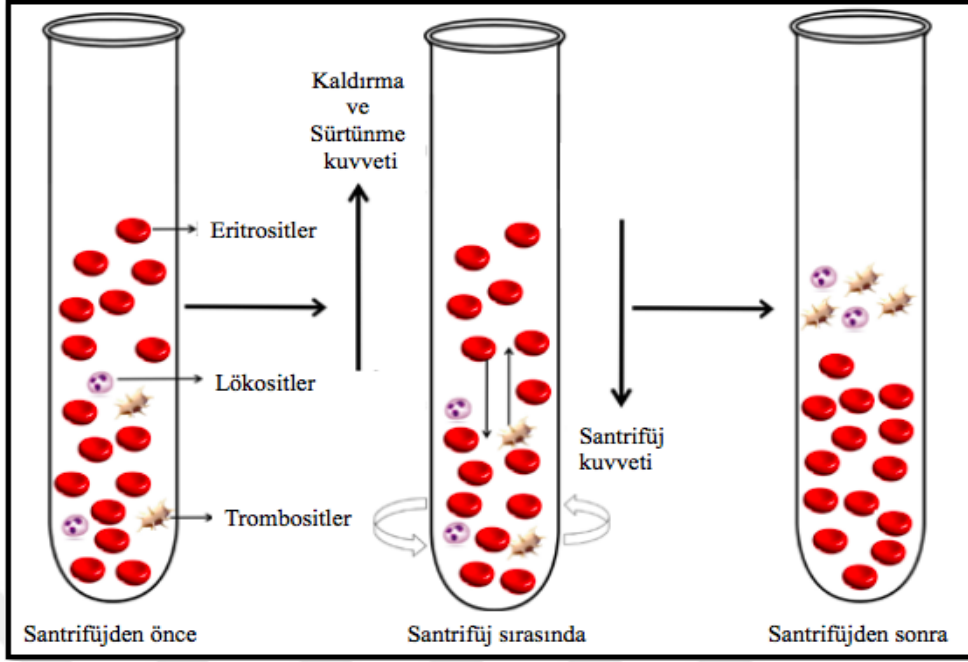
2.4. Trombosit Konsantreleri

Trombosit konsantreleri, büyüme faktörlerinin seviyesini lokal olarak arttırarak iyileşme ve doku rejenerasyonu için gerekli koşulları optimize eden biyomateryallerdir.

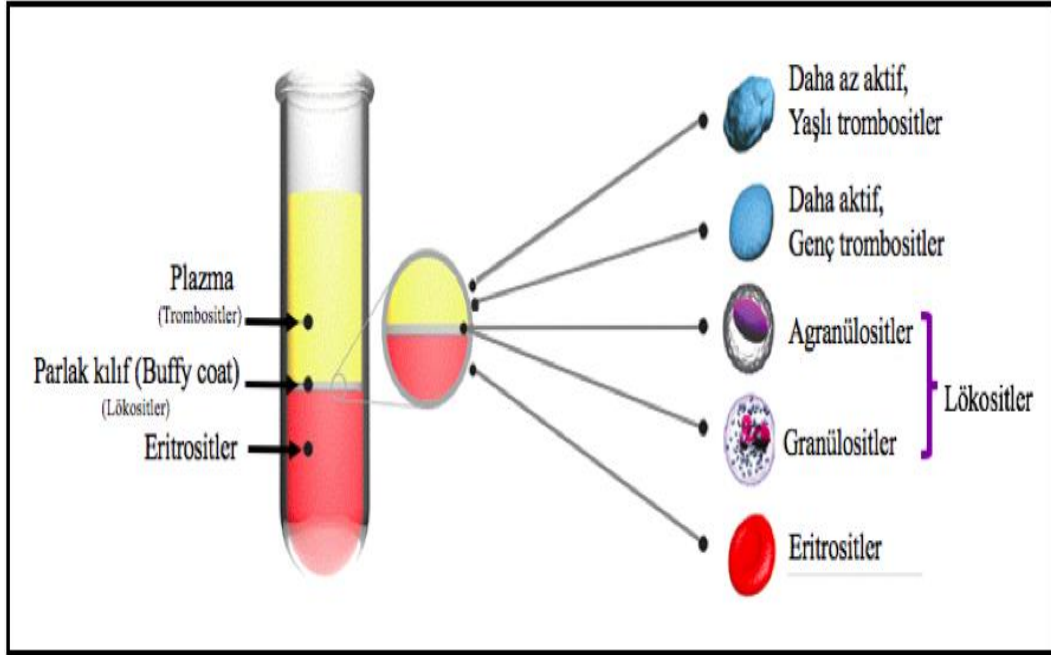
Trombosit konsantrelerinin biyolojik kapasiteleri içerdikleri aktif moleküller ve büyüme faktörlerinin yanısıra bunların biyomateryale dahil olma şekline de bağlıdır (Mihaylova ve ark., 2015; Mihaylova ve ark., 2017).

Trombosit konsantrelerinin elde edilmesinde kullanılan temel ilke tam kandaki bileşenlerin seçici olarak ayrılmasıdır (Arnoczky ve ark., 2011). Kanın santrifüj kuvveti altında bileşenlerine ayrılması Stoke Law tarafından tanımlanan fizik kanununa dayanmaktadır. Bu kanuna göre santrifüj sırasında kan üzerinde etkili olan birkaç kuvvet vardır. Santrifüj kuvveti tüpün tabanına doğru hareket ederken, sürtünme ve kaldırma kuvvetleri onu etkisiz hale getirir. Kan belirli bir süre yüksek devirlerde santrifüje maruz bırakılarak, yüksek oranda santrifüj kuvveti oluşturulur. Böylece santrifüj kuvveti, kaldırma ve sürtünme kuvvetlerini aşar. Sonuçta, döndürme merkezinden tüpün tabanına doğru hareket eden net bir santrifüj kuvveti oluşur. Uygulanan santrifüj kuvveti doğrudan parçacık kütlesi ile orantılıdır. Bu nedenle, santrifüj kuvvetinin altında, nispeten daha yüksek bir kütleyle sahip eritrositler, tüpün tabanına yerleşir. Oysa lökositler ve trombositler plazma ile birlikte tüpün tepesine doğru itilir. Bu fenomen, trombositlerin seçici olarak ayrılmasına izin verir (Şekil 5) (Arnoczky ve ark., 2011; Arora ve Agnihotri, 2017). Genelde bu prosedür, tam kanın toplanmasıyla başlar, çoğu trombosit konsantrisinde kalsiyuma bağlanan ve protrombinin trombine dönüşümünü bloke ederek pıhtılaşma kaskadının başlatılmasını önleyen bir antikoagülan varlığında gerçekleşir (Marx, 2001). Tam kana, elde edilecek biyomateryalin karakterine bağlı olarak bir veya iki santrifüj basamağı uygulanır (Şekil 6) (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Arnoczky ve ark., 2011; Arnoczky ve Sheibani-Rad, 2013).

PRF gibi antikoagülsüz elde edilen trombosit konsantrelerinde ise santrifüj sırasında pıhtılaşma ve kan elemanlarının ayrılması aynı anda meydana gelir (Shah ve ark., 2017). İşlem sonunda, yara iyileşmesinde önemli katkısı olmayan eritrositler, kan pıhtısından etkili bir şekilde ayrılır ve pıhtı esas olarak trombositler, lökositler ve fibrin ile şekillenir (Marx, 2001; Shah ve ark., 2017).



Şekil 5. Kanın santrifüj kuvveti altında bileşenlerine ayrılması (Shah ve ark., 2017'dan uyarlanmıştır)



Şekil 6. Plazma bazlı sistemlerde santrifüj sonunda kanın parçacık kütlesi ile orantılı olarak bileşenlerine ayrılması: En altta eritrositler, orta kısımda lökositler ve en üst kısımda plazma içinde tüpün üst kısmına doğru azalan yoğunlukta dağılmış trombositler (Parrish ve Roides, 2017'den çevrilerek uyarlanmıştır)

2.4.1. Trombositlerin Yapısı

Trombositler kemik iliğindeki megakaryositlerden köken alan, kanın şekilli elemanlarından biridir. Çapları yaklaşık 2-3 µm olan disk şeklinde çekirdeksiz hücrelerdir (Prakash ve Thakur, 2011; Mihaylova ve ark., 2017). Trombositlerin ortalama ömürleri yaklaşık 8-10 gündür (Dohan ve ark., 2006b). Normalde periferik kanda 150-400 bin civarında trombosit bulunur. Trombositlerin dış yüzeyi 10-20 nm kalınlığında mukopolisakkarit ve mukoproteinden oluşan düzgün glikokaliks tabakası ile kaplıdır (Wintrobe ve ark., 1981). Çift katlı bir fosfolipid zar yapı olan trombosit membranında birçok moleküle (kollajen, trombin, vb.) ait reseptörler bulunur (Rozman ve Bolta, 2007).

Trombositler fizyolojik fonksiyonlarına göre bölümlere ayrılır. Organeller bölümü çeşitli trombosit granülleri (yoğun granüller, α-granüller), mitokondri, lizozom ve peroksizomdan oluşur (King ve Reed, 2002; Rozman ve Bolta, 2007; Nurden ve ark., 2011; Martinez ve ark., 2015). Morfolojik açıdan farklı olan bu organeller, kollajen veya diğer matriks bileşenleri ile temasın ardından ya da ADP veya trombine doza bağımlı bir tepki sonucunda içeriklerinde bulunan aktif maddeleri serbest bırakırlar (Fioravanti ve ark., 2015).

Trombositler pıhtılaşmanın ilk aşamalarında kemotaksisi uyararak doku hasarı olan bölgede pıhtı oluşumuna katılır. Vasküler endotel zarar gördükten sonra ortaya çıkan kollajenle temas sonucu aktifleşen trombositler şekil değiştirir. Şekil değiştiren trombositler doku onarımı sırasında ADP, ATP, serotonin, histamin, dopamin ve kalsiyum içeren yoğun granüller ile pıhtılaşma faktörleri ve trombosit büyüme faktörlerini içeren α-granüllerini serbest bırakır (Blair ve Flaumenhaft, 2009; Foster ve ark., 2009). Trombositler hemostaza katılmalarının yanı sıra anjiyogenez, hücre çoğalması, kollajen üretiminin artırılması, hücre farklılaşmasının uyarılması ve doku rejenerasyonu gibi iyileşme süreçlerine de katkıda bulunur (Kiran ve ark., 2011; Broos ve ark., 2012).

Alfa Granüller

Bir hücrede yaklaşık 50-80 adet bulunan α-granüllerin boyutları yaklaşık 500 nm'dir (Blair ve Flaumenhaft, 2009). α-granüller büyüme faktörlerini, pıhtılaşma proteinlerini, adezyon moleküllerini, sitokinleri, hücre aktive edici maddeleri, anjiyogenik faktörleri, trombosit özgü (b-tromboglobülin) veya trombosit özgü

olmayan (fibronektin, trombospondin, vitonektin fibrinojen ve diğer pıhtılaşma faktörleri, fibrinoliz inhibitörleri, immüoglobülinler, vb.) birçok proteini içerir (Reed ve ark., 2000; Dohan ve ark., 2006b). α -granüller trombosit aktivasyonu ile birlikte ekzositoz yoluyla salınır. α -granüllerden salınan büyüme faktörleri yaklaşık 6-45 kDa molekül ağırlığına sahip küçük polipeptidlerdir. Bu polipeptit yapıdaki büyüme faktörlerinin kemotaktik ve mitojenik özellikleri bulunur. Bu özellikleri ile büyüme faktörleri hücre çoğalmasını ve hücresel işlevleri düzenler. Ayrıca, büyüme faktörleri hasar sonrası yumuşak ve sert doku rejenerasyonunu uyarır. Hedef hücrelerin yüzeyindeki spesifik reseptörlere bağlanan büyüme faktörleri, protein sentezini, kollajen ve osteoid benzeri doku üretimini başlatır. Büyüme faktörlerinin etkileri hücre yüzeyindeki reseptörlerin dağılımı ve oranı ile ilişkilidir (Schilephake, 2002; Borzini ve Mazzucco, 2005; Everts ve ark., 2006b; Anitua ve ark., 2007; Mihaylova ve ark., 2017).

Alfa Granüllerdeki Büyüme Faktörleri

Büyüme faktörleri, hücreler arası iletişim ve hücrenin yaşamsal süreçlerini kontrol etmek için işlev gören polipeptidlerdir. Büyüme faktörleri hücre göçü, proliferasyon, farklılaşma ve apoptoz gibi birçok hücreyel olaya aracılık eder (Anitua ve ark., 2012a).

Transforme Edici Büyüme Faktörü- β

Transforme edici faktörü- β (TGF- β), 30'dan fazla üyenin bulunduğu geniş bir süper aile içinde yer alır. TGF- β 1 bu ailenin en çok bulunan izoformudur (Schilephake, 2002; Kumar ve Shubhashini, 2013). TGF- β trombositlerde, makrofajlarda ve bazı diğer hücre tiplerinde bulunmaktadır (Bielecki ve Dohan Ehrenfest, 2012). α -granüllerden salınan TGF- β , kemik oluşumunu indükler (Ogino ve ark., 2006; Tang ve ark., 2009; Iqbal ve ark., 2011). Birçok hücre tipi üzerindeki etkisi oldukça değişken olsa da TGF- β tüm sitokinler arasında en güçlü fibroz ajanı oluşturur. TGF- β kollajen ile fibronektin gibi matriks moleküllerinin sentezini indükler (Border ve Noble, 1994; Kumar ve Shubhashini, 2013). Bu büyüme faktörünün anjiyogenik olduğu ve diğer büyüme faktörlerinin varlığında epitel hücrelerinin çoğalmasını ve osteoklast oluşumunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Anitua ve ark., 2012a; Kumar ve Shubhashini, 2013). Osteogenin gibi kemik yenilenmesini uyaran yaklaşık 20 farklı kemik morfogenetik proteini (BMP)'nin, TGF- β gen ailesinin üyeleri arasında olduğu bilinmektedir (Argintar ve

ark., 2011).

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF) ilk olarak α -granüllerde tanımlansa bile, makrofajlar ve endotel hücreleri gibi diğer hücreler tarafından da salınabilmektedir (Marx ve ark., 1998; Bielecki ve Dohan Ehrenfest, 2012). PDGF, çeşitli hücre tiplerinin yüzeylerinde bulunan reseptörlere bağlanır ve güçlü bir kemotaktik ajandır (Dennison ve ark., 1994). Ayrıca, PDGF hücre proliferasyonunu, farklılaşmayı ve hücre dışı matriks sentezini etkileyerek kemik oluşumunu artırır (Hock ve Canalis, 1994). PDGF'ler, mezenkimal kök hücrelerin göçü, proliferasyonu ve hayatta kalması için gerekli düzenleyicilerdir. Bu büyüme faktörü, fibroblastlar, osteoblastlar ve adipositler gibi mezenkimal hücreler için mitojeniktir ve tip I kollajen oluşumunu uyarır (Hock ve Canalis, 1994; Rosenkranz ve Kazlauskas, 1999; Lucarelli ve ark., 2003; Chen ve ark., 2007; Kakudo ve ark., 2008). Aynı zamanda, PDGF makrofajları aktive ederek anjiyogenezi de artırır (Marx ve ark., 1998; Anitua ve ark., 2012a).

İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü

İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF) trombosit degranülasyonu sırasında salınmasına rağmen dolaşımında da fazla miktarda bulunur. IGF tümör hücreleri dahil birçok hücrenin farklılaşması ve çoğalması için düzenleyici olarak görev yapmaktadır (Hock ve Canalis, 1994; Balcı ve Toker, 2012). İki farklı IGF (IGF-I ve IGF-II) tanımlanmıştır. İlk izoform olan IGF-I yaşam boyu bulunur ve yaşla birlikte azalma gösterir. İkinci izoform olan IGF-II sadece fetal dönemde bulunur (Hock ve ark., 1988). Her iki IGF'nin yapısı insan pro-insülini ile homologdur. IGF-I kondroblastlar, fibroblastlar ve osteoblastlar tarafından da üretilir (Canalis, 1980). IGF-I, spesifik bir hücre yüzey reseptörüne bağlanan ve tip I kollajen biyosentezini, hücre proliferasyonunu, hücre farklılaşmasını indükleyerek kemik oluşumunu doğrudan uyararak tek zincirli bir proteindir (Hock ve ark., 1988; Anitua ve ark., 2012a). IGF nöronal farklılaşmayı uyarır ve vasküler endotel hücrelerinde kemotaktik bir etkiye neden olur. Ayrıca IGF mezenkimal kök hücrelerin kondrogenез, adipogenez, miyogenezdeki çoğalmasını ve farklılaşmasını uyarır (Anitua ve ark., 2012a). Bu büyüme faktörü hücre çoğalma mediatörü olmasına rağmen programlanmış hücre

ölümünün düzenlenmesinde de görev alır (Butt ve ark., 1999; Bielecki ve Dohan Ehrenfest, 2012; Kumar ve Shubhashini, 2013).

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF), anjiyogenez ile ilgili süreçler için temel düzenleyici moleküldür. IGF-I ve IL-1 β gibi faktörler, VEGF ekspresyonunu artırarak anjiyogenez düzenler (Grando Mattuella ve ark., 2007; Kumar ve Shubhashini, 2013). VEGF endotel hücrelerinin proliferasyonu, göçü ve farklılaşmasını kontrol eder (Dohan ve ark., 2006c). VEGF endotel hücrelerinin kemotaksisini ve çoğalmasını sağlar. Anjiyogenez uyararak ve kan damarlarının geçirgenliğini arttırmak için görev yapan bir büyüme faktörüdür (Ferrara, 2001; Aghaloo ve ark., 2005). VEGF mitojenik olmasının yanında epitel, renal, glial hücreler ile fibroblastların kemotaksisini ve farklılaşmasını sağlamaktadır (Anitua ve ark., 2004; Anitua ve ark., 2012a).

Bağ Dokusu Büyüme Faktörü

Kubota ve ark. (2004) tarafından tanımlanan Bağ Dokusu Büyüme Faktörü (CTGF) anjiyogenik aktiviteyi, kıkırdak rejenerasyonunu ve fibrozisi uyarır.

Epidermal Büyüme Faktörü

Epidermal Büyüme Faktörü (EGF) hücre yüzeyinde bulunan reseptörüne bağlanarak epidermal yenilenmeyi harekete geçirir, çoğalmayı uyararak yara iyileşmesini hızlandırır ve diğer büyüme faktörlerinin üretimleri sonrasında etkilerini artırır (Herbst, 2004; Einhorn, 2005). EGF, fibroblastlar ve epitel hücreleri üzerinde mitojenik ve kemotaktik bir etkiye sahiptir. EGF, hücre göçü ve granülasyon dokusunun oluşumu için uyarıcı etki gösterir. Fibroblastlar, pre-osteoblastlar ve pre-kondrositlerde EGF için çok sayıda reseptör bulunur (Ornitz ve ark., 1996).

Temel Fibroblastik Büyüme Faktörü

Temel Fibroblastik Büyüme Faktörü (b-FGF) ailesi, 23 üyeden oluşur (Gospodarowicz ve ark., 1987). α -granüllerde bulunan b-FGF, büyüme ve doku onarımı sırasında mezenkimal kök hücrelerin mitogenezini uyarır ve koordine eder. b-FGF fibroblastları, osteoblastları, kondrositleri, düz kas hücrelerini ve iskelet miyoblastlarını etkiler. b-FGF anjiyogenez, mitoz ve göç için endotel hücre stimülasyonunu da artırır (Thraillkill ve ark., 1995).

Trombosit Faktör 4

Trombosit Faktör (PF4) trombosit granüllerinden salınır ve nötrofillerin yaraya ulaşmasından kısmen sorumludur. PF4, endotel hücresi proliferasyonunu inhibe ederek anjiyogenezi olumsuz yönde etkiler. PF4 nötrofiller ve fibroblastlar için kemotaktiktir (Gendaszewska-Darmach ve Kucharska, 2011). Ayrıca, PF4 heparin benzeri moleküllerin etkilerini azaltarak pıhtılaşmayı hızlandırır (Maurer ve ark., 2006).

Yoğun Granüller

İnsan trombositlerinde tipik olarak 3-9 adet yoğun granül bulunur (Reddington ve ark., 1987). Yoğun granüller; ADP, ATP, kalsiyum, magnezyum, serotonin, histamin, dopamin ve kalsiyum gibi yüksek konsantrasyonlarda olan birçok küçük biyoaktif molekül içerir. Bu moleküller yara iyileşmesi üzerinde temel etkilere sahiptir. Histamin ve serotonin trombositler tarafından salgılandığında, kılcal damar geçirgenliğini artırır; bu da yara bölgesine daha fazla biyoaktif molekülün erişimine ve makrofajların aktivasyonuna neden olur (Anitua ve ark., 2012a; Arora ve Agnihotri, 2017).

Lizozomlar

Trombositler sadece birkaç birincil ve ikincil lizozom içerir (Menard ve ark., 1990). Lizozomlar megakaryositlerin erken olgunlaşması sırasında, α -granüller gelişmeden önce oluşur (Stenberg, 1986). Trombosit lizozomları tipik olarak 175-250 nm çapındadır. Primer lizozomlar küçük, elektron yoğun granüllerdir (Rendu ve Brohard-Bohn, 2001). Trombosit lizozomları α veya yoğun granüllerden daha heterojendir ve çeşitli lizozomal zar proteinlerini içerir (Fukami ve Salganicoff, 1977; Israels ve ark., 1996).

2.4.2. Fibrin Yapı

Fibrinojen plazmada yer alan bir glikoproteindir. Fibrinojen polimerize olduğunda aktif hali olan fibrine dönüşür (Mosesson ve ark., 2001; Doolittle, 2003). 45 nm'lik bir protein olan fibrinojen, her iki uçta α -sarmal parçası ile merkezi bölgeye bağlanan 2 dış küresel alandan oluşur ve trombin varlığında polimerize olur (Blomback ve ark., 1978; Weisel, 2004; Anitua ve ark., 2012a). Fibrinojenin enfeksiyon, enflamasyon, kognitif bozukluklar ve homeostazda önemli rolleri vardır (Burnouf ve ark., 2013; Wolberg, 2012). Bu çözünür lifli molekül plazmada trombositlerin α -

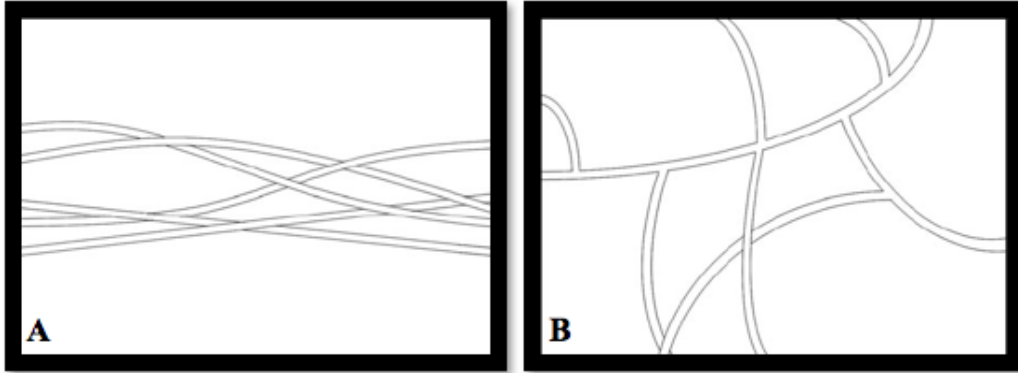
granüllerinde bulunur ve hemostaz sırasında trombosit agregasyonunda belirleyici bir rol oynar. Fibrinojen ilk trombosit kümelenmesini sağlamlaştırma yeteneğine sahip biyolojik bir yapıştırıcıya dönüşerek pıhtılaşma sırasında vasküler hasar bölgeleri boyunca koruyucu bir duvar oluşturur. Çözünür bir glikoprotein olan fibrinojen, trombin tarafından çözülmeyen bir fibrine dönüştürülürken, faktör XIII ile çapraz bağlar kurarak yüksek seviyede polimerize, yapılandırılmış bir fibrin ağ oluşturur. Bu yapı bölgenin ilk sikatrisyel matriksidir (Collen ve ark., 1998; Clark, 2001; Burnouf ve ark., 2013; Fioravanti ve ark., 2015).

Fibrin ağ, doğal mikro çevreyi taklit ederek hücrelerin yapışması, göçü, çoğalması ve farklılaşması için elverişli mikro gözenekli bir yapı oluşturur. Fibrin trombosit yayılımına ve fibroblast çoğalmasına aracılık eder. Aynı zamanda fibrin endotel hücresi yayılımı, proliferasyonu ve kılcal damar oluşumunun uyarılması yoluyla da anjiyogeneze aktif olarak katılır (Blomback ve ark., 1978; Anitua ve ark., 2012a). Fibrinin biyolojik fonksiyonu çevresindeki dokuyla etkileşime girme kapasitesine bağlıdır. Hücre-matriks etkileşimine fibrinin katılımı, heparin ve fibronektini bağlayabilmesi ile ortaya çıkmaktadır (Tamaki ve Aoki, 1981; Odrlic ve ark., 1996). Protein ve büyüme faktörlerinin fibrin ağ içine dahil edilmesi biyolojik olarak aktif bir yapının ortaya çıkmasını sağlamaktadır (Sahni ve ark., 1998; Sahni ve Francis, 2000; Sahni ve ark., 2004).

Fibrin ağın biyolojik kapasitesi fibrinojenin polimerizasyon şekline bağlı olarak değişmektedir. Fizyolojik olarak aktive edilen fibrinojen ile aktivasyonu bir katalizör madde varlığında oluşan varyantları arasında, fibrin ağının yapısı ve mikrobiyolojisi açısından oldukça fark vardır (Burnouf ve ark., 2013). Fizyolojik olarak polimerize olan gözenekli yapıda fibrin ağ kan damarı oluşumu için daha elverişli bir ortam sağlar. Dolayısıyla fibrin ağın polimerizasyon şekli anjiyogenezi de etkiler (Kaijzel ve ark., 2006; Burnouf ve ark., 2013). Fibrin yapıştırıcıları ve PRP hazırlanmasında polimerizasyonun son safhalarını başlatmak için ani bir polimerizasyona neden olan sığır trombini ve kalsiyum klorür kullanılmaktadır. Bu reaksiyonun hızı kullanılan katalizörün miktarı ve cinsi ile ilişkilidir. İkinci nesil trombosit konsantresi olan PRF, santrifüj işlemi sırasında doğal yapıya benzer şekilde yavaş polimerize olma özelliğine sahiptir. Bu materyalde otojen fibrinojene etki eden trombin konsantrasyonları sığır trombini eklenmediği için fizyolojik sınırlardadır

(Dohan ve ark., 2006b).

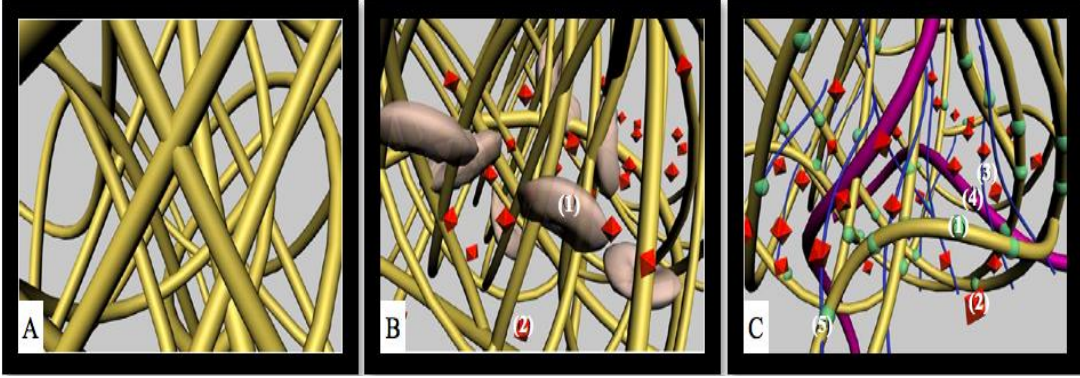
Polimerizasyon şekli oluşan fibrin ağın mekanik ve biyolojik özelliklerini önemli ölçüde etkilemektedir. Jelleşme esnasında fibrin fibrilleri 2 farklı mimaride biyokimyasal bağlar kurabilir. Bunlar; bağlı equilateral (trimoleküler) ve sıkışmış bilateral (tetramoleküler) bağlardır (Şekil 7). Bilateral bağlar yüksek trombin konsantrasyonları ile oluşturulur ve fibrin polimerlerinin kalınlaşmasına izin vererek sitokinlerin fibrin matrikste tutunmalarını ve hücrel migrasyonu olumsuz yönde etkileyecek bir ağ oluşumuna neden olur. Tersine, fizyolojik trombin konsantrasyonları, equilateral bağların oluşumuna neden olarak sitokinlerin fibrin matrikste tutunmalarını ve hücrel göçü destekleyebilen ince ve esnek bir fibrin ağının oluşmasını sağlar (Blomback ve ark., 1994; Weisel, 2004; Dohan ve ark., 2006b; Anitua ve ark., 2012a; Chandran ve Sivadas, 2014).



Şekil 7. A: Bilateral bağlar B: Equilateral bağlar (Kumar ve Shubhashini, 2013'den)

PRP ve fibrin yapıştırıcılarının fizyolojik olmayan polimerizasyonu, sitokinlerin fibrin matrikse sıkı şekilde tutunmasına yol açar. Bunun sonucu olarak trombosit sitokinleri ekstresek olarak yerleşir, yani jelleşme esnasında fibrin ağı kafesleri arasındaki kolloidal süspansiyona sıkışır. Dolayısıyla fizyolojik yok oluşları da hızlı olur. Bu şekilde oluşan fibrin matriksten büyüme faktörlerinin çoğunluğu ilk saatte serbest bırakılır. Fizyolojik bir polimerizasyon, dolaşımdaki sitokinlerin fibrin matrikse intrinsik bir şekilde katılmasını ifade eder. Bu konfigürasyon, sitokinlerin depolanıp kademeli olarak salınımını sağlar. Böylece büyüme faktörü salınımı uzun bir süre sabit oranlarda muhafaza edilebilir. Sitokinler, sikatriyel matriks yeniden biçimlenmeye başladığında, diğer bir deyişle yaralı bölgenin rekonstrüksiyonun başlatılması için harekete geçilmesi gerektiğinde temin edilebilir (Şekil 8) (Dohan ve ark., 2006b; Kumar

ve Shubhashini, 2013; Shah ve ark., 2017).



Şekil 8. Fibrin yapı A: Fibrin yapıştırıcı B: PRP (1. Trombosit, 2. Ekstrinsik sitokin) C: PRF (1.

İntrinsik sitokin, 2. Fibrin polimerle ilişkili ekstrinsik sitokin, 3. Fibrinle ilişkili glikanik zincir, 4. Fibronektin, 5. Fibrin fibrilleri) (Dohan ve ark., 2006b'dan uyarlanmıştır)

2.4.3. Lökositler

Yaralı bölgeye göç eden ilk lökositler nötrofillerdir. Birincil rolleri yarayı temizlemek ve enfeksiyonu önlemek için debris ve nekrotik dokuyu fagosite etmektir. İyileşmenin erken enflamatuvar evresi tamamlandıktan sonra, nötrofiller apoptoz ile ortadan kaldırılır. Makrofajlar yara bölgesine gelen ikinci lökosit türüdür. Makrofajlar nötrofiller ve trombositler ile birlikte yara bölgesinde enfeksiyonun ortaya çıkmasını engeller (Davis ve ark., 2014). Makrofajların diğer kritik rolleri arasında büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınması, diğer hücre tiplerinin yara bölgesine göçü ve anjiyogenezin uyarılması bulunmaktadır. Monositlerin farklılaşmaları için ekstrasellüler matrikse yapışmaları gerekir, monositlerin fibrin pıhtıya tutunması monositlerin makrofajlara farklılaşmasını sağlar. Böylelikle erken dönemde artan makrofaj seviyeleri enflamatuvar fazı ve yara iyileşme sürecini kısaltır (Schultz ve Wysocki, 2009).

Trombositler gibi makrofajlar ve diğer lökositler de TGF- β 1, PDGF, VEGF, IGF, EGF ve b-FGF de dahil olmak üzere iyileşme için önemli olan birçok büyüme faktörünün salınmasında etkilidir (Tsirogianni ve ark., 2006; Barrientos ve ark., 2008; Bielecki ve ark., 2012). Büyüme faktörlerine ek olarak lökositler serin ve matriks metalloproteinazlarının (MMP) salınmasına neden olur. Proteazlar, özellikle MMP'ler matriksin parçalanması ve remodelasyonu, lökosit migrasyonu, anjiyogenez ve reepitelizasyon gibi yara iyileşmesindeki birçok işlem için önemlidir. Serin proteinazların trombosit ve lenfosit aktivasyonu, antimikrobiyal aktiviteler, sitokinlerin

aktivasyonu/inaktivasyonu ve fibrin-trombosit tıkaçının oluşumu gibi çok sayıda biyolojik süreçte önemli rolleri vardır. Lökosit proteinazları, polimorfonükleer lökositlerin migrasyonuna katkıda bulunur ve enflamatuar yanıtları düzenler. Proteinazlar, yara iyileşmesi sırasında çevredeki dokuların hasarını sınırlamak için enflamatuar hücreleri etkisiz hale getirerek enflamatuar cevabı kontrol eder. Proteazların diğer bir önemli rolü de büyüme faktörlerinin aktivitesini kontrol etmektir (Barrick ve ark., 1999; Schultz ve Weysocki, 2009; Davis ve ark., 2014).

Trombosit konsantrelerindeki periferik kana göre artmış lökosit konsantrasyonunun biyomateryalin fonksiyonel kapasitesini nasıl etkilediği halen tartışma konusudur. Bazı otörler lökositlerin bulunmasının trombosit konsantrelerine sağlayacağı pozitif etkileri vurgularken (Davis ve ark., 2014; Everts ve ark., 2006b), bazıları lökositlerin biyomateryalden tamamen uzaklaştırılmasını tavsiye etmektedir (Anitua ve ark., 2007; McCarrel ve ark., 2012; Yin ve ark., 2016). Doku iyileşme süreci ile birçok fonksiyonu olan lökositlerin karmaşık ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda, lökositlerin veya spesifik lökosit alt tiplerinin hangi durumda faydalı ya da zararlı olabileceği net değildir (Malhotra ve ark., 2013; Mautner ve ark., 2015).

2.4.4. Sitokinler

Enflamatuar Sitokinler

İnterlökin-1 β

İnterlökin-1 β (IL-1 β) enflamasyon kontrolünün ana aracıdır. Temel faaliyeti T lenfositlerin uyarılmasıdır. TNF- α ile birlikte IL-1 β , osteoklastları aktive ederken kemik oluşumunu da inhibe eder (Dohan ve ark., 2006c; Kumar ve Shubhashini, 2013).

İnterlökin 6

İnterlökin 6 (IL-6), B hücrelerinin antikor üreten hücrelere olgunlaşmasına neden olan bir B hücre farklılaşma faktörü olarak tanımlanan çok işlevli bir sitokindir (Kishimoto ve ark., 1995). B lenfosit popülasyonlarında, IL-6 antikorların salgılanması önemli ölçüde artmıştır (Dohan ve ark., 2006c; Kumar ve Shubhashini, 2013).

Tümör Nekroz Faktörü- α

Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF- α), adını tümör nekrozu ve gerilemeyi uyarabilme kabiliyetinden almaktadır. TNF- α , bakteriyel endotoksinlere karşı enflamatuar tepki sırasında salınan ilk sitokinlerden biridir. TNF- α , monositleri aktive eder ve fibroblastların rejenerasyonunu stimüle eder. TNF- α fagositozu ve nötrofil sitotoksitesini artırır. Ek olarak TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi anahtar mediatörlerin ekspresyonunu düzenler (Dohan ve ark., 2006c; Kumar ve Shubhashini, 2013).

İyileştirici Sitokinler

İnterlökin 4

İnterlökin 4 (IL-4), yardımcı T hücrelerinin farklılaşmasını sağlar. Bu sitokin, aktive edilmiş B hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını da desteklemektedir. IL-4 enflamasyonu azaltarak iyileşmeyi destekler. Dahası, IL-4, IL-1'in biyolojik etkilerini nötralize ederek anti-enflamatuar etkilere katkıda bulunan IL-1 reseptör antagonistinin güçlü bir uyarıcısıdır (Tiggelman ve ark., 1995; Dohan ve ark., 2006c; Kumar ve Shubhashini, 2013).

2.4.5. Eritrositler

Son yıllardaki araştırmalar eritrositlerin trombosit konsantreleri üzerindeki potansiyel zararlı etkisini vurgulamaktadır. Eritrositlerin lokal pH'ı değiştirerek ve enflamasyonu artırarak trombosit işlevini olumsuz şekilde etkileyebileceği düşünülmektedir (Mautner ve ark., 2015). Eritrositlerin potansiyel zararlı etkilerinden biri de oksidatif stres altında eritrositlerde bulunan ve bir metalloprotein olan hemoglobinin parçalanmasıdır. Bu parçalanma sonucunda sitotoksik olan heme molekülü oluşur. Heme molekülleri içinde bulunan demir, serbest radikalleri katalize eder ve patojenlerin yok edilmesine katkıda bulunur. Serbest radikaller, aynı zamanda, enflamasyonu başlatan sinyalizasyona yanıt olarak konakçı hücrelerin apoptozunu indükleyebilir. Bu yıkıcı özellikleri nedeniyle doku iyileşmesini uyararak için tasarlanmış bir trombosit konsantreresinden eritrositlerin elimine edilmesinin gerekli olduğu düşünülmektedir (Boswell ve ark., 2012).

2.4.6. Trombosit Konsantrelerinin Terminolojisi ve Sınıflandırılması

Trombosit konsantrelerinin sınıflandırılması antibiyotikler veya anti-enflamatuar preparatlar gibi basit bir farmasötik yapıya sahip olmadıkları için literatürde karışıklıklara neden olmuştur. Trombosit konsantreleri büyüme faktörlerinden oluşan bir kokteylden ziyade iyileşmenin düzenlenmesinde rol oynayan binlerce aktörün konsantre hali olan, işlenmiş kan pıhtılarıdır (Del Corso ve ark., 2012). Pre-klinik ve klinik araştırmalarda kullanılmaya başlanmalarından itibaren değişik elde edilmiş protokollerinin mevcudiyeti nedeniyle biyolojisi ve potansiyel kullanımları farklı olan birçok ürün elde edilmiştir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Del Corso ve ark., 2012). Kullanılan tam kan hacmi, lökositlerin varlığı, trombositlerin ekzojen aktivasyonu ve bir fibrin matriksinin oluşumu gibi parametreler göz önünde bulundurulduğunda farklı birçok biyomateryal elde edilmiş; ancak ürünlerin karakterizasyonu yapılmaksızın hepsi "PRP" olarak adlandırılmıştır (Arnoczky ve Sheibani-Rad, 2013). Materyalleri tanımlamaya çalışan birçok araştırmacı sadece trombosit miktarı ve büyüme faktörleri üzerine yoğunlaşmıştır (Weibrich ve ark., 2001; Weibrich ve Kleis, 2002; Weibrich ve ark., 2002; Del Corso ve ark., 2012). Birçok sınıflandırma sistemi geliştirilmesine rağmen bu konuda literatürde hala tam bir fikir birliği sağlanamamıştır (Bielecki ve ark., 2006; Everts ve ark., 2008; Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Dohan Ehrenfest ve ark., 2010a).

Trombosit konsantrelerinin en çok kabul gören sınıflandırması Dohan Ehrenfest ve ark. (2009b) tarafından bildirilmiştir. Bu sınıflandırma eksikliklerine rağmen materyalin içeriğindeki hücrelerin varlığının karakterize edilmesi (lökositler gibi) açısından önemli bir adım olmuştur. Daha sonra bildirilen sınıflandırma sistemlerinin ikinci nesil trombosit konsantrelerini sınıflandırmaya dahil etmemesi ve bu sistemlerin daha çok ortopedi gibi medikal alanlarda kullanıma uygun olması nedeniyle bu sınıflandırmalar maksillofasiyal cerrahide fazla kabul görmemiştir (DeLong ve ark., 2012; Mishra ve ark., 2012; Magalon ve ark., 2016).

Santrifüj sırasında veya sonrasında hücre içeriğinin aktivasyonu, bu ürünlerin biyolojisi için önemlidir. Ayrıca, elde edilmiş teknikleri günlük uygulamada kullanılma potansiyelini etkilemektedir. Tüm bu parametreler Dohan Ehrenfest ve ark. (2009b)'nın sınıflandırmasında dikkate alınmıştır.

Kullanılan hazırlama setleri ve santrifüjler:

Bu tekniklerin günlük cerrahi uygulamalarda kullanılması için, santrifüjün büyüklüğü, prosedürün süresi, cihazın ve kitlerin maliyeti önemli faktörlerdir. Bunların yanında kitin ergonomisi ve prosedürün karmaşıklığı da önemlidir. Karmaşık prosedürler, materyal elde edilememesi veya potansiyel olarak yanlış kullanımlara sebebiyet verebilmesi nedeniyle standart olmayan sonuçlara yol açabilmektedir. Bu sebeplerden dolayı, otomatik sistemler geliştirilmiştir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b).

Konsantrenin içeriği:

Kullanılabilir hacimde biyomateyal elde edilebilmesi kan toplanmasına bağlıdır. Trombositlerin ve lökositlerin zarar görmeden toplanması ve sürecin tamamında korunması, ürünün temel biyolojik özelliklerini etkilemektedir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b).

Uygulama esnasında trombosit ve lökosit konsantrasyonunu destekleyen fibrin:

Fibrin ağ yoğunluğu, çoğunlukla hazırlama sırasındaki fibrinojen konsantrasyonu ile belirlenir (Mosesson ve ark., 2001). Çoğu protokol düşük yoğunluklu bir fibrin jelinin elde edilmesine neden olmaktadır. Bu durum uygun bir cerrahi uygulamaya izin verse de gerçek bir fibrin destek matriksini sağlayamamaktadır. Buna karşılık, yüksek yoğunluklu bir fibrin ağı fibrin matriksinin potansiyel iyileştirici etkilerinin ortaya çıkabilmesi için gereklidir (Clark, 2001). Fibrin polimerizasyon işlemi, fibrinojen ve trombin konsantrasyonları ve son fibrin ağının biyomekanik özelliklerini göz önünde bulundurarak değerlendirilmelidir. Fibrinojenin, fibrine dönüşümü aktivasyon şekline göre iki ayrı biyokimyasal mimari sergileyebilir. Bunlar; sıkışmış tetramoleküler (bilateral) veya bağlı trimoleküler (equilateral) bağlardır (Mosesson ve ark., 2001; van Hinsbergh ve ark., 2001). Dolayısıyla, fibrinojen toplama verimliliği ve polimerizasyon türü, konsantrenin biyolojik özelliklerini etkilemektedir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b).

Dohan Ehrenfest ve ark. (2009b)'nın sınıflandırmasında trombosit konsantreleri lökosit ve fibrin içeriği göz önünde bulundurularak dört temel kategoriye ayrılmıştır (Şekil 9).

Saf Trombositten Zengin Plazma (P-PRP)

Aktivasyondan sonra lökosit içermeyen ve düşük yoğunluklu bir fibrin ağa sahip biyomateriyallerdir. Bu ailenin ürünleri, sıvı solüsyonlar veya aktif jel formundadır. Enjekte edilerek, cilt yarası veya sütür üzerine jelleşme esnasında

yerleştirilerek kullanılabilir. Elde edilmeleri için hücre ayırıcıları (plazmaferez) kullanan birçok yöntem mevcuttur, yalnız bu yöntemler günlük uygulamada kolaylıkla kullanılamayacak kadar karışıkır. P-PRP yöntemi, büyük ölçüde PRGF ticari adı altında bilinmektedir (Anitua ve ark., 1999; Anitua ve ark., 2007). P-PRP'nin diğer elde edilif tekniği ise Vivostat PRF ticari ismi ile bilinmektedir. Vivostat PRF, adının PRF olması ancak elde edilen materyalin PRP yapısında olması nedeniyle literatürde karışıklığa neden olmuştur (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Dohan Ehrenfest ve ark., 2014).

Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma (L-PRP)

Aktivasyondan sonra lökositler ve düşük yoğunluklu fibrin ağ ile karakterizedir. P-PRP gibi bu ailenin tüm ürünleri sıvı solüsyonlar veya aktive jel formunda kullanılabilir (Everts ve ark., 2006a). Bu ailede, çok sayıda spesifik kitlerin kullanılmasını gerektiren, özellikle Smart-PreP (Harvest Technologies, Plymouth, MA, ABD) ve Biomet GPS III (Biomet Inc., IN, ABD) gibi birçok otomatik protokol bulunmaktadır. Ancak, Plateltex (Prag, Çek Cumhuriyeti) ya da Regen PRP (RegenLab, Le Mont-sur-Lozan, İsviçre) gibi daha fazla işlem gerektiren diğer protokoller de mevcuttur (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Cieslik-Bielecka ve ark., 2012; Dohan Ehrenfest ve ark., 2014).

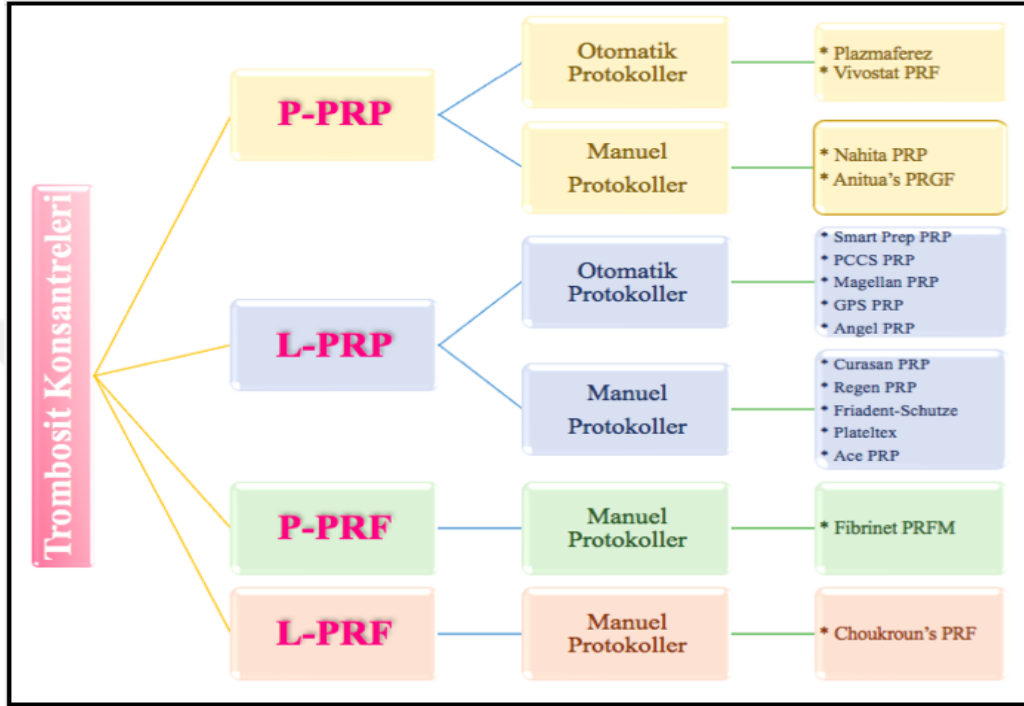
Saf Trombositten Zengin Fibrin (P-PRF)

Lökosit içermeyen ve yüksek yoğunluklu bir fibrin ağ içeren preparatlardır. Bu ürünler sadece güçlü bir şekilde aktive edilmiş jel formunda bulunur ve geleneksel fibrin yapıştırıcıları gibi kullanılamaz. Bununla birlikte, güçlü fibrin matrikslerinden dolayı, diğer uygulamalar için gerçek bir katı madde gibi manipüle edilebilir. Bu ailede ticari adı Fibrinet PRFM (Trombositten Zengin Fibrin Matriks, Cascade Medical, Wayne, NJ, ABD) olan sadece bir protokol bulunmaktadır. Bu tekniğin temel dezavantajı, Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin'e kıyasla yüksek maliyetli olması ve göreceli olarak daha karmaşık elde edilif protokolüne sahip olmasıdır (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Dohan Ehrenfest ve ark., 2014).

Lökosit ve Trombosit Zengin Fibrin (L-PRF)

Lökositler ve yüksek yoğunluklu bir fibrin ağı içeren materyallerdir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2010b). Bu biyomateryaller sadece güçlü bir şekilde aktive edilmiş jel

formunda bulunur. L-PRF geleneksel fibrin yapıştırıcıları gibi enjekte edilemez. Bununla birlikte, güçlü fibrin matrislerinden dolayı, diğer uygulamalar için gerçek bir katı madde gibi kullanılabilir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Cieslik-Bielecka ve ark., 2012; Dohan Ehrenfest ve ark., 2014).



Şekil 9. Trombosit konsantrelerinin sınıflandırılması ve elde edilmiş protokolleri (Dohan Ehrenfest ve ark., 2012b'dan uyarlanmıştır)

2.5. PRGF

Mevcut trombosit kaynaklı biyomateryallerin büyük kan hacimleri kullanılarak elde edilmesi ve sığır trombinini içermesi bu biyomateryallerin kullanımını sınırlandırmıştır. Bu dezavantajları ortadan kaldırmak için Anitua (1999) yeni bir trombosit konsantresi olan PRGF'yi gündeme getirmiştir. Bu yeni biyomateryal kanın tek aşamalı santrifüj prosedürü ile muamele edildiği, büyüme faktörleri bakımından zengin ve plazma bazlı bir teknoloji ürünüdür (Dohan Ehrenfest ve ark., 2012b). PRGF'nin elde edilmesi sırasında sığır trombinini gibi potansiyel olarak zararlı maddelerden kaçınılmıştır. Trombosit konsantrelerinin çoğunda, trombosit yüzeyinde bulunan trombin reseptörü vasıtasıyla trombosit aktivasyonunu tetikleyen sığır trombinini kullanılmaktadır. Ancak, bu madde V ve XI gibi pıhtılaşma faktörleri ile reaksiyona girerek yaşamı tehdit eden koagülopatilere neden olabilmektedir. Bu kısıtlamalardan

dolayı PRGF’de pıhtılaşma kaskadını aktive etmek ve üç boyutlu fibrin matriksi oluşturmak için kalsiyum kullanılmıştır. Kalsiyum trombine kıyasla yavaş gelişen bir polimerizasyona neden olur. Bu şekilde oluşan fibrin matriksten daha uzun süreli büyüme faktörü salınımı sağlanabilmektedir (Zehnder ve Leung, 1990; Anitua ve ark., 2012c).

Bu endojen formülasyondaki trombositlerin dozu, tam kandaki trombosit konsantrasyonuna kıyasla sadece 2-3 kat artmıştır. Bu hafif artış optimal biyolojik fayda ile ilişkilendirilmiştir. Çünkü, daha düşük trombosit konsantrasyonlarının, optimalden düşük, daha yüksek konsantrasyonların ise inhibitör bir etkiye neden olduğu düşünülmektedir (Weibrich ve ark., 2004; Anitua ve ark., 2009b; Anitua ve ark., 2012c).

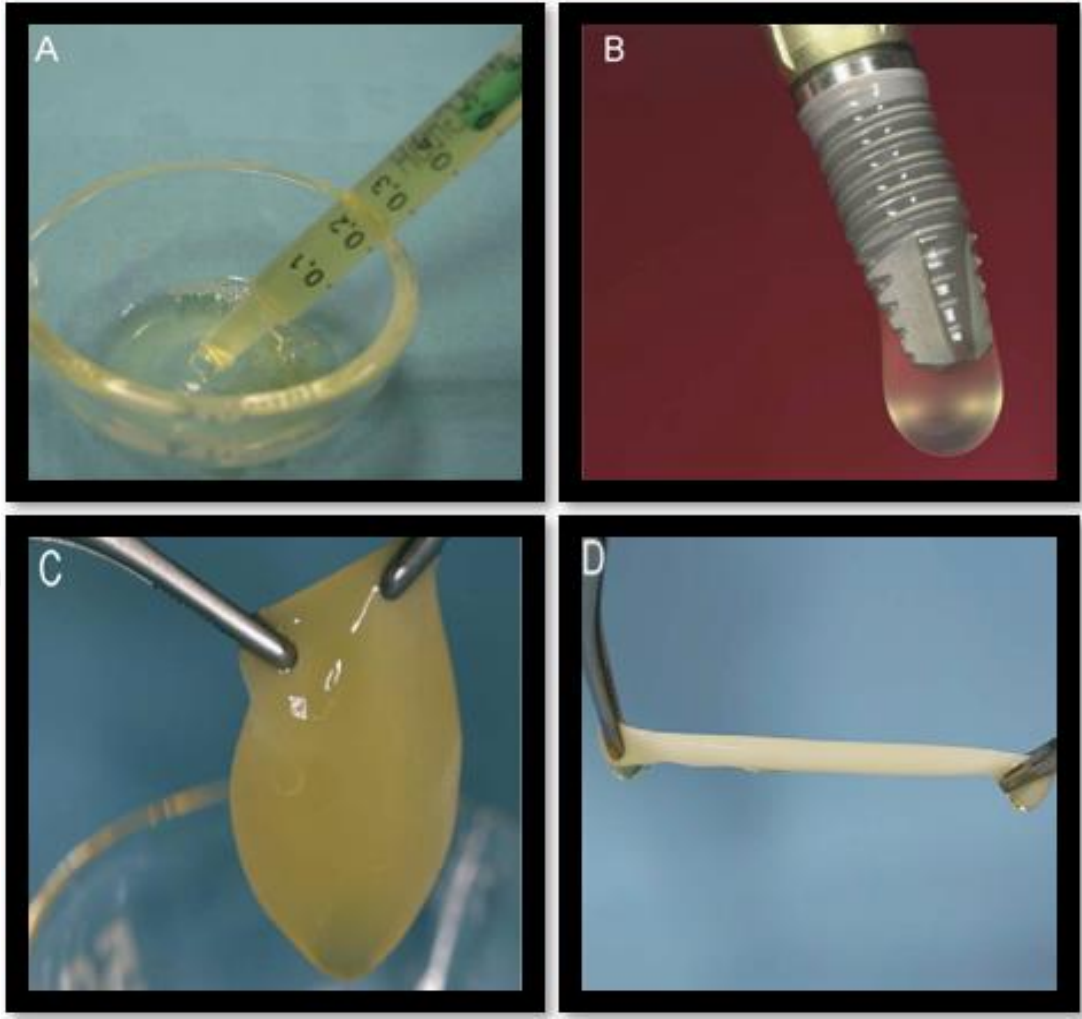
Lökositlerde bulunan proteazların ve asit hidrolazların enflamatuar etkilerinden ve fibrin matriks üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerinden kaçınmak amacıyla PRGF’de lökositler yoktur. Nötrofiller, mikroorganizmaları ortadan kaldırmak için tasarlanmış moleküller içerir; ancak aynı zamanda başta MMP-8 ve MMP-9 olmak üzere MMP’leri ürettikleri için rejenerasyonu olumsuz yönde etkileyebilecekleri düşünülmektedir. Nötrofiller aynı zamanda sadece mikroorganizmaları değil çevresindeki hücreleri de yok edebilen serbest radikaller, reaktif oksijen ürünleri ve azot üretir. Bu olumsuz etkileri ortadan kaldırabilmek için, PRGF’de lökositler elimine edilmiştir (Scott ve ark., 2004; Anitua ve ark., 2012c).

Terapötik açıdan bakıldığında, bu teknolojinin etkinliği iki önemli noktaya bağlıdır. Birincisi, doku rejenerasyonunu aktif olarak uyaran yüzlerce proteinin ve büyüme faktörünün salınımıdır. Bu faktör havuzu insan plazmasında bulunan biyolojik açıdan aktif moleküllere eklenir. İkincisi, büyüme faktörlerinin depolanmasını ve ardından kademeli olarak serbest bırakılmasını destekleyen üç boyutlu fibrin matriksi ile oluşan yapısal ağdır. Bu fibrin matriks, terapötik açıdan aktif proteinlerin fizyolojik biyoyararlanımını sağlar (Anitua ve ark., 2012a). Dahası, elde edilmiş tekniğini ve santrifüj parametrelerini düzenleyerek bu biyomateryalde trombosit konsantrasyonunun ve dolayısıyla büyüme faktörlerinin miktarının da kontrol edilmesi mümkündür (Anitua ve ark., 2012c).

PRGF teknolojisini diğer trombosit konsantrelerinden farklı kılan özellik, elde edilen ürünün çeşitliliğidir (Şekil 10A, B, C, D). Terapötik potansiyele sahip dört farklı

formülasyon aynı hastadan toplanan numunelerin pıhtılaşıma ve aktivasyon derecelerine bağlı olarak elde edilebilir:

- 1. PRGF Süpernatantı:** PRGF pıhtının büzülmesi sırasında salınan, plazma ve trombositlerden kaynaklanan proteinleri ve büyüme faktörlerini içeren sıvıdır. Göz hastalıklarında (Doucet ve ark., 2005; Lopez-Plandolit ve ark., 2010) ve hücre kültürü ortamını desteklemek için kullanılabilir (Johansson ve ark., 2003; Lucarelli ve ark., 2003; Anitua ve ark., 2005; Anitua ve ark., 2009b; Anitua ve ark., 2011).
- 2. Aktif Sıvı PRGF:** Aktivatörün PRGF'ye eklenmesinden sonra, fibrin pıhtı oluşmadan önce ortaya çıkan formülasyondur. İntra-artiküler enjeksiyonlarda (Sanchez ve ark., 2008; Wang-Saegusa ve ark., 2011), cerrahide (Sanchez ve ark., 2009; Seijas ve ark., 2010), cilt hastalıklarının tedavisinde (Anitua ve ark., 2008a; Orcajo ve ark., 2011) ve biyolojik olarak titanyum yüzeylerindeki aktif tabakayı oluşturmak için kullanılabilir (Anitua, 2006).
- 3. PRGF Pıhtı:** Otojen büyüme faktörlerini, plazma ve trombosit proteinlerini içeren, fibrinojenin fibrine dönüşmesi sonucu ortaya çıkan üç boyutlu bir matrikstir. Ülserler, yara izolasyonu, çekim soketlerinin rejenerasyonu ve doku mühendisliği gibi çeşitli uygulamalarda kullanılabilir (Anitua ve ark., 2006b; Anitua, 2015). Fibrin örgüsünün üç boyutlu yapısı, hücre proliferasyonunu destekler. Buna ek olarak, otojen kemik, demineralize dondurularak kurutulmuş sığır kemiği gibi diğer materyallerle birleştirilerek de kullanılabilir (Anitua ve ark., 2009a).
- 4. Otojen Fibrin Membran:** Büyüme faktörlerinden fakir plazma kısmının aktivatörle girdiği reaksiyon sonucunda oluşur. Pıhtılaşıma sürecinin sonunda elde edilen elastik ve yoğun bir membrandır. Diş çekimi sonrası çekim soketlerini kapatmak ve yumuşak dokuların epitelizasyonunu hızlandırmak için mükemmel bir araçtır (Rosano ve ark., 2013).



Şekil 10. A. PRGF süpernatantı B. Aktif sıvı PRGF C. PRGF pıhtı D. Otojen fibrin membran
(Anitua ve ark., 2007' dan)

PRGF'nin yeni keşfedilen potansiyel etkileri de artmaktadır. Son raporlarda PRGF'nin güçlü bir anjiyogenik etkisi (Anitua ve ark., 2006b) ve ayrıca *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel etkisi olduğu gösterilmiştir (Bielecki ve ark., 2007). Ayrıca, monositler ile lipoksin A4 üretiminden salınan monosit kemotaktik protein-1'i bloke ederek anti-enflamatuar etki gösterdiği (El-Sharkawy ve ark., 2007) ve trombositlerde bulunan bir nörotransmitter olan serotonin ile karaciğer rejenerasyonuna aracılık ettiği bildirilmiştir (Lesurtel ve ark., 2006).

2.5.1. PRGF'nin Elde EdiliŖi

Anitua (1999)'nın geliŖtirdiđi PRGF plazma bazlı bir teknolojidir ve biyomateryalin elde edilmesi için özel bir sistem ve kit gereklidir (BioTeknoloji Enstitüsü (BTI), Victoria, İspanya). PRGF kitinde (KMU15 kit);

- Vakumlu kan toplama iğnesi
- 4 adet, vakumlu, 9 ml, mavi kapaklı tüp (0.4 ml, % 3.8 sodyum sitrat solüsyonu içerir, kanın toplanması için kullanılır)
- 2 adet, vakumlu, 9 ml, beyaz kapaklı tüp (Fraksiyon 1 ve 2'nin toplanması için kullanılır)
- Plazma transfer cihazı (Santrifüjden sonra elde edilen farklı fraksiyonların ayrılmasını sağlayan, steril bir aspirasyon sistemidir)
- PRGF aktivatörü 1ml (CaCl₂) (pıhtılaŖmanın aktivasyonu için kullanılır) bulunur (Anitua, 2015).

Kan mavi kapaklı tüplerde toplandıktan sonra, tüpler santrifüj cihazına dengeli bir Ŗekilde yerleŖtirilir. Ardından günümüze kadar önerilen;

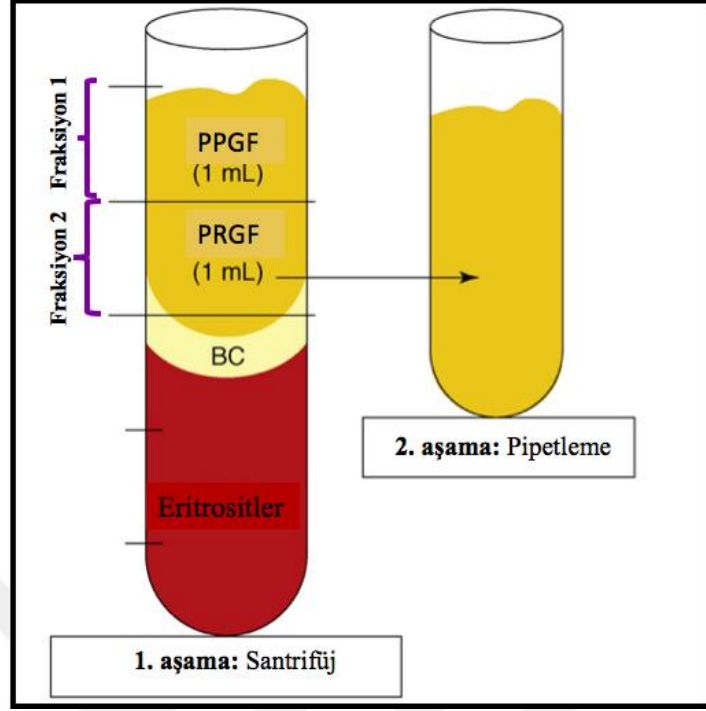
- Toplanan kanın 5 ile 40 ml,
- Santrifüj kuvvetinin 160, 270, 280, 460 veya 580 G,
- Santrifüj süresinin 6 ile 8 dakika arasında deđiŖtiđi farklı protokoller doğrultusunda (Anitua, 1999; Anitua ve ark., 2004; Anitua ve ark., 2008b; Anitua ve ark., 2009a; Anitua ve ark., 2012b; Anitua ve ark., 2013b), PRGF santrifüj cihazı ile santrifüj gerekleŖtirilir.

Santrifüjün ardından üç farklı fraksiyon oluŖur:

- ✓ Tüpün tabanında görülen eritrositler,
- ✓ Tüpün ortasında toplanan lökositler -Parlak kılıf (Buffy coat),
- ✓ Tüpün st kısmında bulunan, trombositleri içeren plazma.

Plazma kısmı 2 fraksiyona ayrılır;

- **Fraksiyon 1-Büyüme Faktörlerinden Fakir plazma (PPGF):** Fraksiyon 2'nin üzerindeki kısımdır. Fraksiyon 2'den farklı olarak bu kısmın hacmi hastanın hematokrit değerine göre deđiŖebilir. Fraksiyon 1 periferik kandan biraz daha yüksek, Fraksiyon 2'den dŖk miktarda trombosit içerir.
- **Fraksiyon 2-PRGF:** Parlak kılıf (Buffy coat) zerindeki kısımdır. Bu kısım periferik kana oranla 2-3 kat daha fazla trombosit içerir (Ŗekil 11).



Şekil 11. Anitua'nın PRGF protokolü **1. aşama:** Kan yumuşak (soft) santrifüje tabi tutulur ve üç tabakaya ayrılır: Eritrositler, parlak kılıf-buffy coat (BC) ve plazma (PPGF ve PRGF) **2. aşama:** PPGF tabakası ve PRGF dikkatli bir şekilde pipetleme yapılarak ayrı tüplere aktarılır (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b'dan uyarlanmıştır).

Santrifüjden sonra içeriğinin karışmamasına özen gösterilerek mavi tüp açılır. Plazma transfer cihazı ile Fraksiyon 1 toplanır ve beyaz kapaklı tüpe aktarılır. Ardından lökositlerin bulunduğu tabakaya çok yaklaşmamaya özen gösterilerek Fraksiyon 2 beyaz kapaklı diğer tüpe transfer edilir. Elde edilen PRGF fraksiyonlarının aktivasyonu için 20 µl/ml aktivatör kullanılır. Fraksiyon 2'nin aktivasyonu için 37°C'de trombosit konsantrasyonuna bağlı olarak (yüksek trombosit konsantrasyonu düşük pıhtılaşma zamanı gerektirir) yaklaşık 10 dakika beklenir ve sonucunda PRGF pıhtı oluşur. Fibrin membran ise Fraksiyon 1'in aktivasyonu sonucunda oluşur. Bu fraksiyon ısıyı 37±1°C'de tutan Plasmaterm H (BioTeknoloji Enstitüsü (BTI), Victoria, İspanya) cihazında tutularak elde edilmiş süresi düşürülebilir (Anitua ve ark., 2012c; Anitua, 2015).

2.5.2. PRGF'nin Avantajları

- PRGF, hastanın kendi kanından kolayca ve hızlı bir şekilde elde edilebilir. Dolayısıyla PRGF teknolojisi, immünolojik reaksiyonların gelişme riskini ortadan kaldırmaktadır (Anitua, 1999).
- PRGF'de sığır trombini gibi potansiyel olarak zararlı maddelerin kullanılmaması bu maddeler ile ilişkili hastalık iletim riskini de ortadan kaldırmaktadır (Anitua, 1999).
- Antikoagülan olarak sodyum sitrat kullanılması trombosit membran reseptörlerinin zarar görmesini engellemektedir (Anitua ve ark., 2012c; Anitua, 2015).
- PRGF'nin diğer PRP lere göre çok daha az miktarda kan gerektirmesi ve tek aşamalı santrifüj tekniği ile elde edilebilmesi protokolü basit ve hızlı bir hale getirmektedir (Lacci ve Dardik, 2010; Anitua, 2015).
- PRGF teknolojisinde kalsiyumun kullanılması, doğal fibrin oluşumunu sağlamaktadır. Böylece fizyolojik pıhtılaşma süreci taklit edilerek üç boyutlu fibrin matriksten büyüme faktörlerinin daha uzun süreli salınımı sağlanabilmektedir (Tsay ve ark., 2005).
- PRGF normal kana göre orta derecede yükselmiş trombosit konsantrasyonu içermektedir. Bu konsantrasyon düzeyinde trombositlerin optimum fayda sağlayabileceği düşünülmektedir (Anitua ve ark., 2012c).
- PRGF'de lökositler elimine edilmiştir, böylece ürünün homojenitesi artarken, metaloproteazlar ve asit hidrolazlar gibi enflamasyon önleyici ajanların olumsuz etkilerinin en aza indirgenmesi sağlanabilmektedir (Weibrich ve ark., 2005; Schnabel ve ark., 2007; Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b).
- PRGF teknolojisinin önemli bir özelliği de biyomateryalin kullanılacak fraksiyonlarının çeşitliliğidir. Bu özellik biyomateryalin geniş bir alanda kullanımına imkan sağlamaktadır (Gonshor, 2002).

2.5.3. PRGF'nin Dezavantajları

- PRGF'nin en büyük dezavantajlarından biri, preparatların bozunmaya duyarlı olması ve muhafaza edilmesinin zor olmasıdır (Chen ve ark., 2010).

- Bu tekniğin evrimini inceledikten sonra PRGF'nin santrifüj parametrelerinde ve elde edilmiş aşamalarında bazı tutarsızlıklar olduğu görülmüştür. Pipetleme değişkenliği nedeniyle teknik olarak lökositlerin net olarak ayrıştırılmadığı ve elde edilen materyalin daha çok L-PRP'nin lökositlerden zayıf hali olarak tanımlanmasının daha doğru olabileceği öne sürülmüştür (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Jovani-Sancho ve ark., 2016).

2.6. L-PRF

Yeni bir trombosit konsantrisi olan L-PRF, kan ürünlerinin reimplantasyonu ile ilgili Fransız yasalarındaki kısıtlamalar nedeniyle spesifik olarak oral ve maksillofasiyal cerrahide kullanmak amacıyla geliştirilmiştir (Dohan ve ark., 2006a; Saluja ve ark., 2011; Mihaylova ve ark., 2017). Choukroun'un PRF'si olarak bilinen L-PRF, lökosit ile trombosit açısından zengin, otojen bir biyomateryaldir. PRP'lere kıyasla farklı elde edilmiş protokolü nedeniyle ikinci nesil trombosit konsantrisi olarak da adlandırılmıştır (Dohan ve ark., 2006a; Dohan ve ark., 2006b; Dohan ve ark., 2006c; Dohan Ehrenfest ve ark., 2012a; Kumar ve Shubhashini, 2013). L-PRF sığır trombinini, kalsiyum klorür veya diğer aktive edici maddeler eklenmeksizin cam kaplı plastik tüplerde basit bir yöntemle elde edilmektedir (Choukroun ve ark., 2006a; Dohan ve ark., 2006a). Bu yöntemde trombositler tüpün duvarı ile temas ettiğinde aktifleşir. Doğal bir şekilde gelişen trombosit aktivasyonu ile fibrin polimerizasyonu ve pıhtılaşma kaskadı fizyolojik olarak harekete geçirilir. Bu reaksiyon nihai olarak tüpün ortasında, tabandaki kırmızı kan hücreleri ile tüpün üst kısmındaki aselüler plazma arasında, yoğun bir fibrin-trombosit pıhtı oluşmasını sağlar. L-PRF trombositlerin ve lökositlerin güçlü bir fibrin matriksi içinde üç boyutlu dağılımından oluşmaktadır. L-PRF hemen hemen tüm trombositler ile lökositlerin % 50'sinden fazlasını içerir (Su ve ark., 2009; Dohan Ehrenfest ve ark., 2010b; Dohan Ehrenfest ve ark., 2010c; Dohan Ehrenfest ve ark., 2012a; Burnouf ve ark., 2013; Shah ve ark., 2017). Yoğun fibrin ağ, büyüme faktörlerini daha uzun süre yakalayıp proteolizden korur (Dohan Ehrenfest ve ark., 2012a). Düşük trombin konsantrasyonuna sahip moleküler yapısı nedeniyle fibrin ağ endotel hücreleri ve fibroblastların migrasyonu için optimal bir matriks oluşturur. Ayrıca, daha hızlı bir anjiyogeneze ve fibrinin daha kolay biçimlenmesine izin verir (Choukroun ve ark., 2006a; Dohan ve ark., 2006a).

L-PRF, trombositler, lökositler, sitokinler ve kök hücrelerin bir araya

gelmesiyle trimoleküler (equilateral) yapıda polimerize olmuş bir fibrin matriksten oluşur (Dohan ve ark., 2006a; Kumar ve Shubhashini, 2013). Biyokimyasal olarak L-PRF yavaşça polimerize olan fibrin ağındaki sitokinlerin, glikanik zincirlerin ve yapısal glikoproteinlerin bir araya gelmiş şekli olarak tanımlanmaktadır. Lökositlerin varlığı bu biyomateryalde enflamatuvar sürecin düzenlenmesi ve savunma mekanizmasının uyarılmasını sağlar. Fibrin matriksi, anjiyogenez ve yara iyileşmesi için doğal kılavuz görevi yapar (Arora ve Agnihotri, 2017). L-PRF, mikro-vaskülarizasyonun gelişmesine elverişli, ayrıca epitel hücrelerin göçünü yönlendiren, doğal bir fibrin esaslı biyomateryal olarak düşünülebilir. L-PRF, trombositlerin aktivasyonu ile serbest bırakılan yüksek miktardaki büyüme faktörleriyle birlikte IL1- β , IL-6, IL-4 ve TNF gibi sitokinleri de içerir (Choukroun ve ark., 2006a ; Dohan ve ark., 2006c). Polimerizasyon sonucunda elde edilen biyomateryal yalnızca aktif fibrin matriks formundadır ve enjekte edilebilir bir formda bulunmaz. Güçlü fibrin matriksi nedeniyle L-PRF oral ve maksillofasiyal cerrahide (Choukroun ve ark., 2006a; Choukroun ve ark., 2006b; Charrier ve ark., 2008; Magremanne ve ark., 2009), periodontolojide (Soadoun ve Touati, 2007; Del Corso ve ark., 2009), implant cerrahisinde (Diss ve ark., 2008; Simonpieri ve ark., 2009b; Simonpieri ve ark., 2009a) ve kulak burun boğaz cerrahisinde (Braccini ve Dohan, 2007; Choukroun ve ark., 2007; Braccini ve ark., 2009) yaygın şekilde kullanılmaktadır.

L-PRF'nin Biyolojik Etkileri

L-PRF iyileşme ve bağışıklık için elverişli olan kanın tüm bileşenlerini tek bir fibrin yapıda toplayan bir lökosit ve trombosit konsantrasyonudur. Bu biyokimyasal bileşenler, iyileşme süreçleri üzerinde sinerjik etki gösterir. Lökositler bu biyomateryalin biyolojisinde önemli bir rol oynarken bunları destekleyen fibrin matriksi L-PRF'nin gerçek terapötik potansiyelinden sorumludur (Choukroun ve ark., 2006a; Toffler ve ark., 2009; Chandran ve Sivadas, 2014).

Anjiyogenezin Düzenlenmesi

Endotel hücrelerinin migrasyonu, bölünmesi ve farklılaşması için bir hücre dışı matriks gereklidir. Fibrin matriksin anjiyogenez özelliği, matriksin üç boyutlu yapısı ve bu matrikse tutunan sitokinlerin eş zamanlı hareketi ile açıklanır (Sahni ve ark., 1998; Feng ve ark., 1999; Singh ve ark., 2012). Fibrin, endotel hücrelerinin fibronektin ve

vitronektine bağlanmasına aracılık eden $\alpha\beta3$ integrini uyarır. Bu anjiyogenezin düzenlenmesinde önemli bir basamaktır (Feng ve ark., 1999; Choukroun ve ark., 2006a; Kumar ve Shubhashini, 2013). Ayrıca, matriksin rijit yapısı sayesinde b-FGF veya VEGF'nin uyarılması ve buna yanıt olarak endotel hücreleri tarafından neoanjiyogenezin düzenlenmesi sağlanır (Nehls ve Herrmann, 1996; Feng ve ark., 1999; Choukroun ve ark., 2006a; Khiste ve Naik Tari, 2013).

Bağışıklığın Desteklenmesi

Fibrin ve fibrinojen bozunma ürünleri, nötrofillerin migrasyonunu uyarır ve membranın CD11c / CD18 reseptör ekspresyonunu artırır. Bu reseptör, nötrofilin endotele ve fibrinojene yapışmasına ve nötrofillerin göç etmesine izin verir (Loike ve ark., 1991). Fibrin ve fibrinojen bozunma ürünleri tarafından nötrofillerin aktivasyonu, nötrofil proteazlarının salınmasını uyarır. Yaralı bölgedeki nötrofiller bakterileri toksik oksijen radikali oluşumu ve fagositoz yoluyla yok eder (Kazura ve ark., 1989; Singh ve ark., 2012; Kumar ve Shubhashini, 2013). Makrofajların yara bölgesindeki kolonizasyonu da fibrin matrikste sıkışan kemotaktik ajanlar tarafından kontrol edilir (Choukroun ve ark., 2006a). Ayrıca, monosit/makrofajlarla fibrin etkileşimi, integrin reseptörü Mac-1 aracılığıyla fagositozu düzenler. Dolayısıyla, makrofajlar enflamasyon ile fibrin tarafından düzenlenen tamir arasındaki geçişte önemli bir rol oynamaktadır (Clark, 2001; Kumar ve Shubhashini, 2013).

Yara Örtücülüğü

Fibrin matriksi yaralı dokuları örter, epitel hücrelerinin ve fibroblastların metabolizmasını etkiler. Yara kenarlarında, epitel hücreleri polaritesini kaybederek yaraya bazal ve yanal uzantılar oluşturur. Hücreler daha sonra, fibrinojen, fibronektin, tenasin ve vitronektin tarafından oluşturulan geçici matrikse göç eder. Büyüme faktörleri, özellikle PDGF ve TGF- β , matriks proteinleri fibrin ve fibronektin ile birlikte doku fibroblastlarının çoğalmasını uyarır (Gray ve ark., 1993; Clark, 2001). Fibrinin migrasyonundan ve parçalanmasından sonra, fibroblastlar kollajen sentezini başlatır (Choukroun ve ark., 2006a).

Mezenkimal Kök Hücrelerin Transplantasyonu

Mezenkimal kök hücreler, kemik ve diğer birçok dokunun yenilenmesine katkıda bulunur. Bu hücreler, kandan yaralanmış dokulara göç ederek farklılaşır. Bu ilk

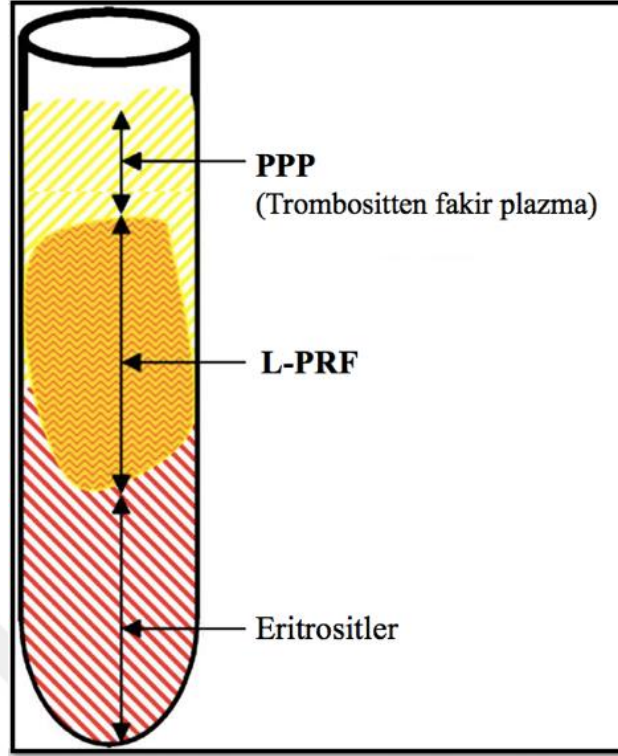
farklılaşma mutlaka fibrin ve fibronektin tarafından oluşturulan geçici bir matriks varlığında gerçekleşir. Bu nedenle fibrin, bu hücrelerin transplantasyonu için destek matriksi olarak tercih edilir (Bonucci ve ark., 1997; Marx ve ark., 1998; Badiavas ve ark., 2003; Bensaid ve ark., 2003; Choukroun ve ark., 2006a). L-PRF, fizyolojik bir fibrin matriksi olarak, özellikle hızlı bir anjiyogenez ortaya çıktığında, kök hücrelere hizmet eder (van Hinsbergh ve ark., 2001; Choukroun ve ark., 2006a).

2.6.1. L-PRF'nin Elde Edilişi

Choukroun'un PRF protokolü basittir. Özel bir sistem ya da kit gerektirmez. Bu tekniğin başarısı tamamen kanın toplanmasına ve santrifüj cihazına transfer hızına bağlıdır. Kan örneği, antikoagülan olmadan tüp duvarı ile temas ettikten hemen sonra pıhtılaşmaya başlar. Dolayısıyla, klinik olarak kullanılabilir L-PRF elde etmek için işlemlerin olabildiğince bekletilmeden yapılması gerekmektedir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2010b; Saluja ve ark., 2011). L-PRF protokolü, antikoagülan içermeyen cam/cam kaplı plastik tüpler ile hastadan yaklaşık 10 ml kan alınmasını gerektirir. Ardından kan 3000 rpm'de 10 dakika veya 2700 rpm'de 12 dakika santrifüje tabi tutulur. (Choukroun ve ark., 2000; Dohan ve ark., 2006a; Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Shah ve ark., 2017). Santrifüj sırasında kan pıhtılaşması ve kan elemanlarının ayrılması aynı anda meydana gelir. Uygulanan santrifüj kuvveti doğrudan parçacık kütlesi ile orantılı olarak kanın bileşenlerine ayrılmasını sağlar (Shah ve ark., 2017).

Santrifüjün ardından üç farklı fraksiyon oluşur:

- Kırmızı renkli alt fraksiyon: Eritrositleri içerir.
- Fibrin pıhtıyı içeren orta fraksiyon: L-PRF pıhtı, kandaki trombositlerin ve lökositlerin çoğunun yoğunlaştığı kompleks bir üç boyutlu mimariyle güçlü bir fibrin matriksi oluşur.
- Açık sarı renkli üst fraksiyon: Asellüler plazma veya trombositten fakir plazma (PPP)'yi içerir (Şekil 12) (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Raaj ve ark., 2015).



Şekil 12. L-PRF elde edilmesi sırasında oluşan fraksiyonlar (Dohan ve ark., 2006b'dan uyarlanmıştır)

Oluşan fibrin pıhtı steril bir penset yardımıyla tüpten çıkarılır ve pıhtıya bağlı kırmızı kan hücreleri kazınarak atılır. Fibrin pıhtıdan oluşan orta tabaka ve eritrositlerin oluşturduğu tüpün en alt tabakasının birleştiği bölgede trombosit ve lökositler yoğunudur. Fibrin pıhtının yarısından sonra trombositler iyice azalır. Eritrositler uzaklaştırıldıktan sonra L-PRF steril bir kaba alınır. L-PRF, PRF kutusunda (Process Ltd., Nice, Fransa) bulunan ızgaraya yerleştirilerek homojen bir fibrin membran üretilebilir. Ayrıca, kutunun tabanında toplanan eksüda, greft materyallerini ıslatmak ve cerrahi alanları yıkamak için kullanılabilir. L-PRF, L-PRF kutusundaki silindirin içine yerleştirilebilir ve pistonla yavaşça sıkıştırılarak çapı 1 cm olan kalın, küçük L-PRF diskleri elde edilebilir. Bunlar çekim bölgelerinde kullanılabilir (Toffler ve ark., 2009; Dohan Ehrenfest ve ark., 2010b; Dohan Ehrenfest ve ark., 2012a; Kumar ve Shubhashini, 2013).

L-PRF'nin biyolojik aktivasyonu geliştirmek amacıyla değişik santrifüj hızları ve zamanları ile modifiye edilen farklı PRF tipleri üretilmiştir (Rodella ve ark., 2011; Choukroun, 2014; Ghanaati ve ark., 2014; Kawase, 2015).

Gelişmiş PRF (A-PRF)

L-PRF, steril cam veya cam ile kaplı plastik tüplerde 2700 rpm'de 12 dakika veya 3000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj sonucunda elde edilir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2017). A-PRF ise, daha yavaş santrifüj hızı (1500 rpm) ve daha fazla zaman (14 dakika) kullanılarak steril düz cam tabanlı tüpler kullanılarak elde edilir. Bu protokol B ve T lenfositlerin yakalanmasını ve trombosit dağılımının daha düzenli olmasını sağlar. A-PRF'nin klinik olarak, daha uzun süre büyüme faktörü ve sitokin salınımı sağladığı öne sürülmüştür (Ehrenfest ve ark., 2014; Kobayashi ve ark., 2016; Dohan Ehrenfest ve ark., 2017). Bununla birlikte Pinto ve ark. (2014) A-PRF protokolü ile çok daha kısa ve dar bir pıhtı üretilebildiğini ve A-PRF'den salınan büyüme faktörlerinin L-PRF'ninkine karşılaştırıldığında oldukça az olduğunu iddia etmişlerdir.

Gelişmiş PRF + (A-PRF +)

A-PRF'nin bir başka modifikasyonu, Fujioka-Kobayashi ve ark. (2017)'nin santrifüj süresini 8 dakika ve hızını 1300 rpm'e düşürdükleri A-PRF + protokolüdür. Bu protokolda yüksek santrifüj hızının trombositler ve lökositleri PRF pıhtısından uzaklaştırma eğiliminde olduğu ve santrifüj hızı düşürülerek, daha homojen bir trombosit dağılımı elde edilebileceği düşünülmüştür. Dolayısıyla santrifüj sonrası PRF matrisinde bulunan hücrelerin sayısının artacağı ve büyüme faktörü salınımı, biyoyumluluk ve hücresel aktivite bakımından daha etkin bir biyomateryal üretilebileceği savunulmuştur (Fujioka-Kobayashi ve ark., 2017; Shah ve ark., 2017).

Enjektabl PRF (I-PRF)

PRF'lerin kullanımını sınırlayan önemli bir dezavantaj biyomateryalin enjekte edilebilir formununun bulunmamasıdır. PRF teknolojisindeki en son gelişmelerden biri, I-PRF'nin üretimidir. I-PRF protokolünde kan, kaplanmamış plastik tüplerde yaklaşık 700 rpm'de ve 3 dakika süreyle santrifüj işlemine tabi tutularak biyomateryal elde edilir (Pavan Kumar ve ark., 2015).

Konsantre Büyüme Faktörü (CGF)

PRF'den farklı olarak CGF, büyüme faktörleri içeren daha yoğun ve daha zengin fibrin matrisi üretmek için kanın kaplanmamış test tüplerinde 2400-2700 rpm'de yaklaşık 12 dakika santrifüj işlemine tabi tutulması ile elde edilir. Oluşan

süpernatant konsantre büyüme faktörü olarak adlandırılmıştır (Pavan Kumar ve ark., 2015; Sohn ve ark., 2015).

Otojen Fibrin Tutkal (OFG)

OFG'ın santrifüj protokolü kaplanmamış tüplerde 2400-2700 rpm'de 2 dakikadır. Daha az santrifüj süresinin, bu biyomateryalde daha fazla büyüme faktörünün bulunmasına neden olduğu düşünülmektedir. OFG'nin allogreftle veya ksenogreftle karıştırılması ile sarı renkli yapışkan kemik grefti (sticky bone) de elde edilebilmektedir (Pavan Kumar ve ark., 2015; Sohn ve ark., 2015).

I-PRF ve CGF esasen aynı prensip ile çalışır ve dolayısıyla aynı konsantrenin varyantları olarak düşünülebilir. Süre, diğer iki protokolden (L-PRF ve A-PRF) çok daha kısadır. Bu, I-PRF ve CGF için ilk 2-4 dakika içinde sadece kan bileşenlerinin ayrılmasının amaçlanmasından kaynaklanır. Plastik tüpler hidrofobik bir yüzeye sahiptir ve pıhtılaşma sürecini verimli bir şekilde etkinleştirmezler (Bowen ve Remaley, 2014). Dolayısıyla, iyi bir trombosit konsantresi oluşturmak için gereken tüm kan bileşenleri, ilk 2-4 dakika içinde santrifüj kuvveti altında tüpün tepesinde toplanır. Ayrılan plazma ve trombositler tüpün üst kısmında bulunan açık sarı renkli bir katman oluşturur. Bu kısım aktif ve enjekte edilebilir formdadır. Pıhtılaşma tamamlanmadığı için bu kısım greft parçacıkları ile karıştırılarak kullanılabilir (Mourao ve ark., 2015; Sohn ve ark., 2015).

Titanyum –PRF (T-PRF)

Silika parçacıkları olan cam kan toplama tüplerindeki silika parçacıklarının potansiyel zararlı etkilerinden kaçınmak için üretilen bir trombosit konsantresidir (Pavan Kumar ve ark., 2015). Bu silika parçacıklarının yalnızca küçük bir kısmının kırmızı kan hücreleriyle tortulaştığı, büyük çoğunluğunun ise tedavi için kullanılan L-PRF pıhtıda kaldığı düşünülmektedir (Tunali ve ark., 2013). T-PRF ve L-PRF benzer santrifüj protokolü ile elde edilmeleri ve benzer histolojik yapıya sahip olmalarına rağmen, T-PRF ile oluşan fibrin ağ daha yoğundur. Bu fark, daha polimerize fibrin oluşumuna yol açan titanyumun biyoyumluluğuna bağlanmıştır (Pavan Kumar ve ark., 2015; Shah ve ark., 2017).

PRF Lizatı

PRF tabanlı ürünlerin daha yeni bir uygulaması PRF lizatıdır. PRF

hazırlandıktan sonra, nemli atmosferde % 5 CO₂/% 95 hava içinde 37°C'de inkübe edilir ve bu şekilde toplanan eksüdaya, PRF lizatı denir. PDGF, TGF, VEGF ve EGF gibi çeşitli büyüme faktörleri açısından iyi bir kaynak olduğu belirtilmektedir (He ve ark., 2009; Shah ve ark., 2017).

2.6.2. L-PRF'nin Avantajları

- L-PRF, kana dışardan herhangi bir madde eklenmeden elde edilir. Diğer trombosit konsantreleri ile L-PRF arasındaki en büyük fark, jelleşme şeklidir. PRP'lerin ve P-PRF'nin pıhtılaşma ve fibrin polimerizasyonunun son safhasını başlatmak için trombin, kalsiyum klorür gibi dışardan bazı maddelerin eklenmesi gereklidir. L-PRF'nin polimerizasyonunun erken safhalarında trombin kesinlikle önemli bir role sahiptir; ancak dışarıdan eklenmediği için fizyolojik konsantrasyonlarda bulunması, yavaş ve fizyolojik bir şekilde fibrin matriksinin oluşumunu sağlar. Fibrinojenin polimerizasyon şekli fibrin ağının üç boyutlu organizasyonu için çok önemlidir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Toffler ve ark., 2009; Saluja ve ark., 2011; Kumar ve Shubhashini, 2013; Raaj ve ark., 2015).
- L-PRF'de kullanıcı hatası nedeniyle protokolün değiştirilme olasılığı minimumdur (Raaj ve ark., 2015).
- L-PRF hazırlama protokolünde düşük konsantrasyonda trombin, esnek bir ağ oluşumu ile sonuçlanır ve fibrin lokal rejenerasyon için bir doku matriksi olarak görev yapar. Bu fibrin yapı, neoanjiyogenezi uyarır (Dohan ve ark., 2006c; Toffler ve ark., 2009).
- L-PRF yöntemiyle elde edilen fibrinin yapısı, trombositlerin substratı olarak görev yapar ve kök hücreler için kemotaktiktir (Giannini ve ark., 2015).
- Bu tekniğin diğer bir avantajı düşük maliyetli olmasıdır. L-PRF yöntemiyle hızlı ve tamamen otojen bir ürün elde edilebilir. Dolayısıyla, bu yöntem pratik uygulamada yaygın kullanım için çok uygundur (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b; Kumar ve Shubhashini, 2013; Raaj ve ark., 2015).
- Hazırlama kutusunu kullanarak çok kısa sürede standart fibrin membran elde edilebilir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2014).

- Choukroun'un PRF'si uygulama sonrasında hızla çözülmez; bunun yerine, güçlü fibrin matriksi doğal bir kan pıhtısına benzer formda yeniden şekillendirilir. Trombositler ve lökositler bu yöntemle yüksek verimlilikte toplanabilir ve korunabilir (Clark, 2001; Dohan Ehrenfest ve ark., 2009a; Dohan Ehrenfest ve ark., 2009b).
- L-PRF işlemi sırasındaki yavaş polimerizasyon, trombosit sitokinlerinin ve organik bileşiklerin intrinsek olarak ağa katılmasına neden olur. Böylece, diğer trombosit konsantrasyonlarının aksine, L-PRF fibrin matriksin yeniden şekillenmesi sırasında sitokinlerin kontrollü salınımını daha uzun süre gerçekleştirebilmektedir (van Hinsbergh ve ark., 2001; Dohan Ehrenfest ve ark., 2009a; Saluja ve ark., 2011).

2.6.3. L-PRF'nin Dezavantajları

- Sınırlı miktarda L-PRF üretilmesi bu materyalin bir dezavantajı olarak düşünülebilir (Del Corso ve Ehrenfest, 2010).
- Kanın toplanmasından hemen sonra hızlı bir şekilde işleme tabi tutulması gerekir. Tekniğin başarısı tamamen kan toplama ve santrifüje transfer hızına bağlıdır. Antikoagülan olmadan, kan örneği tüp ile temas ettiğinde hemen pıhtılaşmaya başlar (Dohan Ehrenfest ve ark., 2006a; Del Corso ve Ehrenfest, 2010).
- Büzülme ve PRF'nin yapısal bütünlüğündeki değişim nedeniyle uzun süreli saklama mümkün değildir (Raaj ve ark., 2015).
- L-PRF'nin kısa raf ömrü ve vericiye özgü biyomateryaldeki immünojenik hücrelerin varlığı nedeniyle allojenik greft olarak kullanılması mümkün değildir (Arora ve Agnihotri, 2017).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Ondokuz Mayıs Üniversitesi Hayvan Denepleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan 30/06/2017 tarih ve 68489742-604.01.03-E.64724 sayılı onay ile Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirildi. Yapılan tüm işlemlerde deneklerle ilgili Yerel Etik Kurul Yönergesinde belirtilen şartların sağlanmasına özen gösterildi.

3.1. Materyal

3.1.1. Deney Hayvanları

Bu çalışmada altı haftalık, ağırlıkları ortalama 200-250 gr arasında değişen, sağlıklı 30 adet dişi Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Denekler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Deney süresince denekler standart laboratuvar koşullarında (gece/gündüz = 12/12 saat, sıcaklık 21 ± 2 °C, nem oranı % 50) ve uygun büyüklükteki kafeslerde tutularak standart yem ve su ile beslendi.

3.1.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Sağ siyatik sinirlerinde ezilme tipi hasar oluşturulacak 30 adet denek aşağıda belirtildiği şekilde gruplara ayrıldı;

- 1. Kontrol Grubu (K):** Hiçbir işlem uygulanmayan grup (Sağ siyatik sinirinde hasar oluşturulan her bir gruptaki deneklerin sol siyatik sinirleri kontrol grubu olarak belirlendi)
- 2. Hasar Grubu (H):** Sağ siyatik sinirde ezilme tipi hasar oluşturulan grup (n=10).
- 3. Trombositten Zengin Fibrin Grubu (PRF):** Sağ siyatik sinirde ezilme tipi hasar oluşturulan ve hasar bölgesine PRF uygulanan grup (n=10).
- 4. Büyüme Faktörlerinden Zengin Plazma Grubu (PRGF):** Sağ siyatik sinirde ezilme tipi hasar oluşturulan ve hasar bölgesine PRGF uygulanan grup (n=10).

3.2. Metot

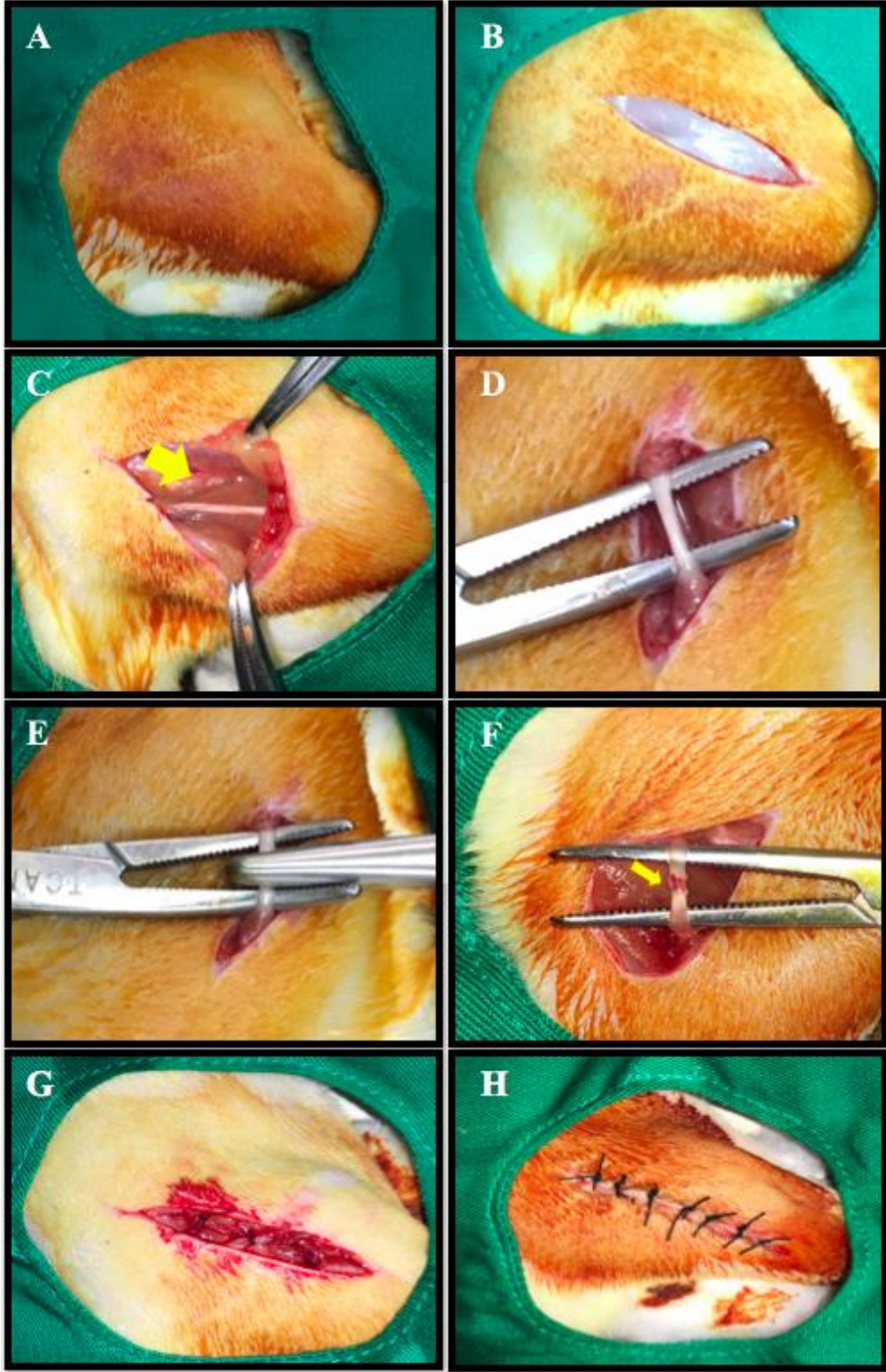
3.2.1. Deney Protokolü

Cerrahi Protokol

Deneklerde genel anestezi sağlamak amacıyla 50 mg/kg ketamin (Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye) intramüsküler ve 8mg/kg xylazin (Rompun; Bayer, İstanbul, Türkiye) intraperitoneal olarak uygulandı. Anesteziyi takiben deneklerin sağ uyluk mediyal bölgeleri tıraş edildi, flaster yardımıyla sağ arka ekstremitte ve kuyruk sabitlenerek povidon-iyodin solüsyonu (Poviodex®, Kimpa, Türkiye) ile bölgenin antisepsisi sağlandı. Ardından cerrahi bölge steril örtüler kullanılarak izole edildi.

Cerrahi bölgeye 0,5 ml 1:200,000 epinefrin içeren artikain solüsyonu (Ultracain-DS; Hoechst Marion Roussel, İstanbul, Türkiye) enjekte edilerek lokal anestezi sağlandı. Takiben uyluğun arkasında, yaklaşık olarak 1,5 cm boyutlarında longitudinal kutanöz bir insizyon yapıldı. Sağ siyatik sinir siyatik foramene yaklaşık 12 mm uzaklıkta açığa çıkarıldı. Daha sonra sinir, künt uçlu bir diseksiyon makası yardımıyla, siyatik çentikten dallanma bölgesine kadar çevre dokulardan serbestleştirildi. Sinir hasarı Helvacıoğlu ve ark. (2016)'nın yöntemi referans alınarak gerçekleştirildi. Sinire ulaşıldıktan sonra sağ siyatik sinire, 50N'luk kuvvet uygulayan standardize bir portegü (Bahadır, Samsun, Türkiye) ile 60 saniye süresince kompresyon uygulanarak hasar oluşturuldu (Şekil 13A, B, C, D, E, F, G, H).

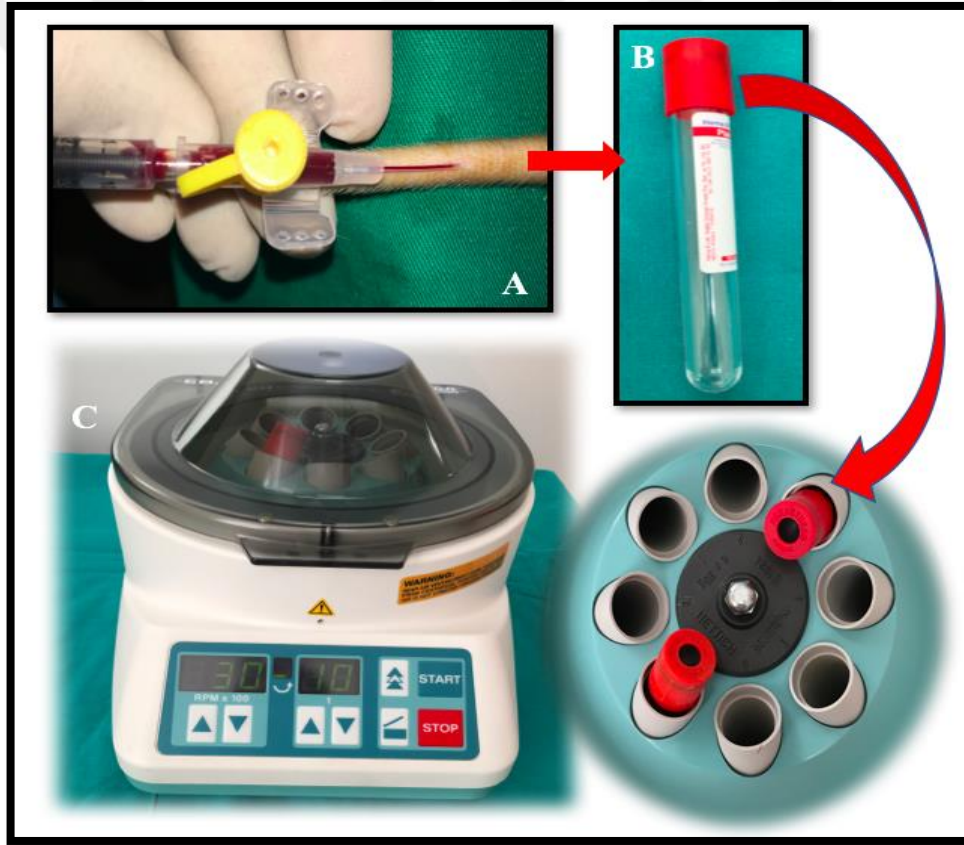
Sinir hasarı sonrasında H grubuna ilave bir uygulama yapılmadı. PRF ve PRGF gruplarında hasarlı sinir bölgesine santrifüjden elde edilen biyomateryaller uygulandı. Sonrasında cilt altı dokular 4/0 emilebilir sütür (Vicryl, Ethicon, Brüksel, Belçika), cilt ise 3/0 ipek sütür ile (İpek, Doğan, Ankara, Türkiye) tabakalar halinde primer olarak kapatıldı.



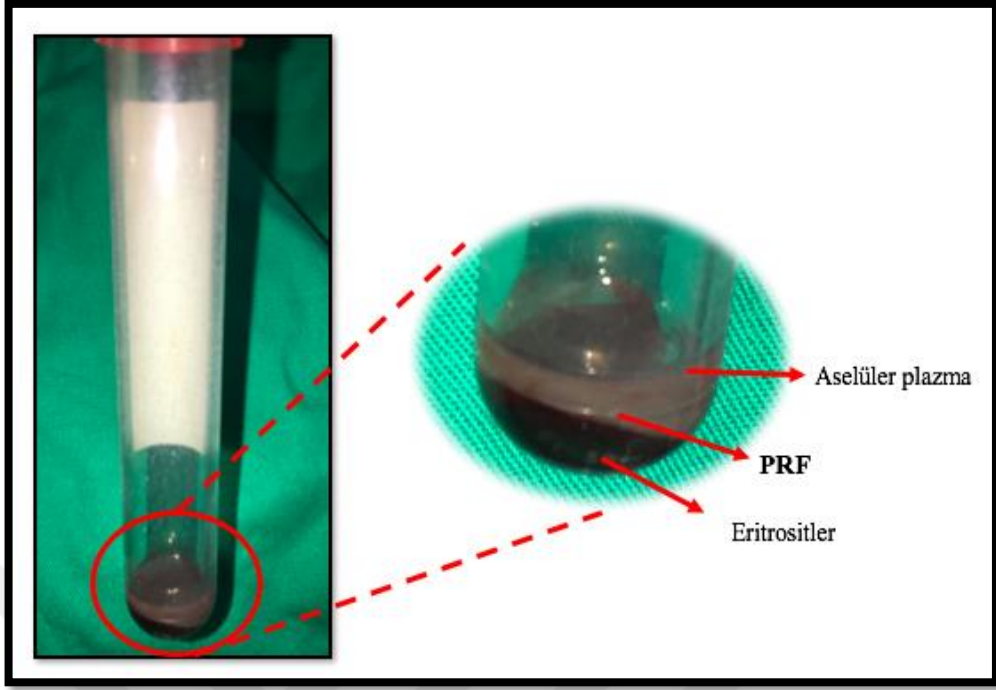
Şekil 13. Operasyon alanının hazırlanması (A), Cilt insizyonu (B), Siyatik sinirin açığa çıkarılması (C), Siyatik sinirin serbestleştirilmesi (D), Hasar oluşturulması (E), Hasarlı siyatik sinir (F), Cilt altı dokuların kapatılması (G), Cildin primer kapatılması (H)

PRF Hazırlama ve Uygulama Protokolü

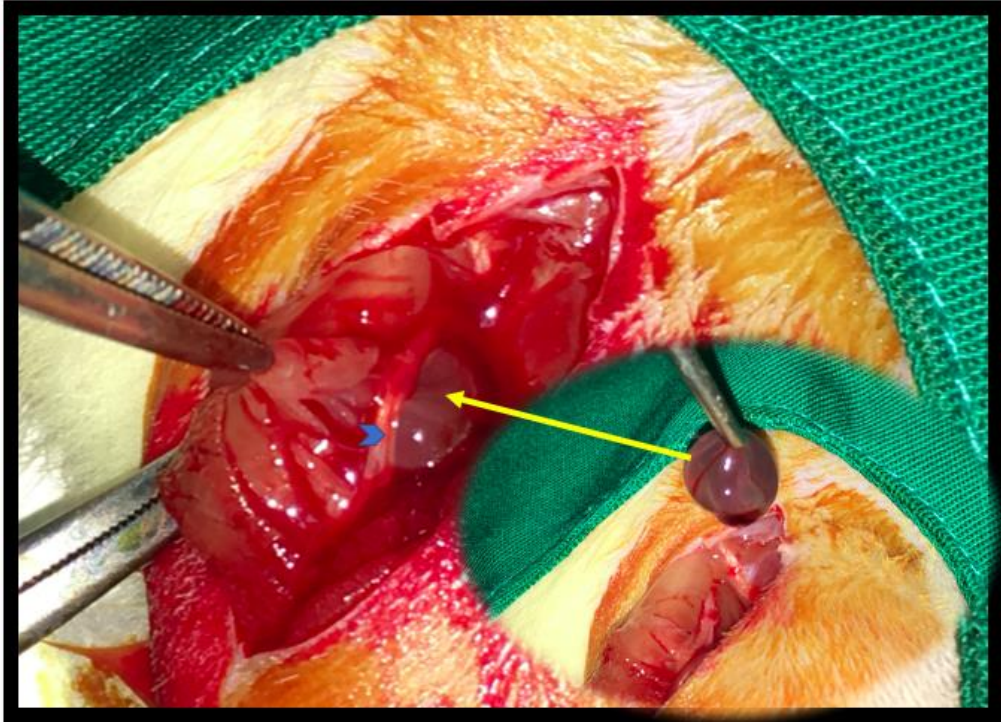
PRF grubundaki deneklerin her birinin kuyruk veninden 2 ml venöz kan antikoagülansız cam kaplı plastik steril bir tüp (Hema&Lab Sağlık Ürünleri İmalat Paz. San. Ve Tic. Ltd. Şti., Ankara, Türkiye) içine alındı. Kan alınmasını takiben Senses ve ark. (2016)'nın yöntemi kullanılarak, tüpler hızlı bir şekilde 3000 rpm'de (400G) 10 dakika santrifüje (EBA 20, Hettich Zentaifugen, Almanya) tabi tutuldu (Şekil 14A, B, C). Santrifüj işleminden sonra kan, en üstte aselüler plazma, altta eritrositler ve ortada PRF'den oluşan 3 farklı fraksiyona ayrıldı (Şekil 15). Ardından orta kısımda bulunan PRF pıhtı steril bir penset kullanılarak tüpten alındı. PRF hasarlı sinir bölgesine uygulandı (Şekil 16).



Şekil 14. PRF'nin santrifüj prosedürü: Kan alınması (A), Kanın aktarılacağı santrifüj tüpü (B), Santrifüj cihazı ve santrifüj parametreleri (C)



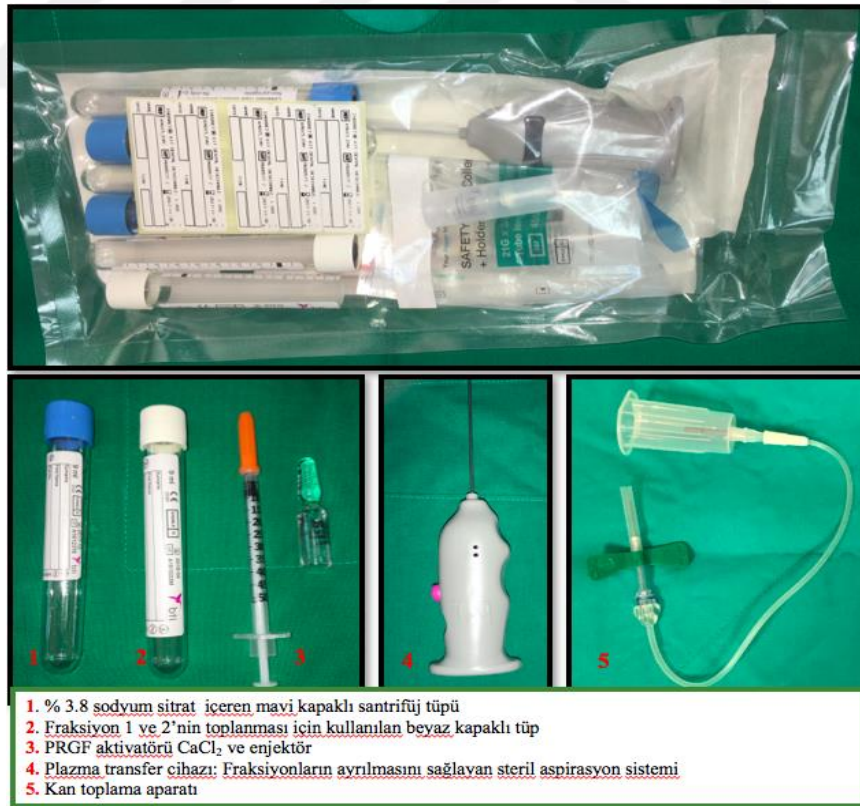
Şekil 15. Santrifüj sonrası oluşan fraksiyonlar



Şekil 16. PRF'nin hasarlı sinir bölgesine uygulanmasını gösteren intraoperatif görüntü

PRGF Hazırlama ve Uygulama Protokolü

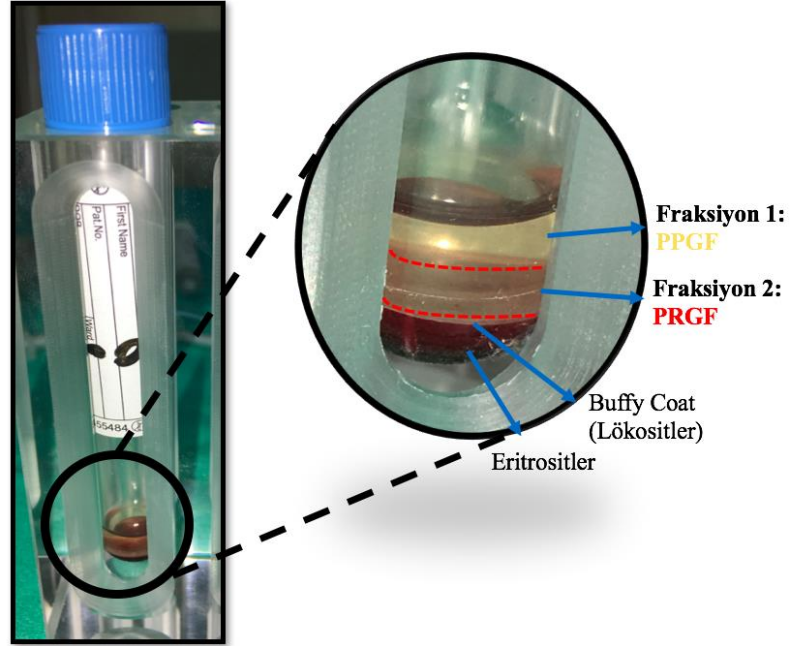
Her bir ratın kuyruk veninden alınan 2 ml venöz kan PRGF kitindeki (PRGF KMU15, BioTeknoloji Enstitüsü (BTI), Victoria, İspanya) sodyum sitrat içeren steril mavi kapaklı tüpe aktarıldı. Kan, Anitua ve ark., 2015b ve Anitua ve ark., 2015c'nin yönteminden referans alınarak PRGF santrifüj cihazı ile (PRGF Sistem IV, BTI-Biyoteknoloji Enstitüsü, Victoria, İspanya), 1902 rpm-(580G)'de 8 dakika santrifüje tabi tutuldu (Şekil 17, 18). Santrifüj işleminden sonra kan 3 fraksiyona ayrıldı; tabanda eritrositler, ortada parlak kılıf (Buffy coat)-lökositler ve en üstte PPGF ve PRGF (Şekil 19). PPGF fraksiyonu plazma transfer cihazı ile pipetlenerek beyaz kapaklı tüpe aktarıldı. Sonrasında, PRGF kısmı lökositlerin bulunduğu kısma (Buffy coat) çok yaklaşmamaya özen gösterilerek yine plazma transfer cihazı yardımıyla diğer beyaz kapaklı tüpe aktarıldı. PRGF fraksiyonunun ayrıldığı tüpe aktivatör olarak $CaCl_2$ eklendi ve Plasmaterm H'de (BTI-Biyoteknoloji Enstitüsü, Victoria, İspanya) fırımlandı (Şekil 20A, B, C). Fırınlamayı takiben oluşan jel formundaki biyomateryal hasarlı sinir bölgesine uygulandı (Şekil 21).



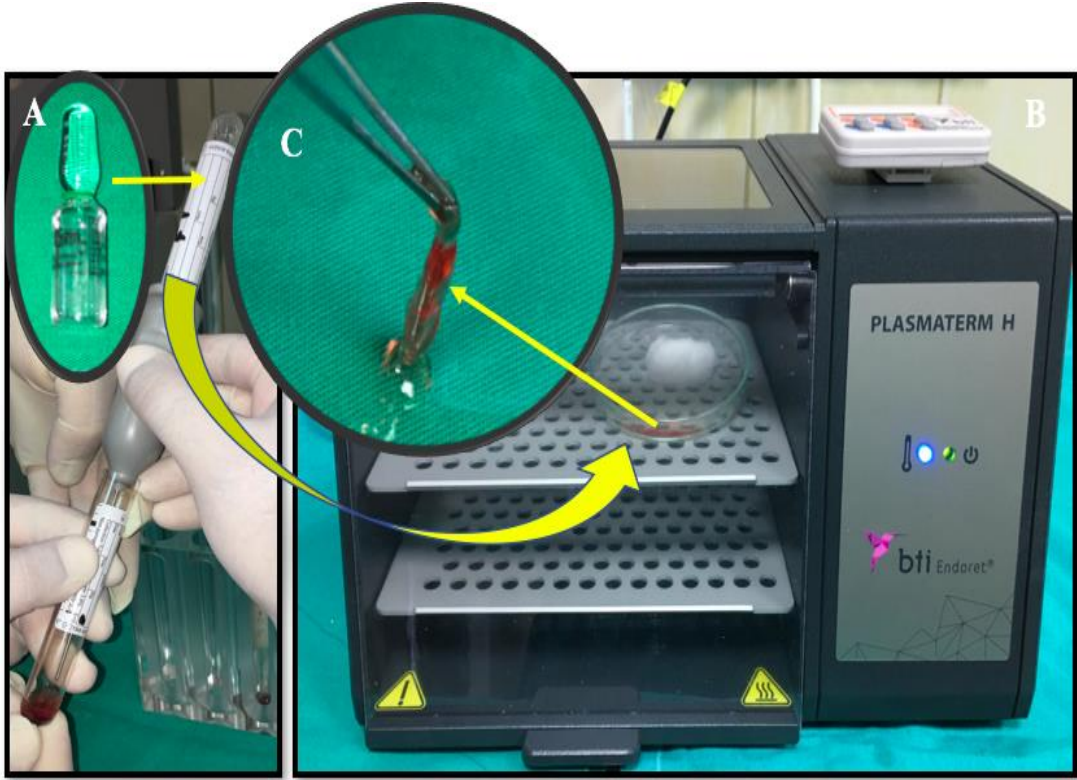
Şekil 17. PRGF KMU15 kitini oluşturan parçalar



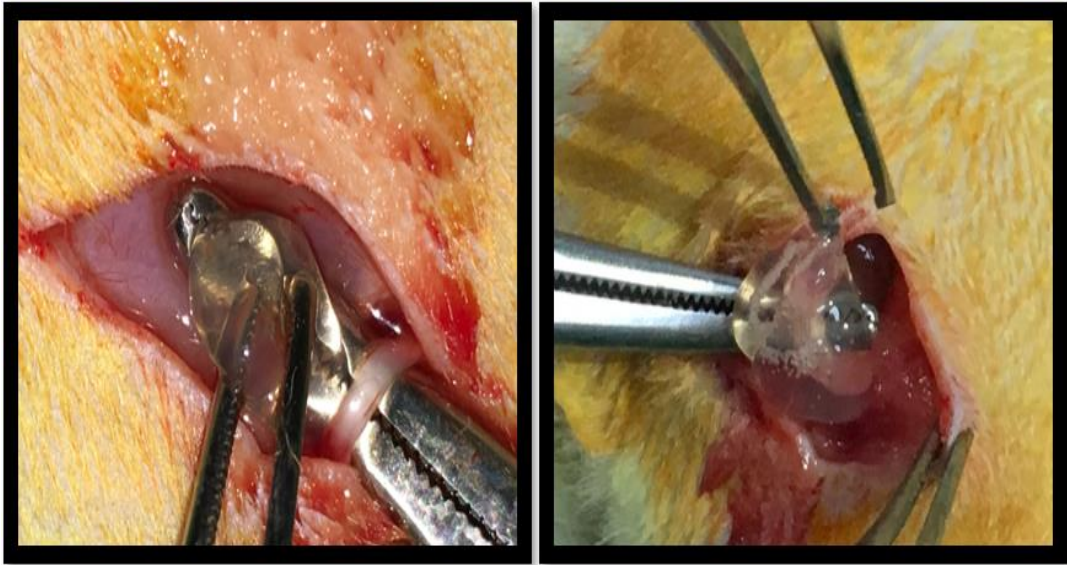
Şekil 18. PRGF santrifüj prosedürü: Kanın mavi kapaklı tüpe aktarılması ve santrifüj cihazına yerleştirilmesi



Şekil 19. Santrifüj sonrası oluşan fraksiyonlar



Şekil 20. Aktivatör eklenen Fraksiyon 2'nin fırınlanması: CaCl₂-Aktivatör (A), Biyomateryalin fırınlandığı Plasmaterm H cihazı (B), Fırınlama sonrası elde edilen PRGF (C)



Şekil 21. PRGF'nin hasarlı sinir bölgesine uygulanmasını gösteren intraoperatif görüntü

3.2.2. Postoperatif Bakım

Cerrahi sonrası ağrı ve enfeksiyon kontrolü amacıyla analjezik (Tramadol, 1mg/kg; Contramal, Abdi İbrahim, İstanbul, Türkiye) ve antibiyotik (Cefazolin Sodium, 500 mg/kg; Sefazol, Nevzat, İstanbul, Türkiye) günde iki defa olmak üzere beş gün boyunca intramüsküler olarak uygulandı. Cilt pansumanı beş gün boyunca Neo-caf sprey (İntervet, Vet. İlaçl. Paz. ve Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) ile yapıldı. Hayvanlar postoperatif 2 aylık dönemde standart laboratuvar şartlarında, uzman veteriner hekim kontrolünde, uygun büyüklükteki kafeslere yerleştirilerek izlendi. Hayvanların yem ve su ihtiyaçları ad libitum olarak karşılandı. Operasyonu takip eden 60. günde deneklere siyatik sinirin fonksiyonel değerlendirmesi amacıyla Siyatik Fonksiyon İndeksi (SFİ) uygulandı. Ardından genel anestezi uygulanarak siyatik sinir açığa çıkarıldı ve elektrofizyolojik ölçümler gerçekleştirildi. Bu işlemi takiben denekler sakrifiye edilerek stereolojik inceleme için sinir dokusu çıkarıldı.

3.2.3. İnceleme Yöntemleri

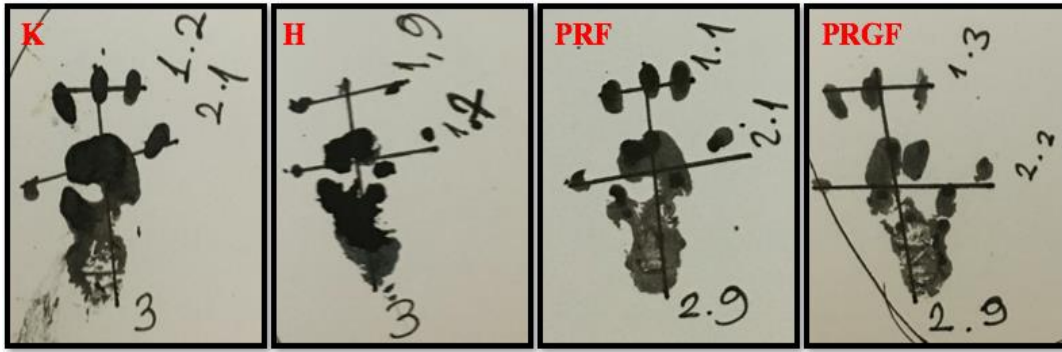
Siyatik Fonksiyon İndeksi

Siyatik sinir rejenerasyonunun fonksiyonel olarak izleminde çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu çalışmada siyatik sinir hasarı ve iyileşme derecesinin fonksiyonel olarak değerlendirilmesinde kullanılan, 1980'lerin başında ortaya çıkan ve non-invaziv bir yöntem olan SFİ kullanıldı. SFİ ölçümleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Bu işlem için 50cm boyunda ve 10cm genişliğine tahta bir kolon kullanıldı. Ayak izlerinin kaydedilmesi için kolonun boyunda kurutma kağıtları kesilerek kolon üzerine yerleştirildi. Tüm deneklerin her iki arka ayakları çini mürekkebi konulmuş mürekkep tablasına bastırılarak yeteri kadar boyandı. Ardından, denekler yürüme koridorunda beyaz kâğıt üzerinde yürütüldü. Her bir denekte belirgin ve üç adım olacak şekilde ayak izleri kaydedildi (Şekil 22). Mürekkebin dağılması, ratların yürüme sırasındaki ürinasyonu sonucu izlerin ıslanması veya ratın kuyruk hareketleri ile izlerin dağılması durumunda işlem tekrarlandı.



Şekil 22. Yürüme koridorunda ayak izlerinin kaydedilmesi

Rat ayak izleri incelenirken sağlam ayakta 3. parmak-topuk arası (NPL), sağlam ayakta 1-5. parmaklar arası (NTS), sağlam ayakta 2-4. parmaklar arası (NITS) ve hasarlı ayakta 3. parmak-topuk arası (EPL), hasarlı ayakta 1-5. parmaklar arası (ETS), hasarlı ayakta 2-4. parmaklar arası (EITS) mesafeler ölçüldü (Şekil 23).



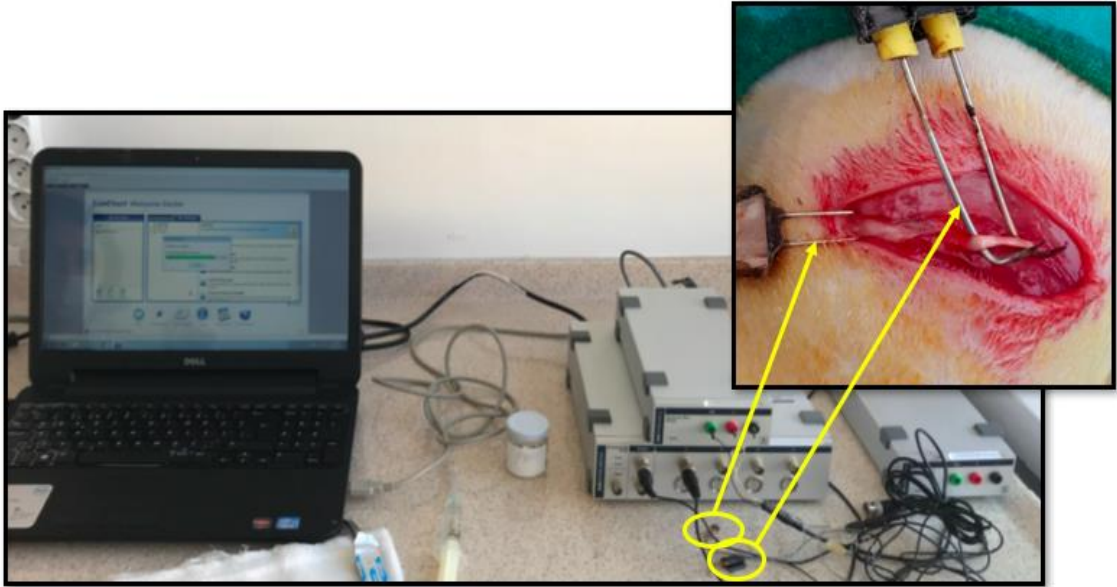
Şekil 23. Deneklere ait ayak izi ölçümleri

Elde edilen veriler bilgisayar programına aktarıldı. SFI verilerinin değerlendirilmesi için aşağıda verilen ve Bain ve ark. (1989) tarafından geliştirilen multiple lineer regresyon formülü kullanıldı. Bu yöntemde 0 civarındaki sonuçlar normal siyatik sinir fonksiyonunu gösterirken -100 civarındaki sonuçlar tam kesiyi ifade etmektedir.

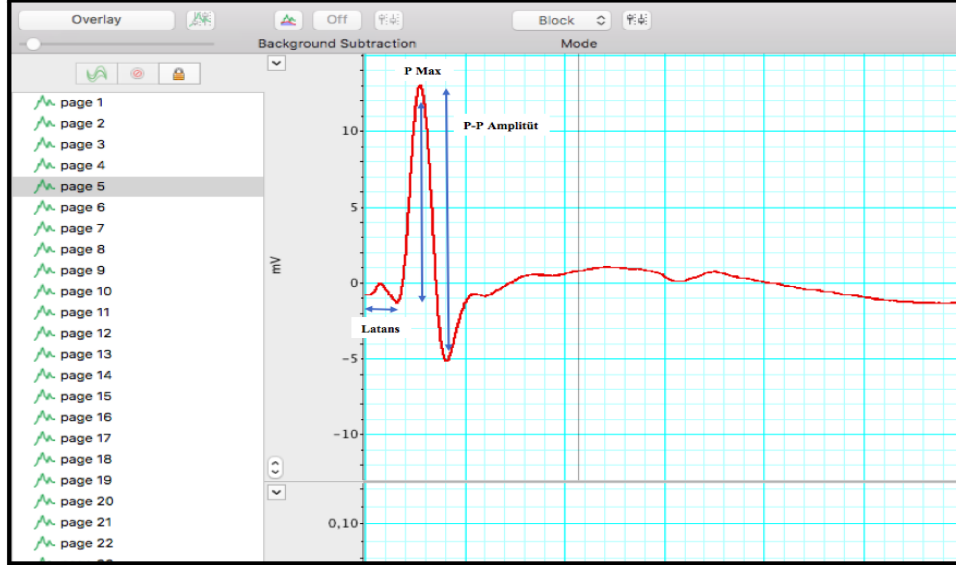
$$SFI = -38.3 \times \frac{EPL-NPL}{NPL} + 109.5 \times \frac{ETS-NTS}{NTS} + 13.3 \times \frac{EIT-NIT}{NIT} - 8.8$$

Elektrofizyolojik İncelemeler

Elektrofizyolojik incelemeler Kaplan ve ark. (2011) ve Onger ve ark. (2017)'nin kullandığı yöntem referans alınarak gerçekleştirildi. Postoperatif 60. günde hayvanlar sakrifiye edilmeden önce tüm gruplarda elektrofizyolojik ölçümler yapıldı. Elektrofizyolojik ölçümler Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. İntramüsküler 50 mg/kg ketamin (Ketalar; Pfizer, İstanbul, Türkiye) ve 8mg/kg xylazin (Rompun; Bayer, İstanbul, Türkiye) ile anestezi induksiyonu sağlandıktan sonra, siyatik sinirler görünür hale getirildi ve çevre dokulardan arındırıldı. Hayvanların vücut ısısı 37°C'de muhafaza edildi. Elektromiyografi (EMG) testleri için PowerLab 4SP (AD Instruments, Sydney, Australia) cihazı ve Scope (ver. 3.7.2, AD Instruments) programı kullanıldı. 0,01 mV ile 10 mV arasında uyarı voltajı uygulanarak birleşik kas aksiyon potansiyelleri ölçüldü (Şekil 24). Aksiyon potansiyeli eğrilerinde uyarıdan defleksiyonun başladığı zamana kadar geçen süre (latans) ile oluşan potansiyelin tepe-tepe amplitüdü (P-P amplitüt) ölçüldü (Şekil 25). Aksiyon potansiyeli eğrisi her denek için üçer kez tekrarlanarak ortalaması alındı ve bu değerler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.



Şekil 24. Elektrofizyolojik ölçümlerin gerçekleştirilmesi

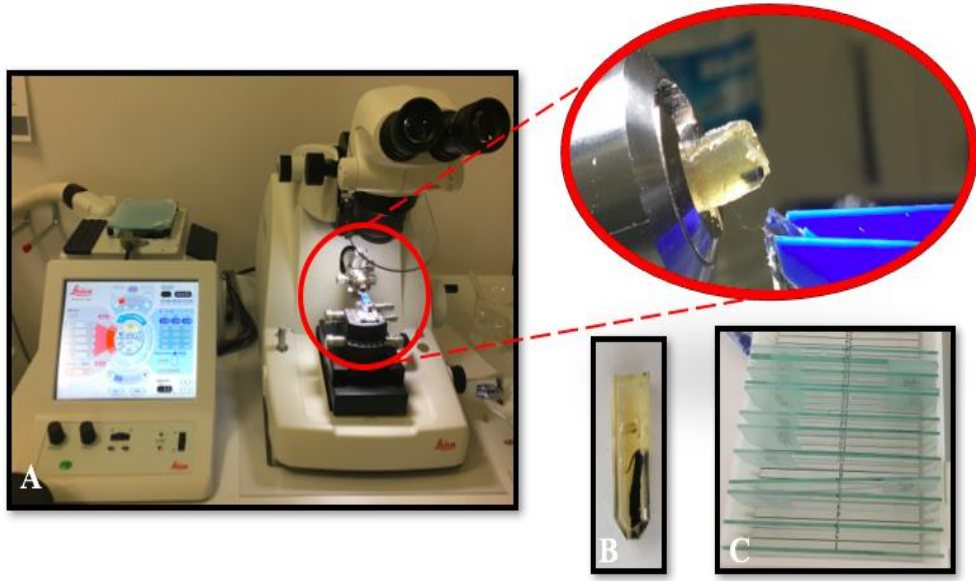


Şekil 25. Bir deneğe ait amplitüt ve latans ölçümleri

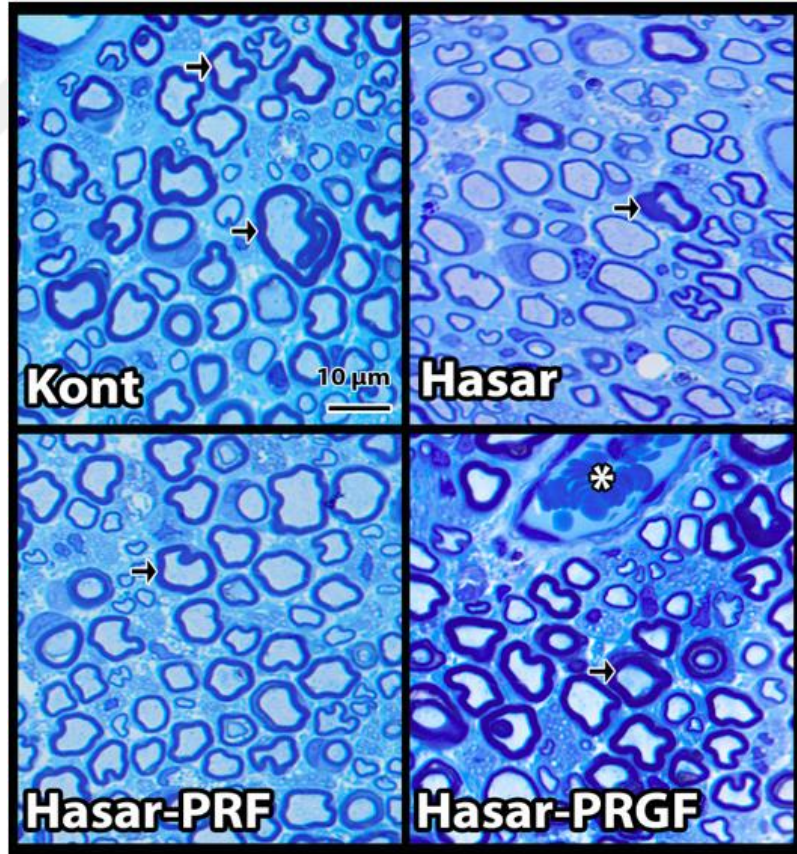
Doku Takibi ve Stereolojik İncelemeler

Stereolojik incelemeler Kaplan ve ark. (2011) ve Onger ve ark. (2017)'nin kullandığı yöntem referans alınarak gerçekleştirildi. Fonksiyonel ve elektrofizyolojik ölçümleri takiben, açıktaki siyatik sinir üzerine % 5'lik gluteraldehit damlatıldı ve ardından sinir dokuları çıkarıldı. Daha sonra; sinir % 5'lik gluteraldehit solüsyonu içerisinde 1 saat bekletildi. Ardından 4x15 dakika milloning tamponuyla yıkandı. Takiben % 1 'lik osmium tetraoksit içerisinde 1,5 saat karanlık ortamda bekletildi. Sonrasında 4x15 dakika milloning tamponuyla tekrar yıkandı ve dehidratasyon işlemine geçildi. Dehidratasyon için; % 50'lik asetonda 15 dakika, % 75'lik asetonda 15 dakika, % 95'lik asetonda 15 dakika, % 100'lük asetonda 20 dakika bekletildi. Devamında; propilen oksitte 20 dakika, % 50 propilen oksit + % 50 araldit karışımında 1 saat, % 100 aralditte 1 saat boyunca infiltrasyon işlemi uygulandı.

Silikon kalıpta bloklanan sinir dokuları 45⁰C'deki etüve yerleştirildi ve her 30 dakikada bir 5⁰C'lik ısı artışı sağlanarak 62⁰C'ye ulaşıldı. 62⁰C'de 48 saat bekletildikten sonra polimerizasyonu tamamlanan plastik bloklardan elmas bıçakla ultramikrotom (Leica Ultracut UCT, Leica Microsystems GmbH, Almanya) yardımı ile 500 nm-1µm kalınlığında kesitler alındı (Şekil 26A, B, C). Kesitler % 1'lik toluidin mavisi ile lam üzerinde boyandı. Ardından yarı ince kesitlerde ışık mikroskobunda miyelinli akson sayısı, miyelinli akson çapı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri stereolojik metotlar kullanılarak gerçekleştirildi (Şekil 27).



Şekil 26. Ultramikrotom ile kesit alınması (A), Silikon bloktaki sinir dokusu (B), 500 nm-1µm'lik kesitler bulunan lamalar (C)



Şekil 27. Periferik sinirin ışık mikroskopik görüntüsü (Toluidin Blue Boyası, orjinal büyütme x100). oklar miyelin kılıfı göstermekte olup, damar (*) ile gösterilmiştir.

Kesitlerin mikroskopik analizleri Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında bulunan bilgisayar destekli stereoloji çalışma istasyonunda (Stereoinvestigator 9.0. MicroBrieldField; Colchester; USA) gerçekleştirildi. Parçalama metodu ile miyelinli akson sayımı yapıldı. Akson çapı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümleri ise nükleatör metodu kullanılarak gerçekleştirildi. Toluidin mavisi ile boyanmış yarı ince kesitler mikroskoba yerleştirildikten sonra stereoinvestigator yazılımı kullanılarak 4'lük büyütmede sinir fasikülünün etrafı çevrelendi. Daha sonra 63'lük büyütmede, pilot çalışmaya göre belirlenmiş parametrelere göre alan örnekleme yapıldı. Her bir örnekleme alanında tarafsız sayım çerçevesiyle miyelinli aksonlar sayıldı. Bunun için 60 µm x 60 µm adım aralığı ve 25 µm x 25 µm tarafsız sayım çerçevesi ölçüleri kullanıldı. Bu şekilde her 3600 µm²'lik alandan 625 µm²'lik bir alan örnekleme yapıldı. Parametrelerin kabul edilebilir hata katsayısı sınırlarında olduğu gözlemlendi. Ayrıca sayım yapılan her adımda tarafsız sayım çerçevesinin sağ üst köşesine değen en büyük çaplı aksonda nükleatör metoduyla akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı ölçümü yapıldı. Değerler aşağıdaki formülde yerine konularak bir sinirdeki toplam miyelinli akson sayısı hesaplandı.

$$\text{Toplam miyelinli akson sayısı} = \frac{3600}{625} \times \text{Sayı Örneklenen Alan} \times \text{Alan Fasikül} \times \sum \text{Tanecik Sayılan}$$

3.2.4. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin istatistiksel analizleri SPSS 21.0 for Mac (IBM Corporation) programı kullanılarak yapıldı. Grupların karşılaştırılmasında One Way ANOVA (Tukey Post-Hoc Test) testi kullanıldı ve 0,05 anlamlılık derecesi (p) baz alındı.

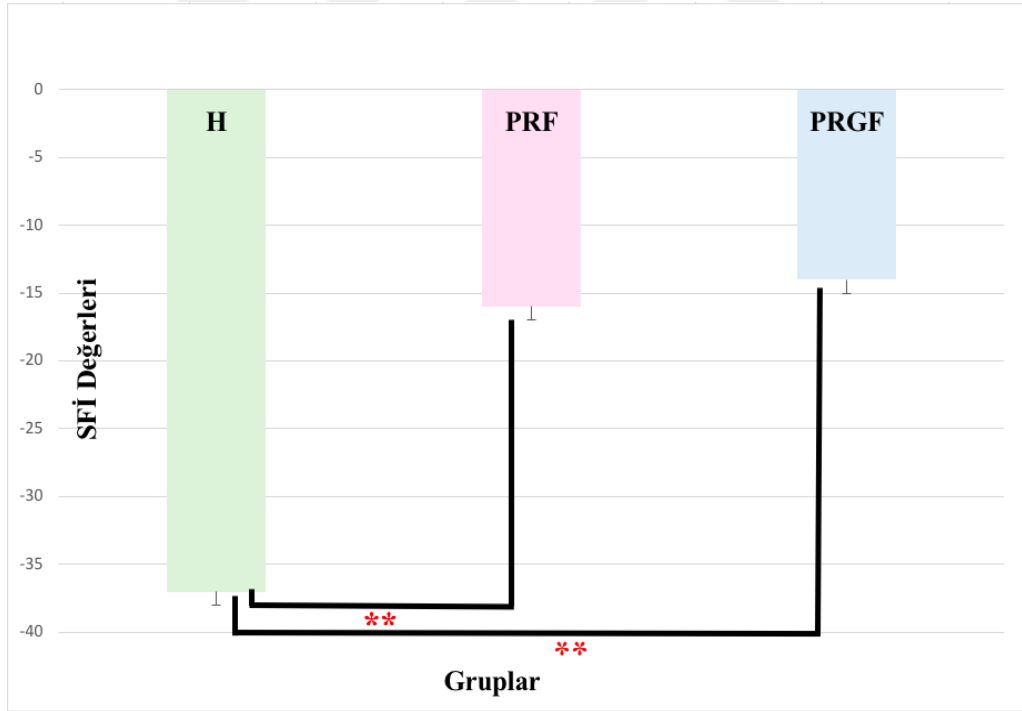
4. BULGULAR

4.1. SFİ Bulguları

Grupların ortalama SFİ değerleri tablo 1’de grlmektedir. SFİ değerleri bakımından istatistiksel olarak; H grubu ile PRF ve PRGF grupları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlendi ($p=0,00$). PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 28).

Tablo 1. Gruplara ait SFİ değerleri (Ortalama±SS)

Gruplar	SFİ Değerleri
H	-37,0±10,3
PRF	-16,3±4,4
PRGF	-14,8±4,9



Şekil 28. SFİ değerlerinin gruplara göre dağılımı

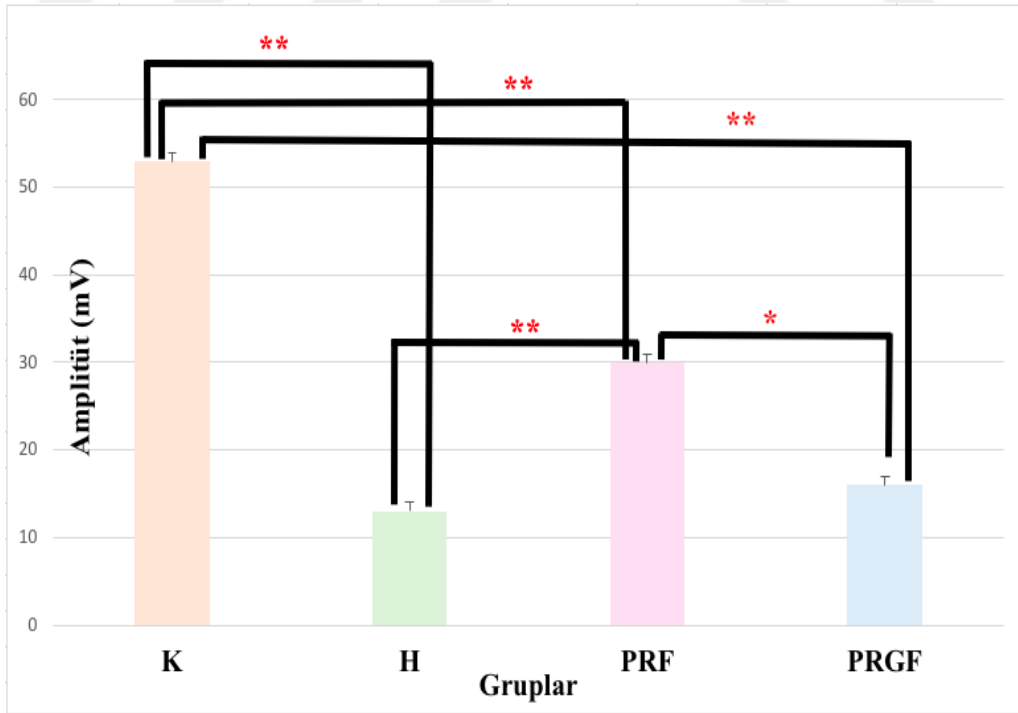
4.2. Elektrofizyolojik Bulgular

4.2.1. Amplitüt

Grupların ortalama amplitüt değerleri tablo 2’de görölmektedir. Gruplar amplitüt değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak; K grubu ve deneysel gruplar (H, PRF, PRGF) arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p=0,000$). H ve PRF grupları arasında ileri derecede anlamlı fark gözlemlendi ($p=0,000$). H ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). PRF ile PRGF grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p=0,030$) (Şekil 29).

Tablo 2. Gruplara ait amplitüt değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	Amplitüt (mV)
K	58,20 \pm 10,28
H	13,33 \pm 2,58
PRF	30,16 \pm 5,34
PRGF	16,33 \pm 2,65



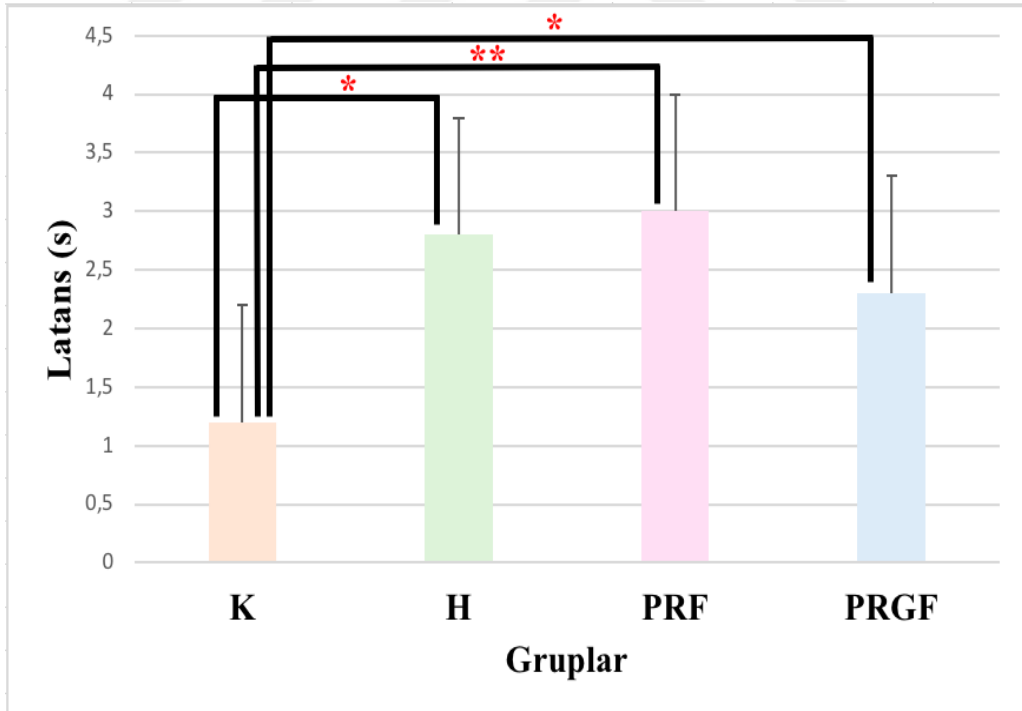
Şekil 29. Amplitüt değerlerinin gruplara göre dağılımı

4.2.2. Latans

Grupların ortalama latans değerleri tablo 3'te grlmektedir. Gruplar latans değerlerine göre karşılaştırıldığında istatistiksel olarak; K grubu ile H ve PRGF grupları arasında anlamlı, K grubu ile PRF grubu arasında ileri derecede anlamlı fark gözlendi ($p=0,001$), ($p=0,016$), ($p=0,000$). H grubu ile PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). PRF ile PRGF grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$) (şekil 30).

Tablo 3. Gruplara ait latans değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	Latans (s)
K	1,27 \pm 0,04
H	2,80 \pm 0,77
PRF	3,08 \pm 0,58
PRGF	2,32 \pm 0,29



şekil 30. Latans değerlerinin gruplara göre dağılımı

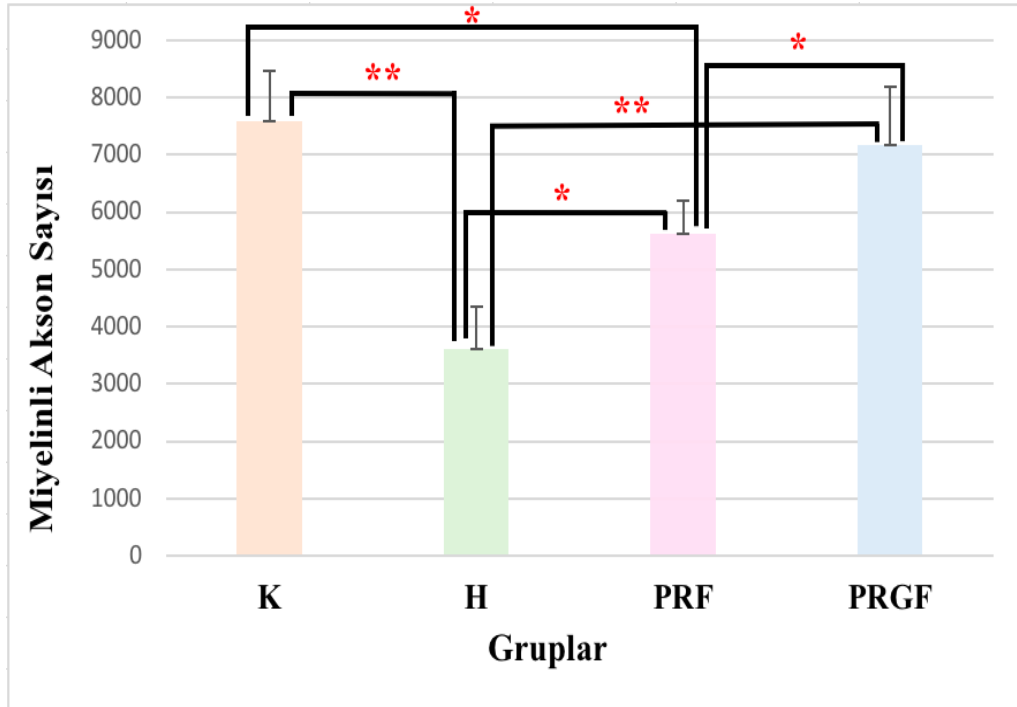
4.3. Stereolojik Bulgular

4.3.1. Miyelinli Akson Sayısı

Grupların ortalama miyelinli akson sayısı değerleri tablo 4'te grlmektedir. Gruplar miyelinli akson sayısı bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak; K grubu ile H grubu arasında ileri derecede anlamlı, K grubu ile PRF grubu arasında anlamlı fark bulundu ($p<0.001$), ($p=0,008$). K ve PRGF grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). H grubu ile PRF grubu arasında anlamlı ve H grubu ile PRGF grubu arasında ileri derecede anlamlı fark gözlendi ($p=0.007$), ($p<0,001$). PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulundu ($p=0,040$) (şekil 31).

Tablo 4. Gruplara ait miyelinli akson sayıları (Ortalama \pm SS)

Gruplar	Miyelinli Akson Sayısı
K	7585,15 \pm 892,98
H	3613,87 \pm 729,24
PRF	5629,42 \pm 580,66
PRGF	7174,71 \pm 1013,87



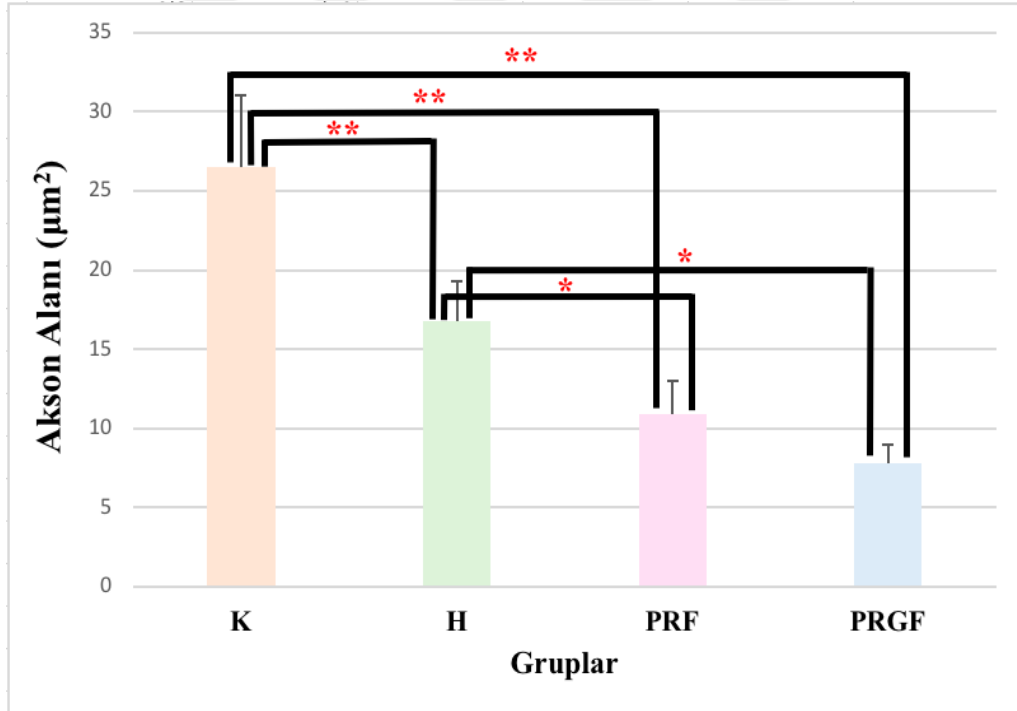
şekil 31. Miyelinli akson sayılarının gruplara göre dağılımı

4.3.2. Akson Alanı

Grupların ortalama akson alanı değerleri tablo 5'te grlmektedir. Gruplar akson alanı bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak; K grubu ile deneysel gruplar (H, PRF, PRGF) arasında ileri derecede anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$). H grubu ile PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark saptandı ($p = 0,021$), ($p = 0,001$). PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p > 0,05$) (şekil 32).

Tablo 5. Gruplara ait akson alanı değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	Akson Alanı (μm^2)
K	26,53 \pm 4,46
H	16,80 \pm 2,46
PRF	10,90 \pm 2,12
PRGF	7,76 \pm 1,21



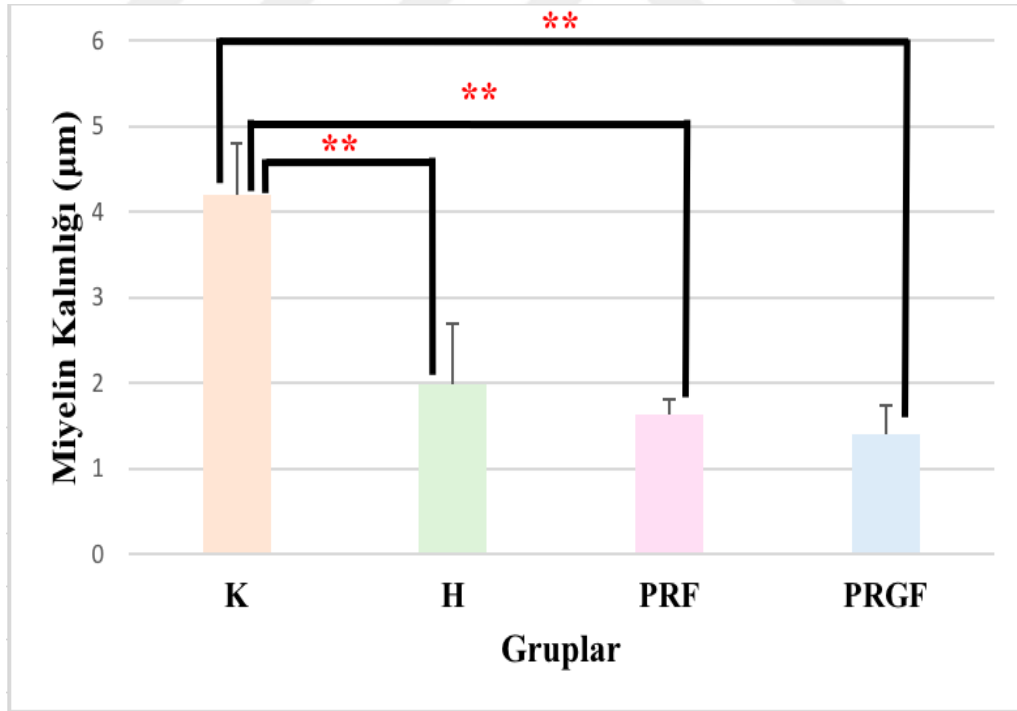
şekil 32. Akson alanı değerlerin gruplara göre dağılımı

4.3.3. Miyelin Kalınlığı

Grupların ortalama miyelin kalınlığı değerleri tablo 6'da grlmektedir. Gruplar miyelin kalınlığı bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak; K grubu ile deneysel gruplar (H, PRF, PRGF) arasında ileri derecede anlamlı fark gözlendi ($p<0.001$). H grubu ile PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). PRF grubu ve PRGF grubu arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$) (şekil 33).

Tablo 6. Gruplara ait miyelin kalınlığı değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	Miyelin Kalınlığı (μm)
K	4,2 \pm 0,6
H	1,9 \pm 0,7
PRF	1,6 \pm 0,1
PRGF	1,4 \pm 0,3



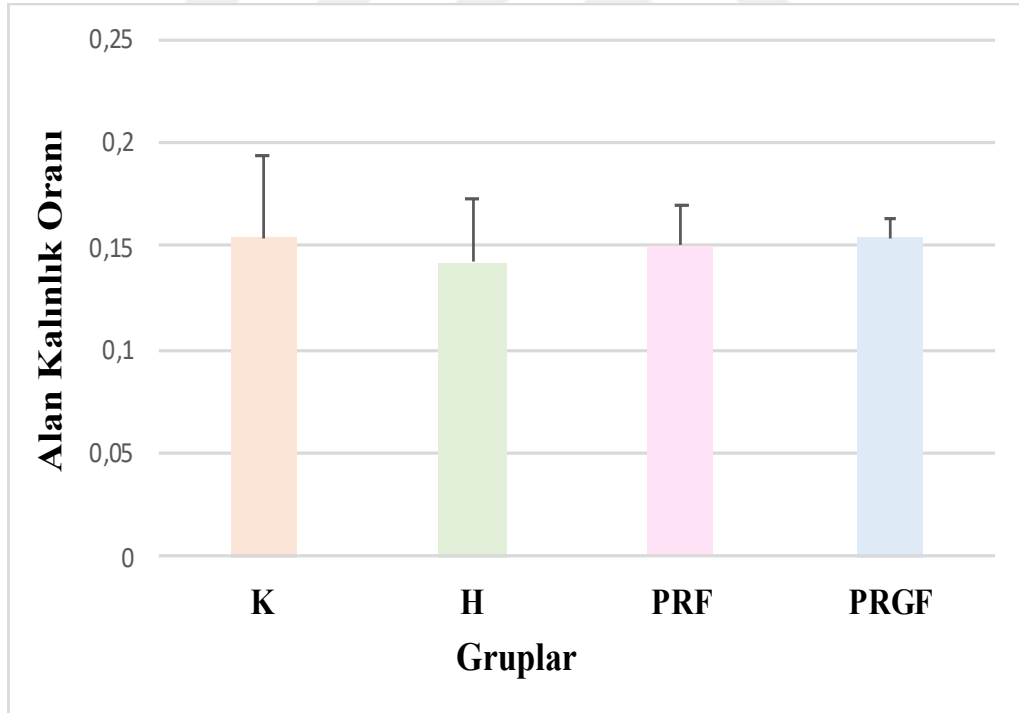
şekil 33. Miyelin kalınlığı değerlerin gruplara göre dağılımı

4.3.4. Alan Kalınlık Oranı

Grupların ortalama alan kalınlık oranları tablo 7’de görülmektedir. Gruplar alan kalınlık oranı bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak; K grubu ile deneysel gruplar (H, PRF, PRGF) arasında anlamlı fark bulunmadı ($p>0,05$). H grubu ile PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$). PRF ve PRGF grupları arasında anlamlı fark yoktu ($p>0,05$) (Şekil 34).

Tablo 7. Gruplara ait alan kalınlık oranı değerleri (Ortalama \pm SS)

Gruplar	Alan Kalınlık Oranı
K	0,15 \pm 0,04
H	0,14 \pm 0,03
PRF	0,15 \pm 0,02
PRGF	0,15 \pm 0,01



Şekil 34. Alan kalınlık oranı değerlerin gruplara göre dağılımı

5. TARTIŞMA

Oral ve maksillofasiyal bölgede periferik sinir hasarları travma, patolojik durumlar, kimyasal irritasyon veya iyatrojenik nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. Bu faktörler periferik sinirlerde farklı derecelerde yapısal bozulma ve hücre kaybı ile sonuçlanan hasarlara yol açabilmektedir (Elgazzar ve ark., 2008; Menorca ve ark., 2013; Senses ve ark., 2016; Liu ve ark., 2017). Akson hasarını takiben lezyonun distalindeki sinir liflerinin dejenerasyonu veya canlılığını kaybetmesi, lezyonlu sinirlerin innerve ettiği bölgelerde denervasyon ile ilişkili motor, duyu ve otonom işlevlerin kısmen veya tamamen kaybına neden olmaktadır. Hasarlı sinirlerin fonksiyonel iyileşmesi çoğunlukla tam olarak gerçekleşemezken, zayıflamış duysal ve motor fonksiyonların yanı sıra nöropatik ağrı gibi ikincil problemler de ortaya çıkabilmektedir. Bu durum bireylerin yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (Navarro ve ark., 2007). Sosyo-ekonomik açıdan ciddi bir problem oluşturan ve nispeten yüksek bir prevalansa sahip olan bu hasarların tedavisi fonksiyonel, psikososyal ve estetik kayıpların giderilmesi açısından oldukça önemlidir (Noble ve ark., 1998; Rodriguez ve ark., 2004; Lichtenfels ve ark., 2013; Senses ve ark., 2016).

Periferik sinir sistemi rejenerasyon için içsel bir potansiyele sahiptir. Ancak, diğer sistemlerle karşılaştırıldığında hasarlı sinir dokusunun iyileşmesi her zaman tam bir rehabilitasyonla sonuçlanmayan vücuttaki en yavaş ve en karmaşık rejeneratif süreçlerden birini göstermektedir (Smith ve Robinson, 1995; Yu ve ark., 2011; Li ve ark., 2013). Sinir hasarlarının tamiri ve rejeneratif sürecin geliştirilmesi amacıyla literatürde birçok farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlar arasında mikrocerrahi, greftler, doku yapıştırıcıları, farmakolojik ajanlar, hiperbarik oksijen tedavisi, immünsüpresifler, steroidler, kök hücreler ve lazer sayılabilir (Moy ve ark., 1988; Atabay ve ark., 1995; Lolley ve ark., 1995; Smith ve Robinson, 1995; Gorgulu ve ark., 1998; Haapaniemi ve ark., 1998; Voinesco ve ark., 1998; Wang ve ark., 1998; Galloway ve ark., 2000; Lee ve ark., 2000b; Menovsky ve Beek, 2001; Bajrovic ve ark., 2002; Ozgenel ve Filiz, 2004; Kurtoglu ve ark., 2005; Subbanna ve ark., 2007; Serarslan ve ark., 2009; Demir ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2014; Feng ve Yuan, 2015; Yang ve ark., 2015; Yuce ve ark., 2015).

Kullanılan birçok yöntemin klinik olarak akson rejenerasyonunu ve periferik sinir hasarından sonra nörolojik iyileşmeyi desteklemedeki başarıları sınırlı kalmıştır

(Kuffler, 2014). Daha hızlı ve fonksiyonel bir rejeneratif süreç sağlayabilmek için yapılan çalışmalar moleküler yolların ve bunların fizyolojik rolünün anlaşılmasına neden olmuş ve büyüme faktörlerinin sinir sisteminin rejenerasyonunda önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir (Welch ve ark., 1997; Frostick ve ark., 1998; Grothe ve Nikkhah, 2001; Emel ve ark., 2011). Travmatize aksonun mikro ortamının ve rejenerasyon sürecinin, hücresele seviyede çeşitli biyomateryaller ile manipülasyonunun daha hızlı ve fonksiyonel bir rejeneratif süreç sağlayabileceği düşünülmektedir. (Welch ve ark., 1997; Frostick ve ark., 1998; Lundborg, 2000; Farrag ve ark., 2007; Emel ve ark., 2011; Yu ve ark., 2011).

Trombosit konsantreleri, biyolojik olarak rezorbe olabilen fibrin matriksi içinde bulunan büyüme faktörlerinin yaralı dokuya kademeli olarak salınımını sağlayan biyomateryallerdir. Trombosit konsantreleri günümüzde doku rejenerasyonu amacıyla maksillofasiyal, plastik, ortopedik ve kardiyovasküler cerrahi gibi birçok medikal alanda kullanılmaktadır (Eppley ve ark., 2004; Cho ve ark., 2010; Anitua ve ark., 2015b; Hersant ve ark., 2017). Bu biyomateryallerin içeriğinde bulunan trombositlerin sahip olduğu büyüme faktörlerinin aksonal rejenerasyonu hızlandırdığı birçok yazar tarafından bildirilmiştir (Eccleston ve ark., 1993; Sakiyama-Elbert ve Hubbell, 2000; Allamargot ve ark., 2001; Oya ve ark., 2002; Lee ve ark., 2003; Marx, 2004; Wood ve ark., 2009; Emel ve ark., 2011).

Trombosit konsantrelerinin sinir hasarlarının tamiri ve rejeneratif süreçler üzerindeki etkisini araştıran çalışmalar son zamanlarda giderek artmıştır. Farrag ve ark. (2007) rat fasiyal sinir aksotomi modelinde PRP, PPP ve fibrin yapıştırıcının etkilerini araştırmışlardır. Hasar sonrasındaki sekizinci haftada yapılan elektrofizyolojik ve histomorfometrik değerlendirmelere göre, PRP'nin fibrin yapıştırıcı ve PPP'ye göre sinir rejenerasyonunu anlamlı derecede arttırdığı Farrag ve ark. (2007) tarafından bildirilmiştir.

Siyanoakrilat reanastomozu uygulanan rat siyatik siniri nörotomi modelinde gerçekleştirdikleri deneysel çalışmalarında PRP'nin sinir rejenerasyonuna etkisini araştıran Elgazzar ve ark. (2008), histomorfometrik değerlendirmeler sonucunda PRP'nin rejenere olan periferik sinir liflerinin canlılığının ve fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemli bir rol oynadığını ileri sürmüşlerdir.

Başka bir çalışmada rat siyatik sinir transeksiyon hasarından sonra sinir rejenerasyonunda PRP'nin etkisi Sariguney ve ark. (2008) tarafından araştırılmıştır. Çalışma sonunda yapılan SFİ, elektrofizyoloji, kas ölçümleri ve histomorfometrik değerlendirmeler, tek doz PRP'nin topikal olarak uygulanmasının periferik sinir rejenerasyonunu belirgin olarak arttırmadığını; ancak rejenerasyonun aksonların remiyelizasyonunu desteklediğini göstermiştir. Yazarlar aktivasyon sırasında trombositlerden salınan büyüme faktörlerinin iyileşme sürecinin kalitesini etkilediğini ve bu etkinin PRP'nin dozuna veya uygulama sıklığına bağlı olarak değişebileceğini öne sürmüşlerdir.

Ezilme tipi hasar modelinde PRP'nin etkisini araştıran Ding ve ark. (2009) PRP'nin hasarlı sinirin rejenerasyonu ve fonksiyonel iyileşmesi üzerinde nöromodülatör etkiye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

PRP ve mezenkimal kök hücrelerin sinir rejenerasyonuna etkisini domuz fasiyal siniri aksotomi modelinde karşılaştıran Cho ve ark. (2010), PRP ve mezenkimal kök hücrelerin sinir rejenerasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Bunun yanında mezenkimal kök hücrelerin kullanımının sinir rejenerasyonunda PRP kullanımı üzerinde herhangi bir fayda sağlamadığını; ancak PRP ve mezenkimal kök hücrelerin birlikte kullanımlarının, tek başlarına kullanılmalarından çok daha etkili olduğunu bildirmişlerdir.

Lokal olarak uygulanan IGF-I ve PRP'nin ezilme tipi hasar oluşturulan rat siyatik sinirinin rejenerasyonu üzerindeki etkilerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada Emel ve ark. (2011) hem IGF-I hem de PRP'nin sinir rejenerasyonu arttırdığını bildirmişlerdir.

Kaplan ve ark. (2011) ratlarda 1 cm siyatik sinir defekti oluşturdukları deneysel çalışmalarında trombosit jel uygulaması sonrası melatonin uygulamasının periferik sinir rejenerasyonuna etkisini araştırmışlardır. Operasyondan doksan gün sonra sinir rejenerasyonu elektrofizyolojik ve stereolojik analizler vasıtasıyla değerlendirilmiş ve trombosit jelinin sinir rejenerasyonu üzerinde pozitif bir etkisinin olduğu; ancak trombosit jeli ile birlikte uygulanan melatonin sinir onarımına ek bir katkı sağlamadığı Kaplan ve ark. (2011) tarafından rapor edilmiştir.

Wu ve ark. (2012) ratlarda kavernöz sinirde oluşturulan ezilme tipi hasardan sonra uygulanan PRP enjeksiyonunun etkisini araştırmış ve PRP enjeksiyonunun miyelinli akson sayısını arttırarak rejenerasyonu geliştirdiğini bildirmişlerdir.

Farklı hazırlama protokolleri ile elde edilen PRP'lerin rat kavernöz sinir ezilme tipi hasarındaki etkisini karşılaştırmalı olarak araştıran Wu ve ark. (2013) yüksek düzeyde büyüme faktörleri ile optimize edilmiş PRP'nin daha kararlı olduğunu ve korpus kavernozum içine enjeksiyonun fonksiyonel iyileşmeyi arttırdığını bildirmişlerdir.

Li ve ark. (2013) gerçekleştirdikleri bir in vitro çalışmada PRP'nin yağ dokusu kökenli kök hücrelerin nörojenik farklılaşmasını arttırdığını ve hücre çoğalmasını güçlü bir şekilde uyardığını bildirilmişlerdir.

1 cm defekt oluşturulan siyatik hasar modelinde venöz greft ile uygulanan PRP'nin etkisini araştıran başka bir çalışmada, morfometrik incelemeler ve SFİ değerlendirmelerinden elde edilen verilere göre PRP'nin akson yenilenmesinin erken döneminde neoanjiyogenezi uyardığı, PRP ile dolu venöz otogreftlerin aksonal rejenerasyonu desteklediği Kim ve ark. (2014) tarafından bildirilmiştir.

Benzer bir defekt modelinde Sabongi ve ark. (2014) sinir grefti ve PRP'nin etkilerini karşılaştırmış ve doksan gün sonunda yapılan SFİ ve morfometrik değerlendirmeler sonucunda venöz taşıyıcı ile uygulanan PRP'nin, otojen bir sinir greftine kıyasla daha iyi fonksiyonel sonuçlar gösterdiğini rapor etmişlerdir.

Giannessi ve ark. (2014) sütüre edilebilir membran formundaki PRP'nin 1 cm defekt ile oluşturulan nörotmezis tipi hasar sonrasında periferik sinir rejenerasyonu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Sonuçlar PRP membran uygulamasının rat siyatik sinirinin rejenerasyon sürecini iyileştirdiğini göstermiştir. Bu sonuçtan yola çıkarak yazarlar PRP'nin membran olarak sütüre edilmesinin, sadece bir biyoaktif molekül kaynağı olarak değil, aynı zamanda aksonal rejenerasyonu arttırmak için bir kılavuz olarak da görev yapabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Silikon konduitin yalnız başına ve PRP ile birlikte uygulanmasının rat siyatik sinir transeksiyon hasarında etkilerini araştıran Abbasipour-Dalivand ve ark. (2015) PRP ile birlikte uygulanan silikon konduitin sinir rejenerasyonunda daha başarılı sonuçlar gösterdiğini ortaya koymuşlardır.

Çalışmalarında cerrahi onarım sonrası sinir rejenerasyonunu iyileştirmek için PRP ile desteklenen aselüler sinir allogreftlerinin etkisini araştıran Zheng ve ark. (2014) PRP ile desteklenen greftlemenin periferik sinir hasarlarında rejeneratif potansiyeli arttırdığını bildirmişlerdir.

Jelatin süngere emdirilmiş PRP'nin hasar bölgesine uygulandığı rat siyatik sinir kesisinde PRP'nin etkisini araştırdıkları deneysel çalışmalarında Kucuk ve ark. (2014) fonksiyonel, elektromiyografik ve histomorfometrik bulguların PRP grubunda anlamlı derecede farklı olduğunu bildirmişlerdir.

Park ve Kwon (2014) tavşan median sinirinde PRP'nin etkisini araştırdıkları çalışmalarında enjeksiyondan on iki hafta sonra elektrofizyolojik ve histolojik bulguları değerlendirmiş ve PRP enjeksiyonunun, median sinir hasarının kontrolünde etkili olabileceğini bildirmişlerdir.

Teymur ve ark. (2017) rat siyatik sinirinde 1 cm standardize defektin rejenerasyonunda otogreft ile rekonstrüksiyon ve PRP uygulamasının etkisini araştırdıkları çalışmalarında, onuncu hafta sonunda yaptıkları elektromiyografik ve histomorfolojik değerlendirmelerde PRP'nin olumlu etkilerini göstermişlerdir.

Roque ve ark. (2017)'nin gerçekleştirdiği bir histomorfometrik çalışmada 1 cm defekt oluşturulan rat siyatik sinir rejenerasyonuna venöz greftin yalnız başına veya PRP ile birlikte uygulanmasının etkisi araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara dayanarak, Roque ve ark. (2017) PRP ile doldurulan greftin aksonal rejenerasyonu arttırdığı sonucuna varmışlardır.

Diğer yadan Piskin ve ark. (2009) elektrofizyoloji, stereoloji ve elektron mikroskobu ile trombosit jelinin siyatik sinir rejenerasyonu üzerine etkilerini araştırdıkları in vivo çalışmalarında kollajen tüpler ile sinir defektinin mikrocerrahi rekonstrüksiyonu sonrasında trombosit jelinin akson rejenerasyonuna katkıda bulunmadığını bildirmişlerdir.

Trombosit konsantrlerinin elde edilmiş şekilleri ve oluşan nihai üründeki çeşitlilik çalışmaların trombosit konsantrlerinin etkinliği açısından karşılaştırılmasını zorlaştırmaktadır. Trombosit konsantrlerinde nihai üründeki farklı hücresel konsantrasyonlar sunan hazırlama sistemleri oldukça fazladır. Trombosit içeriği değişkenliğine ilaveten, sistemler arasında lökosit konsantrasyonu açısından da büyük farklılıklar mevcuttur (Cross ve ark., 2015). Trombosit konsantrlerinin biyolojik

etkinliğini sağlayan en önemli elemanlardan biri trombositlerdir (Marx, 2001; Kevy ve Jacobson, 2004; Pietrzak ve Eppley, 2005). Optimum sonucu sağlayacak trombosit konsantrasyonu ile ilgili literatürde bir fikir birliği yoktur. Pek çok in vitro çalışma bağ doku ve vasküler hücrelerdeki kemotaktik, mitojenik ve sentetik uyarılar ile trombositlerde bulunan büyüme faktörleri arasında bir doz-yanıt ilişkisi olduğunu bildirmiştir (Sharma ve Maffulli, 2008; Wang-Saegusa ve ark., 2011; Mautner ve ark., 2015). Bazı araştırmacılar trombosit konsantrasyonu normal kana oranla hafif derecede artmış olan konsantrelerin ideal olduğunu ve daha yüksek konsantrasyon düzeylerinin doku iyileşmesini inhibe edici etki gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (Weibrich ve ark., 2004; Graziani ve ark., 2006; Sampson ve ark., 2008). Haynesworth ve Bruder (2001) normal kandakine oranla 10 kata kadar artmış trombosit konsantrasyonunun iyileşme potansiyeli ile ilgili herhangi bir inhibisyona neden olmadığını bildirmişlerdir. İdeal platelet konsantrasyonunun hedef parametreye, tedavi edilen dokuya ve yara iyileşmesi aşamasına bağlı olduğu düşünölmektedir. Ancak, çeşitli klinik senaryolar için "ideal" platelet konsantrasyonu literatürde hala aydınlatılmayı bekleyen bir konudur (Mautner ve ark., 2015).

Trombosit konsantrelerinde diğer bir tartışma konusu biyomateryallerin içeriğindeki lökositlerin miktarı ve biyolojik süreçler üzerindeki etkileridir. Trombosit konsantrelerinin iyileşmedeki rolünde hangi kısmın lökositler tarafından oynandığı ve optimum fayda sağlayacak lökosit konsantrasyon düzeyi bilinmemektedir (Dohan Ehrenfest ve ark., 2009a; Andia ve ark., 2011; Arnoczky ve ark., 2011; Boswell ve ark., 2014; Denapoli ve ark., 2016). Bazı araştırmacılar lökositlerin yara iyileşmesinde anahtar rolleri olduğunu, bu nedenle varlıklarının rejenerasyon sürecini de geliştirebileceğini düşünmektedirler (Davis ve ark., 2014; Everts ve ark., 2006b). Lökositlerden salınan pro-inflamatuvar sitokinlerin doku rejenerasyonu üzerinde inhibe edici etkileri göz önüne alındığında, maksimum terapötik fayda elde etmek amacıyla bazı araştırmacılar lökositlerin bu biyomateryalden ayrıştırılması gerektiğini öne sürmüşlerdir (Anitua ve ark., 2007; McCarrel ve ark., 2012; Yin ve ark., 2016). Lökositlerin sinir rejenerasyonu üzerinde olumsuz etkileri olduğunu ileri süren araştırmacılar, lökositler tarafından inflamasyonun indüksiyonunun, sinir ve çevreleyen yumuşak doku arasında yapışıklılıklara neden olabileceğini; bu nedenle, sinir rejenerasyonu için kullanılan trombosit konsantrelerinden lökositlerin uzaklaştırılması

gerektiğini bildirmişlerdir (Eccleston ve ark., 1993; Farrag ve ark., 2007; Wood ve ark., 2009; Kuffler, 2014; Anitua ve ark., 2015d). Bazı çalışmalar, lökositten zengin ve fakir olan biyomateryallerin, benzer miktarda trombosit ve büyüme faktörleri içerdiklerini; ancak lökositlerin ve pro-inflamatuvar sitokinlerin varlığına bağlı olarak benzer terapötik etkiler sergilemediklerini bildirmişlerdir (Sundman ve ark., 2011; Yin ve ark., 2016). Ayrıca, lökositleri içeren konsantrelerin; fibrin iskeletinin mekanik özelliklerini olumsuz etkilediği, artmış bir enflamatuvar ortam oluşturarak doğrudan hücre çoğalmasını inhibe ettiği ve bu etkilerin doku onarımı veya rejenerasyonu geciktirerek fibroze yol açabileceği öne sürülmüştür (Nathan, 2002; Nathan ve Ding, 2010; Anitua ve ark., 2015d).

PRP çeşitlerinin çoğunun içerdiği bazı dezavantajlar daha farklı trombosit konsantrelerinin geliştirilmesine yol açmıştır. PRGF PRP'nin alt tiplerinden biri olan ve Anitua (1999) tarafından geliştirilmiş plazma bazlı bir trombosit konsantresidir. PRGF sınıflandırmada her ne kadar PRP'nin alt tiplerinden biri olarak tanımlansa da elde edilme biçimi, içeriği, matriks yapısı ve biyolojik potansiyeli bakımından diğer PRP'lere kıyasla daha üstün olduğu ileri sürülen bir biyomateryaldir. Lökosit içermeyen bir trombosit konsantresi olan PRGF tek aşamalı bir santrifüj işlemi ile elde edilir. Bu konsantrede trombositlerin santrifüj sırasında hasar görme riskini minimuma indiren sodyum sitrat, antikoagülan madde olarak kullanılmaktadır. PRGF normal kana kıyasla 2-3 kat kadar artmış bir trombosit konsantrasyonuna sahiptir. Bu trombosit konsantrasyonu biyomateryalin optimum faydası ile ilişkilendirilen bir parametredir. Ayrıca, PRGF trombin içermediği için fizyolojik yapıya daha uygun bir fibrin iskeletinin oluşmasını sağlamaktadır. PRGF teknolojisinde farklı alanlarda kullanılabilen 4 farklı formda ürün elde edilebilmektedir (Weibrich ve ark., 2004; Anitua ve ark., 2007; Anitua ve ark., 2009b; Anitua ve ark., 2012a; Anitua ve ark., 2012c). PRGF'yi diğer trombosit konsantrelerinden ayıran en önemli özelliği lökositlerin bu biyomateryalde bulunmamasıdır. Lökositlerden salınan pro-inflamatuvar sitokinlerin doku rejenerasyonu üzerine zararlı etkileri göz önünde bulundurulduğunda, maksimum terapötik fayda elde etmek için lökositlerin bu biyomateryalden uzaklaştırılması gerektiği ileri sürülmüştür (Anitua, 1999; McCarrel ve ark., 2012; Yin ve ark., 2016). Birçok medikal alanda PRGF'nin kullanımı ile ilgili pozitif sonuçlar bildirilmiştir (Anitua ve ark., 2011; Anitua ve ark., 2014; Anitua ve ark., 2015a;

Fernandez-Ferro ve ark., 2017). Ancak literatürde PRGF'nin sinir rejenerasyonu üzerindeki etkisini araştıran sınırlı sayıda çalışma vardır (Ikumi ve ark., 2017; Sanchez ve ark., 2017a).

Otojen bir fibrin matriksi olan PRF 2000'lerin başında tanımlanmıştır (Choukroun ve ark., 2000). Sık kullanılan ikinci nesil trombosit konsantresi olan PRF özellikle maksillofasial cerrahi alanında popülerlik kazanmıştır. PRP'ler ile kıyaslandığında dışardan hiçbir madde eklenmeden elde edilebilen tamamen otojen bir biyomateryaldir. PRF'de fibrin yapı tamamen fizyolojik bir şekilde polimerize olur ve büyüme faktörleri, lökositler ve diğer biyoaktif moleküller daha optimize bir şekilde fibrin ağa dahil olur. Dolayısıyla, büyüme faktörleri ve sitokinlerin daha uzun süreli salınımı bu biyomateryalle sağlanabilir. PRF anjiyogenez, kemotaksi ve kök hücre çoğalmasını hızlandırmaktadır (Choukroun ve ark., 2000; Dohan ve ark., 2006a; Dohan ve ark., 2006b; Zhang ve ark., 2012) eşitli klinik ve deneysel alışmalar PRF'nin yumuşak doku ve kemik iyileşmesi üzerinde olumlu etkilerini bildirmiştir (Simonpieri ve ark., 2009b; Simonpieri ve ark., 2011; Joseph ve ark., 2014; Acar ve ark., 2015; Tanaka ve ark., 2015; Aricioglu ve ark., 2017; Asaka ve ark., 2017; Du ve ark., 2017). PRF'nin PRP'lere göre biyolojik potansiyel açısından da birçok avantajı bildirilmiştir (Pripatnanont ve ark., 2013; Acar ve ark., 2015; Senses ve ark., 2016). Ancak, bu aktif biyomateryalin hasarlı sinir dokusunun iyileşmesi üzerine etkisi ile ilgili literatürde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır (Lichtenfels ve ark., 2013; Senses ve ark., 2016; Roth ve ark., 2017).

PRF ve PRGF'nin periferik sinir hasarı üzerine etkilerini inceleyen çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Literatürde bu iki biyomateryalin sinir hasarı üzerinde etkilerini araştıran çalışmaların çok az olması ve PRF ile PRGF'nin etkilerini karşılaştıran bir çalışmanın henüz bulunmaması nedeniyle bu çalışma planlanmıştır. Bu alışmada PRF ve PRGF'nin sinir hasarı üzerindeki etkileri araştırılırken aynı zamanda içerik ve yapıları bakımından çok farklı olan bu iki biyomateryalin karşılaştırılması da amaçlanmıştır.

Yeni terapötik yaklaşımların klinik uygulamaya aktarılabilmesi için klinik öncesi çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır (Geuna ve ark., 2016). Bu amaçla in vitro ve in vivo koşullarda deneysel çalışmalar gerçekleştirilmektedir. In vitro çalışmalar, deneysel amaçla kullanılan hayvan sayısını büyük lde azaltan ve in vivo çalışmalara

nazaran daha kolay standardize edilebilen çalışmalardır. Ancak, insandaki biyolojik koşullara benzer deneysel bir ortamın sağlanamaması nedeniyle in vitro çalışmalar tek başına klinikte kullanılacak bir biyomateryalin test edilebilmesi için yetersiz kalmaktadır. Bu nedenlerden dolayı hayvan modelleri, klinik uygulamadan önce herhangi bir biyomateryalin etkinliğinin değerlendirilmesi için daha ideal bir deneysel ortam sağlamaktadır (Drespe ve ark., 2005; Pellegrini ve ark., 2009; Angius ve ark., 2012). Hayvan modelleri, rejenerasyonun seyrini değerlendirmek için objektif yöntemlerin uygulanmasına, moleküler ve hücresel süreçlerin araştırılabilmesine olanak sağlamaktadır. Deney süresince değişkenlerin daha iyi kontrol edilebilmesi ve terapötik yaklaşımların etkilerinin daha sağlıklı değerlendirilebilmesi hayvan modelleri ile mümkündür. Ayrıca, klinik öncesi in vivo modellerin kullanılması pratiktir, daha az etik kaygı barındırmasının yanında ekonomik açıdan da diğer çalışmalara göre avantajlıdır (Stavropoulos ve ark., 2015; Navarro, 2016). Hasarlı sinir dokusunun rejenerasyonuna PRF ve PRGF'nin olası etkilerini daha kontrollü ve hızlı inceleyebileceğimiz, kolay ulaşılabilir ve ekonomik bir deneysel ortam sunduğu için çalışmamızın hayvan modelinde gerçekleştirilmesine karar verilmiştir.

Deneysel modeller hasar sonrası periferik sinirin iyileşmesinde aksonal rejenerasyon ve reinnervasyon ile ilgili mekanizmaların araştırılmasında yararlı araçlardır. Bu modellerinin güvenilirliği periferik sinir araştırmaları için çok önemlidir (Varejao ve ark., 2001). Klinik gereksinimleri karşılayan ideal tek bir deneysel modelin olmaması deneysel modelin seçiminde birçok faktörün göz önünde bulundurulmasını gerektirmektedir. Uygun deneysel modelin seçimi araştırılan sorununun doğasına büyük ölçüde bağlıdır (Sumner ve ark., 2001). Dolayısıyla, sinir rejenerasyonunun araştırılması için uygun bir hayvan modelinin, insanda periferik sinir hasarından sonra gerçekleşen spesifik süreçleri en iyi şekilde taklit edebilecek bir deneysel ortam sağlaması gerekmektedir. Ayrıca, seçilecek deneklerde cerrahi tolerans, enfeksiyona karşı direnç ve türler arasındaki uyum önemli kriterlerdir. (Angius ve ark., 2012). Schimandle ve Boden (1994) bir türün deneysel olarak kullanımı için bakım kolaylığı, maliyeti, ulaşılabilirliği ve toplumda kabul edilebilirliği gibi özelliklerinin de göz önünde bulundurulması gereken faktörler olduğunu bildirmişlerdir. Günümüze kadar deneysel sinir hasarı çalışmalarında rat, fare, tavşan, koyun, domuz gibi denekler kullanılmıştır (Cho ve ark., 2010; Emel ve ark., 2011; Ye ve ark., 2012; Casanas ve

ark., 2014; Kucuk ve ark., 2014; Sanchez ve ark., 2017a). Tavşan, koyun, domuz gibi denekler maliyet, bakım ve fonksiyonel değerlendirmenin nispeten zor olması nedeniyle bazı dezavantajlara sahiptir. Ratlardaki deneysel modeller, daha büyük denek kullanmaya duyulan ihtiyacı ortadan kaldırmaktadır. Ayrıca, ratlar bakım maliyetlerinin daha düşük olması, daha kısa deneysel süreç gerektirmeleri ve daha fazla denek ile çalışma olanağı sağlamaları gibi bir dizi avantaja sahiptir (Bigi ve ark., 2011).

Literatürde yayınlanan benzer çalışmalarda zaten sık kullanılan bir denek olmasının yanı sıra (Sariguney ve ark., 2008; Emel ve ark., 2011; Giannessi ve ark., 2014), kurumumuzda kolayca erişilebilir ve bakımı kolay olması, kolay anestezi induksiyonu sağlanabilmesi, deneysel süreç sonrası fonksiyonel değerlendirmelerin daha rahat yapılabilmesi ve düşük morbiditeye sahip olması nedeniyle çalışmamızda dişi Wistar Albino cinsi rat kullanılmıştır. Bir çalışmada ratlarda ortalama kilo arttıkça kan hacminin azaldığı ve 250gr üzerindeki ratlarda diğerlerine oranla kan hacminin oldukça düştüğü bildirilmiştir (Lee ve Blaufox, 1985). Başka bir çalışmada daha genç ratların vücut ağırlıklarına oranla, yaşlı ratlara göre daha büyük bir kan hacmine sahip oldukları rapor edilmiştir (Lippman, 1947; Garcia, 1957). Çalışmamızda kullanılan ratlar cinsiyet, yaş, kilo ve oluşturulan sinir defekti açısından standardize edilmiştir. Deneysel aşamada kullanılacak trombosit konsantrasyonlarının sağlıklı bir şekilde elde edilebilmesi ve cerrahiye tolere edebilecek erişkinliğe ulaşmış ratların kullanılabilmesi açısından çalışmamızda 200-250 gr ağırlığında genç ratlar tercih edilmiştir.

Ratlarda siyatik sinirin rejenerasyon kapasitesinin primatlarınkine eşdeğer olması, sinir dokusunun memelilerle benzer genetik özelliklere sahip olması ve sinir gövdelerinin insandakine benzer dağılım göstermesi nedeniyle rat siyatik sinirinin periferik sinir rejenerasyonunu araştıran çalışmalarda tercih edilebilecek en güvenilir deneysel model olduğu düşünülmektedir (Mackinnon ve ark., 1984; Mackinnon ve ark., 1985; Bain ve ark., 1989; Meek ve ark., 1999; Varejao ve ark., 2001). Ayrıca periferik sinirin büyüklüğü ve cerrahi manipülasyon kolaylığı nedeniyle de rat siyatik siniri periferik sinir rejenerasyonu ve muhtemel terapötik yaklaşımların test edilebilmesi için çalışmalarda sıklıkla tercih edilmektedir (Mackinnon ve ark., 1985; Rodriguez ve ark., 2004; Varejao ve ark., 2004b; Martins ve ark., 2006; Luis ve ark., 2007; Tos ve ark., 2008; Ronchi ve ark., 2009; Gartner ve ark., 2012; Ozturk ve ark., 2016). Rat siyatik sinir modelinin diğer bir avantajı motor ve duyu sinir fonksiyonlarının eş zamanlı

değerlendirilmesine olanak sağlamasıdır (Dellon ve ark., 1988; Shen ve Zhu, 1995; Dijkstra ve ark., 2000; Varejao ve ark., 2001; Feng ve Yuan, 2015). Bu deneysel model distal segmente ulaşmak ve reinnervasyon sağlamak için yarışan farklı boyut ve türdeki aksonlara sahip olan karışık sinirleri içeren lezyonlar için gerçeğe çok yakın bir deneysel model sağlamaktadır (Mackinnon ve ark., 1985; Varejao ve ark., 2001; Martins ve ark., 2006; Gartner ve ark., 2012). Rat siyatik sinir modeli, aynı zamanda nispeten daha düşük maliyetlidir (Nichols ve ark., 2005).

Lezyon tipinin seçimi, sinir rejenerasyonunun araştırılmasında önemlidir (Fugleholm ve ark., 1994; Fugleholm ve ark., 2000; Wolthers ve ark., 2005). Sinir hasarının tedavisi yaralanma türüne göre değişiklik göstermektedir. Dolayısıyla, deneysel modelin seçiminde önemli olan etkinliği araştırılacak tedavi şekline en uygun modelin seçilmesidir. Literatürde en sık kullanılan deneysel olarak oluşturulan sinir hasarı tipleri sinir kesisini içeren hasarlar (Farrag ve ark., 2007; Sariguney ve ark., 2008; Senses ve ark., 2016), belirli bir uzunlukta boşluk oluşturacak şekilde sinirin bir bölümünün rezeksiyonunu içeren hasarlar (Elgazzar ve ark., 2008; Piskin ve ark., 2009; Kaplan ve ark., 2011) ve aksonal kesinti oluşturulup sinir bütünlüğünün korunduğu ezilme tipi (Ding ve ark., 2009; Emel ve ark., 2011; Wu ve ark., 2012; Wu ve ark., 2013) hasarlardır. Sinir kesisini içeren deneysel modellerin aksine ezilme tipi hasar modeli, sinirin devamlılığı hâlâ bozulmamış olduğu için, terapötik biyomateryallerin etkisinin daha kısa sürede araştırılabileceği bir deneysel alt yapı sağlamaktadır (Yu ve ark., 2014). Literatürde siyatik sinir ezilme modeli deneysel rejenerasyon çalışmalarında, çeşitli farmakolojik tedavilerin etkisini araştırmak için iyi tanımlanmış bir modeldir (Algora ve ark., 1996; Al Moutaery ve ark., 1998; Lee ve ark., 2000a; Paydarfar ve Paniello, 2001; Gudemez ve ark., 2002; Islamov ve ark., 2002; Rodriguez ve ark., 2004; Luis ve ark., 2007). Bu tür hasar modelinde yaralı aksonlar, mikrocerrahi onarıma gerek kalmadan Wallerian dejenerasyona uğrayan sinir segmenti tarafından gerçekleştirilen bir rejenerasyon süreci sergilemektedir. Bu nedenle, ezilme tipi hasar modeli akson rejenerasyonu, remiyelinizasyon ve periferik yaralanmadan kaynaklanan fonksiyonel iyileşmeyi incelemek için uygun bir ortam sağlamaktadır. Diğer yandan, bu deneysel yaklaşım teknik açıdan daha az zorlayıcıdır ve mikrocerrahi eğitim almayan tüm periferik sinir araştırmacıları için büyük bir avantaj sağlamaktadır. (Ronchi ve ark., 2009; Sun ve ark., 2009). Ezilme tipi hasar modeli künt travmayı takiben ortaya çıkan

linik durumlara yakından benzerlik göstermektedir. (Feng ve ark., 2010). Bu benzerlik oral ve maksillofasial cerrahi pratiğinde sıklıkla karşılaştığımız bir klinik durumun tedavisi açısından da yol gösterici olabilecektir. Süreç açısından da bu deneysel model bazı avantajlar sağlamaktadır. Ezilme tipi hasarda reinnervasyon ve olgunlaşma daha kısa sürede ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla ezilme tipi hasarlarda değerlendirme süresi kısadır ve iyileşme değerlendirme yöntemine bakılmaksızın daha az değişkendir (Sunderland, 1978; Thomas, 1989; Wolthers ve ark., 2005). Ezilme tipi hasar periferik sinir rejenerasyonunun hücresel ve moleküler mekanizmalarını araştırmaya ve rejenerasyon sürecinde farklı faktörlerin rolünü değerlendirmeye olanak sağlamaktadır (Udina ve ark., 2003; Rodriguez ve ark., 2004; Sanchez ve ark., 2017a).

Literatürde bildirilen avantajları göz önünde bulundurulduğunda rat siyatik siniri bu deneysel çalışma için en ideal alt yapıyı sağladığından dolayı çalışmamızda rat siyatik sinir modeli kullanılmıştır. Kandan elde edilen biyomateryallerin sinir hasarı üzerinde erken dönemdeki etkisini araştırmayı amaçladığımız için de ezilme tipi hasar modelinin çalışmamızın amacına en iyi şekilde hizmet edebilecek model olduğu düşünülmüştür. Çalışmamızda bu nedenlerden dolayı ezilme tipi hasar modeli PRF ve PRGF'nin sinir rejenerasyonu üzerindeki erken dönem etkilerinin araştırılması için kullanılmıştır.

Ezilme tipi bir hasar, doku yüksek dereceli kuvvet veya basınç uygulandığında, genellikle 2 ağır nesne arasında sıkıştığında ortaya çıkar (Emel ve ark., 2011). Sinir ezilme modelinin dezavantajı, yapısal hasar gören sinir liflerinin sayısının farklı sinir sıkıştırma derecesine bağlı olarak önemli ölçüde değişebileceği ve böylece bu yöntemi güvenilir olmayan hale getirme olasılığıdır. Bu durumda bazı sinir liflerinde, yalnızca geçici bir fonksiyonel bozukluk oluşur. Bu nedenle fonksiyonel iyileşme gerçek bir sinir rejenerasyonundan kaynaklanamaz (Sarıkcioglu ve Ozkan, 2003; Luis ve ark., 2007). Varejao ve ark. (2004b) standardize edilmiş bir prosedürün kullanılması ile bu kısıtlamanın ortadan kaldırılabilceğini bildirmişlerdir. Literatürde ezilme tipi hasarın oluşturulması için birçok farklı protokol bildirilmiştir. Hemostatik klemp, tırtıksız klemp, kuyumcu forsepsi veya Yasargil anevrizma klembi gibi araçlar ile 20 sn ve 45 dk arasındaki sürelerde devamlı ya da aralıklı kuvvet uygulanarak oluşturulan siyatik ezilme tipi hasar modelleri bildirilmiştir (Galloway ve ark., 2000; Lee ve ark., 2000b; Kurtoglu ve ark., 2005; Subbanna ve ark., 2007; Ding ve ark., 2009; Kalender ve ark.,

2009; Serarslan ve ark., 2009; Emel ve ark., 2011; Kaya ve ark., 2013; Avsar ve ark., 2014; Demir ve ark., 2014; Sta ve ark., 2014; Zhang ve ark., 2014; Feng ve Yuan, 2015; Yang ve ark., 2015; Yuce ve ark., 2015; Helvacioğlu ve ark., 2018)

Çalışmamızda ezilme tipi hasar sabit bir sıkıştırma kuvveti sağlayan standardize bir portegü ile gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde tekrarlanabilir ve her denekte aynı düzeyde hasar oluşturulan homojen bir deneysel model ortaya koymak amaçlanmıştır. Sıkıştırma kuvveti literatürdeki sürelerle uyumlu olarak 1 dakika boyunca uygulanmıştır. Sıkıştırma sonunda sinirde çıplak gözle görülebilir 1mm'lik bir hasar alanının oluşturulması sağlanmıştır.

Aksonotmezis sonrası siyatik sinir rejenerasyonunu araştıran çalışmalarının çoğunda, ameliyat sonrası takip süresi 4-8 hafta olup, bu sürenin sonuna kadar fonksiyonel iyileşmenin tamamlandığı varsayılmaktadır (Oliveira ve ark., 2001; Gudemez ve ark., 2002; Luis ve ark., 2007). Birçok çalışmada ezilmenin ilk ayından sonra normal yürüyüş şekilleri gözlenmiştir (Hare ve ark., 1992; Bridge ve ark., 1994; Walker ve ark., 1994; Oliveira ve ark., 2001; Gudemez ve ark., 2002; Varejao ve ark., 2004a; Wolthers ve ark., 2005). Ancak, fonksiyonel iyileşme hızı sinirin ezme yüklerinin büyüklüğüne gösterdiği patofizyolojik tepki ile orantılı olarak değişebilmektedir (Lundborg ve Dahlin, 1992; Rempel ve ark., 1999). Bu çalışmada, ezilme tipi hasarlardaki rejenerasyon hızını farklı sıkıştırma kuvvetlerin etkileyeceği göz önünde bulundurularak ve biyomateryallerin erken dönemde sinir rejenerasyonuna etkisi araştırıldığı için deneklerin hasar oluşturulmasını takiben gözlem süresi 8 hafta olarak belirlenmiştir.

Morfolojik ve fonksiyonel yöntemler hasar sonrası sinir rejenerasyonunu değerlendirmek için kullanılmaktadır. Ancak değerlendirme yöntemleri arasındaki korelasyon, her biri rejenerasyonun farklı bir aşaması hakkında veri sağladığı için genellikle zayıftır (Dellon ve ark., 1988; Shen ve Zhu, 1995; Kanaya ve ark., 1996; Farrag ve ark., 2007; Sariguney ve ark., 2008; Senses ve ark., 2016; Sanchez ve ark., 2017a). Sinirsel rejenerasyonunun değerlendirilmesinde kullanılan histomorfometri gibi yöntemler, fonksiyonel iyileşmenin değerlendirilmesinde yetersiz kalır (Almquist ve Eeg-Olofsson, 1970; de Medinaceli ve ark., 1982; Shen ve Zhu, 1995; Kanaya ve ark., 1996; Varejao ve ark., 2001; Varejao ve ark., 2004b). Elektrofizyolojik parametreler en hızlı ve en çok miyelinize olmuş aksonlar hakkında bilgi verirken,

fonksiyonel iyileşmenin yanlış yorumlanmasına yol açabilir (Kanaya ve ark., 1996; Varejao ve ark., 2001). Diğer yandan, akson sayısı ve miyelinizasyon derecesi gibi histomorfometrik ölçümler ile de aksonun uygun hedef organa ulaşıp ulaşmadığının belirlenmesi mümkün değildir (Mackinnon ve ark., 1991; Kanaya ve ark., 1996; Varejao ve ark., 2004b). de Medinaceli ve ark. (1982) tarafından bildirilen, daha sonra Bain ve ark. (1989) tarafından modifiye edilen ve sinir rejenerasyonu üzerine yapılan birçok deneysel çalışmada kullanılan SFİ sinirde fonksiyonel iyileşmeyi değerlendirmeye olanak sağlarken morfolojik ve elektrofizyolojik değerlendirmeye olanak sağlamamaktadır (Koka ve Hadlock, 2001; Varejao ve ark., 2001; Wolthers ve ark., 2005; Luis ve ark., 2007; Senses ve ark., 2016). Bu anlamda, periferik sinir rejenerasyonun morfolojik, elektrofizyolojik ve fonksiyonel ölçümler ile değerlendirilmesi sinir rejenerasyon sürecinin bütün olarak incelenmesi için gereklidir (Varejao ve ark., 2003; Luis ve ark., 2007; Feng ve Yuan, 2015).

Stereoloji, incelenecek biyomateryalin 3 boyutlu yapısı hakkında 2 boyutlu kesitler kullanılarak bilgi edinilebilmesine olanak sağlayan bir morfometrik inceleme metodudur. Histolojik yöntemlerle kesit alma işlemi sırasında ortaya çıkabilecek yanıltıcı faktörlerin üstesinden gelmek için yararlı bir inceleme şeklidir. Bu yöntemde inceleme disektör ve parçalama gibi çeşitli metotlar ile gerçekleştirilebilmektedir. Parçalama metodu stereolojik incelemede kullanılan en basit ve anlaşılır metotlardan biridir. Parçalama metodundan elde edilen veriler doku hazırlama işlemleri sırasında karşılaşılabilecek herhangi bir değişimden etkilenmeyerek daha objektif sonuçlar sunabilmektedir (Altunkaynak ve ark., 2012; Kaplan ve ark., 2012a; Kaplan ve ark., 2012b).

Çalışmamızda sinir rejenerasyonunun bütün olarak değerlendirmesini sağlayabilmek için sekizinci hafta sonunda öncelikle SFİ ölçümleri ardından da genel anestezi altında elektrofizyolojik ölçümler gerçekleştirilmiştir. Takiben denekler sakrifiye edilmiş ve sinir dokuları çıkarılarak stereolojik incelemeler yapılmıştır.

Ikumi ve ark. (2017) 15mm defekt oluşturdukları tavşan siyatik sinir hasarında otojen greft ve otojen greft+PRGF'nin etkinliğini araştırmışlardır. Çalışmanın histolojik inceleme sonucundaki verilerine göre miyelinli akson sayısı geç dönemde otojen greft+PRGF uygulanan grupta sadece otojen greft uygulanan gruba göre yüksek ve kontrol grubu ile yakın değerlerde bulunmuştur. Bizim çalışmamızda stereolojik

incelemeler sonucunda miyelinli akson sayısı bakımından, PRF ile PRGF grupları H grubuna oranla artan yönde istatistiksel anlamlı fark göstermiştir. Bu sonuç çalışmamızda uygulanan iki biyomateryalin sinir hasarı üzerinde rejeneratif potansiyeli olduğunu göstermektedir. Ayrıca miyelinli akson sayısı açısından PRGF grubu ile K grubu arasında istatistiksel fark gözlenmemesi ve PRF grubu ile PRGF grubu arasında anlamlı fark gözlenmesi erken dönem sinir rejenerasyonunda PRGF'nin daha etkin olduğunu göstermektedir. Çünkü PRGF uygulaması erken dönemde neredeyse sağlam sinir örneklerindeki kadar miyelinli akson oluşumuna yardımcı olmuştur. Bu sonuçlar literatürde lökositlerin sinir rejenerasyonu üzerindeki olumsuz etkileri olduğunu ileri süren görüşleri destekler niteliktedir. Çalışmamızda içeriğindeki lökositlerin rejenerasyonun akut yolaklarını etkileyerek erken dönemde PRF'nin miyelinli aksonların rejenerasyonu üzerindeki etkinliğini azaltmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Roth ve ark. (2017) ratlarda 1cm defekt ile oluşturdukları siyatik sinir hasarı modelinde venöz taşıyıcı+PRF ve otojen greftin etkinliğini araştırdıkları çalışmalarında geç dönemde venöz taşıyıcı ile birlikte PRF uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük akson çapı değerleri bulduklarını bildirmişlerdir. Lichtenfels ve ark. (2013) 1cm defekt oluşturdukları benzer bir hasar modelinde geç dönemde silikon taşıyıcı, silikon taşıyıcı+PRP, silikon taşıyıcı+PRF ve otojen greftin etkinliğini karşılaştırdıkları çalışmalarında akson çapı açısından PRF uygulanan grupta otojen greft ve PRP uygulanan gruplara yakın değerler bulmuşlardır. Koyun peroneal sinirinde ezilme tipi hasarda serum ve PRGF uygulamalarının etkisini karşılaştıran Sanchez ve ark. (2017a) geç dönemde akson alanı bakımından sadece hasar oluşturulan ve hasar oluşturulup serum enjekte edilen gruplarda sağlam sinire kıyasla anlamlı fark bulmuşlardır; PRGF grubunda ise sağlam sinire kıyasla daha düşük akson alanı değeri saptamalarına rağmen bu farkın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda akson alanı ve amplitüt değerleri açısından H, PRF ve PRGF grupları ile K grubu arasında anlamlı fark bulunmuştur. Bu erken dönemde beklenen bir sonuçtur. Ancak erken dönemde PRF ve PRGF gruplarındaki akson alanı değerlerinin H grubuna kıyasla anlamlı derecede az olması bu gruplarda çok daha fazla sayıda ve çok daha küçük çaplı rejenere akson filizinin olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda erken dönemde akson alanı açısından PRF ve PRGF gruplarında benzer sonuçlar saptanmıştır. Bu bulgular geç dönemde akson rejenerasyonunda PRF ve PRP'nin benzer etki gösterdiğini

bildiren Lichtenfels ve ark. (2013)'nın bulguları ile benzerdir. Lichtenfels ve ark. (2013)'nin çalışmalarında kullandığı PRP'nin bizim çalışmamızda kullandığımız PRGF'den farklı olarak lökositleri içermesine rağmen akson alanı üzerinde etkisi bizim çalışmamızdaki gibi PRF'ye yakın bulunmuştur. Bu sonuç lökositlerin akson rejenerasyonu üzerinde ek bir olumsuz etkiye neden olmamasından ya da farklı değerlendirme süreleri ve hasar modellerinin farklı içeriğe sahip bu biyomateryaller ile benzer sonuçlar elde edilmesine neden olmasından kaynaklanmış olabilir. Bizim çalışmamızda akson alanı bakımından PRF grubunda elde edilen bulgular Roth ve ark. (2017)'nin geç dönemde PRF'nin akson çapı üzerindeki etkisini değerlendiren çalışmalarının bulgularına benzerdir. Ancak, PRGF'nin akson alanına etkisi bakımından elde ettiğimiz bulgular Sanchez ve ark. (2017a)'nın bulgularından farklıdır. Erken dönemde PRF ve PRGF gruplarında saptadığımız ve çok sayıda yeni rejenere olan aksonları gösteren, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük akson alanı değerinin Roth ve ark. (2017)'nin geç dönem değerlendirmesinde kontrol grubuna göre düşük ve Sanchez ve ark. (2017a)'nın geç dönem değerlendirmesinde kontrol grubuna yakın değerlerde bulunması muhtemelen deneysel modeller arasındaki farktan kaynaklanmaktadır. Bizim çalışmamızda Sanchez ve ark. (2017a)'nın çalışmalarında olduğu gibi daha kısa bir iyileşme süreci gerektiren ezilme tipi hasar modeli kullanılmıştır. Oysa, Roth ve ark. (2017)'nin çalışmalarında 1cm defekt oluşturulan sinir hasarı modeli kullanılmıştır. Dolayısıyla rejenerasyon hızındaki bu fark defekt oluşturulan hasar modelinin daha uzun iyileşme süresi gerektirmesinden kaynaklanmış olabilir. Diğer yandan bu sonuca PRF'nin PRGF'ye oranla daha düşük rejeneratif etki göstermesi de katkıda bulunmuş olabilir.

Amplitüt açısından Sanchez ve ark. (2017a) çalışmalarında erken dönemde sadece PRGF grubundan yanıt almış ve geç dönemde gruplar arasında amplitüt değerleri açısından anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. Ikumi ve ark. (2017) tavşanda siyatik sinir hasarında otojen greft ve otojen greft +PRGF uyguladıkları çalışmalarında amplitüt değeri açısından geç dönemde gruplar arasında anlamlı fark olmadığını bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda erken dönemde H ve PRGF gruplarına kıyasla amplitüt değerleri PRF grubunda anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu sonuç, benzer hasar modelinde çalışan Sanchez ve ark. (2017a)'nın erken dönem

bulgularından farklıdır. Sanchez ve ark. (2017a)'nın çalışmasının bulguları erken dönemde PRGF'nin akson rejenerasyonunda etkili olduğunu göstermektedir.

Senses ve ark. (2016) transeksiyon sonrasında hasarlı sinire sütür, sütür+PRF, sütür+5mm gap+PRF uyguladıkları çalışmalarında geç dönem latans değerlerini PRF uygulanan gruplarda daha yüksek bulmuşlardır. Miyelin kılıf kalınlığı açısından da yine PRF gruplarında kalınlığın en düşük değerlerde seyrettiğini bildirmişlerdir. Roth ve ark. (2017) venöz taşıyıcı+PRF ve otojen grefti karşılaştırdıkları çalışmalarında miyelin kılıf kalınlığını geç dönemde deneysel gruplarda kontrol grubundan anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Lichtenfels ve ark. (2013) 1cm defekt oluşturdukları hasar modelinde silikon taşıyıcı, silikon taşıyıcı+PRP, silikon taşıyıcı+PRF ve otojen grefti karşılaştırdıkları çalışmalarında miyelin kılıf kalınlığını geç dönemde tüm gruplarda benzer değerlerde bulmuşlardır. Miyelin kılıf kalınlığı ve latans değerleri birlikte ele alındığında, sinir olgunlaşması açısından fikir verdiği için bizim çalışmamızda PRF, PRGF ve H grupları arasında anlamlı fark gözlenmemesi ve tüm bu grupların miyelin kılıf kalınlıklarının K grubuna göre anlamlı derece az olması erken dönemde beklenen bir sonuçtur. Dahası bu sonuç kullanılan biyomateryallerin özellikle yağ doku içeriği fazla olan miyelin yapısındaki oluşumların rejenerasyonuna erken dönemde anlamlı bir katkı yapamadıklarını göstermektedir. Bizim çalışmamızın erken dönem bulguları literatürde Lichtenfels ve ark. (2013), Senses ve ark. (2016), Roth ve ark. (2017)'nin çalışmalarında miyelin kılıf kalınlığı bakımından bildirilen geç dönem bulgular ile benzerlik göstermektedir.

Latans değeri bakımından koyun peroneal sinirinde ezilme tipi hasarda serum ve PRGF uygulamasını karşılaştıran Sanchez ve ark. (2017a) erken dönemde sadece PRGF uygulanan grupta normal sinire göre uzamış bir yanıt aldıklarını ancak geç dönemde en düşük ikinci değer PRGF grubunda olmak üzere tüm gruplardan yanıt aldıklarını bildirmişlerdir. Çalışmamızda kontrol grubuna en yakın latans değerleri PRGF grubunda saptanmıştır. Bu bulgu Sanchez ve ark. (2017a) latans değeri açısından erken dönemde PRGF grubundan elde ettikleri bulgular ile benzerlik göstermektedir.

Alan-miyelin kılıf kalınlık oranı açısından gruplar arasında anlamlı fark gözlenmemiştir. Bu durum rejenere olan küçük çaplı akson filizlerinin yine kendi çaplarına uygun miyelin kılıf oluşturabildiklerinin göstergesidir. Bu sonuç uygulanan biyomateryallerin erken dönemde akson alanı ve miyelin kılıf kalınlığı

parametrelerinden herhangi birini, bu oranı değiştirecek düzeyde etkilemediğini göstermektedir.

Senses ve ark. (2016) transeksiyon sonrasında hasarlı sinire sütür, sütür+PRF, sütür+5mm gap+PRF uyguladıkları çalışmalarında geç dönemde SFİ sonuçlarını sütür grubunda anlamlı olmamakla birlikte diğer gruplara nazaran daha iyi bulmuşlardır. Roth ve ark. (2017) venöz taşıyıcı+PRF ve otojen grefti karşılaştırdıkları çalışmalarında SFİ değerleri açısından her iki grupta da kontrol grubuna göre ileri derecede anlamlı fark bulmuşlardır. Lichtenfels ve ark. (2013) 1cm defekt oluşturdukları hasar modelinde silikon taşıyıcı, silikon taşıyıcı+PRP, silikon taşıyıcı+PRF ve otojen grefti karşılaştırdıkları çalışmalarında erken dönemde en iyi ve benzer sonuçları PRF ve otojen greft gruplarında rapor etmişlerdir. Ancak geç dönemde PRP grubunun da PRF ve otojen greft uygulanan gruplara yakın SFİ değerleri gösterdiğini belirtmişlerdir. Çalışmamızda miyelinli motor aksonları değerlendiren SFİ sonuçlarına bakıldığında PRF ve PRGF gruplarında hasar grubuna oranla anlamlı bir fark gözlenmiştir. Bu sonuç PRF ve PRGF'nin özelikle miyelinli aksonları içeren motor sinirlerin rejenerasyonunu hızlandırdığını destekler niteliktedir. Ayrıca PRF ve PRGF arasında anlamlı fark olmamasına rağmen PRGF'de PRF'ye oranla daha iyi sonuçlar gözlenmiştir. Bu sonuca dayanarak erken dönemde PRGF'nin motor fonksiyonların iyileşmesi açısından daha etkin olduğunu; ancak geç dönemde bu farkın tekrar değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz. Bizim çalışmamızın sonuçları PRF'nin SFİ değerleri üzerindeki etkisi açısından Senses ve ark. (2016)'nın sonuçlarından farklıdır. Bulgular arasındaki bu fark kullanılan sinir hasarı modelleri ve değerlendirme süreleri arasındaki farktan kaynaklanmış olabilir. SFİ değerleri bakımından çalışmamızın sonuçları PRF'nin etkinliği açısından Lichtenfels ve ark. (2013) ve Roth ve ark. (2017)'nin çalışmalarının sonuçlarıyla benzedir. Ancak, PRP'nin etkinliği açısından Lichtenfels ve ark. (2013)'nin sonuçlarından farklıdır. Bulgular arasındaki bu farklılık Lichtenfels ve ark. (2013)'nin aksine bizim çalışmamızda kullandığımız PRGF'nin lökositleri içermemesinden kaynaklanmış ve Lichtenfels ve ark. (2013)'nin çalışmalarında PRF PRP'ye oranla daha etkin bulunmuş olabilir.

Literatürdeki alışmalar ve bizim çalışmamızın sonuçlarındaki farklılıklar muhtemelen kullanılan deneysel modellerin, değerlendirme yöntemlerinin, değerlendirme zamanının ve kullanılan biyomateryallerin elde ediliş Őekillerinin ve

içeriklerinin farklılığından kaynaklanmaktadır. Bu çalışmada elde edilen verilerden yola çıkarak, PRGF'nin PRF'ye oranla erken dönem sinir rejenerasyonunda daha etkin olduğu sonucu çıkarılabilir. Ancak bu durumun geç dönemde de devam edip etmediğini değerlendirmek için yeni çalışmalara ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Bu çalışmada ezilme tipi sıyatik sinir hasarı üzerinde PRF ve PRGF'nin erken dönemdeki etkinliklerinin karşılaştırması ilk defa tarafımızdan yapılmıştır. Literatürde bu çalışma ile aynı koşullarda yapılan herhangi bir çalışma henüz bulunmamaktadır.
2. Literatürde PRF veya PRGF'nin hasarlı sinir dokusu üzerine etkilerini konu alan çalışma sayısı son derece azdır. Bu çalışma ile hem PRF hem de PRGF'in etkileri araştırılarak literatüre önemli bir katkıda bulunulmuştur.
3. Çalışmamızda SFİ ve elektrofizyolojiye ek olarak dokuların üç boyutlu olarak analiz edilebilmesine imkân sağlayan stereoloji yöntemi kullanılmıştır. Literatürde PRF ve/veya PRGF'nin sinir iyileşmesi üzerine etkisini araştıran ve stereolojik yöntemleri kullanan bir çalışma henüz mevcut değildir. Dolayısıyla çalışmamız gerçeğe en yakın değerlerin elde edilmesine olanak sağlamaktadır.
4. Çalışmamızda SFİ'ye göre PRF ve PRGF'nin fonksiyonel iyileşmeyi hızlandırdığı; ancak erken dönemde PRGF'nin daha etkin olduğu bulunmuştur.
5. Çalışmamızda erken dönemde PRF ve PRGF'nin aksonal rejenerasyonu hızlandırdığı ve etkilerinin benzer düzeyde olduğu görülmüştür.
6. PRF ve PRGF'nin yağ doku içeriği fazla olan miyelin yapısının rejenerasyonuna erken dönemde anlamlı bir katkı yapamadıkları bulunmuştur.
7. Çalışmamızda miyelinli akson sayısı bakımından erken dönemde PRF ve PRGF gruplarından elde edilen veriler iki biyomateryalin de hasarlı sinir üzerinde rejeneratif potansiyeli olduğunu göstermektedir.
8. PRF'nin miyelinli akson sayısında PRGF'den anlamlı derecede az artış sağlaması erken dönemde PRGF'nin daha etkin olduğunu göstermektedir.
9. PRF'nin rejeneratif kapasitesini erken dönemde sınırlayan etkinin içeriğindeki lökositlerden kaynaklanabileceğini ve PRF'nin rejeneratif potansiyelinin geç dönemde tekrar değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

10. Bu tez çalışmasında elde edilen bulgular sadece hasarlı sinir rejenerasyonunun erken dönemini değerlendirmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre kullandığımız iki biyomateryalin de sinir hasarı üzerinde rejeneratif potansiyele sahip olduğu saptanmıştır.
11. Bu iki biyomateryalin optimum etkilerini gösterebilecekleri şartların belirlenmesi için uygulama öncesi biyomateryallerin içeriklerinin karakterize edildiği ve sinir rejenerasyonunun farklı evrelerinin değerlendirildiği başka deneysel çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.



KAYNAKLAR

- Abbasipour-Dalivand S, Mohammadi R, Mohammadi V. Effects of local administration of platelet rich plasma on functional recovery after bridging sciatic nerve defect using silicone rubber chamber; an experimental study. *Bull Emerg Trauma* 2015;3(1):1-7.
- Acar AH, Yolcu U, Gul M, Keles A, Erdem NF, Altundağ Kahraman S. Micro-computed tomography and histomorphometric analysis of the effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in the rabbit calvarium. *Arch Oral Biol* 2015;60(4):606-614.
- Aghaloo TL, Moy PK, Freymiller EG. Evaluation of platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone in the rabbit cranium. A pilot study. *Clin Oral Implants Res* 2005;16(2):250-257.
- Al Moutaery K, Arshaduddin M, Tariq M, Al Deeb S. Functional recovery and vitamin E level following sciatic nerve crush injury in normal and diabetic rats. *Int J Neurosci* 1998;96(3-4):245-254.
- Algora J, Chen LE, Seaber AV, Wong GH, Urbaniak JR. Functional effects of lymphotoxin on crushed peripheral nerve. *Microsurgery* 1996;17(3):131-135.
- Allamargot C, Pouplard-Barthelaix A, Fressinaud C. A single intracerebral microinjection of platelet-derived growth factor (PDGF) accelerates the rate of remyelination in vivo. *Brain Res* 2001;918(1-2):28-39.
- Allodi I, Udina E, Navarro X. Specificity of peripheral nerve regeneration: interactions at the axon level. *Prog Neurobiol* 2012;98(1):16-37.
- Almquist E, Eeg-Olofsson O. Sensory-nerve-conduction velocity and two-point discrimination in sutured nerves. *J Bone Joint Surg Am* 1970;52(4):791-796.
- Altunkaynak BZ, Onger ME, Altunkaynak ME, Ayranci E, Canan SA. Brief introduction to stereology and sampling strategies: basic concepts of stereology. *Neuroquantology* 2012;10(1):31-43.
- Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, da Cruz Pacheco I, Correa do Amaral RJ, Granjeiro JM, Borojevic R. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther* 2013;4(3):67.
- Andia I, Sanchez M, Maffulli N. Platelet rich plasma therapies for sports muscle injuries: any evidence behind clinical practice? *Expert Opin Biol Ther* 2011;11(4):509-518.
- Angius D, Wang H, Spinner RJ, Gutierrez-Cotto Y, Yaszemski MJ, Windebank AJ. A systematic review of animal models used to study nerve regeneration in tissue-engineered scaffolds. *Biomaterials* 2012;33(32):8034-8039.

- Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 1999;14(4):529-535.
- Anitua E. Extraction socket treatment: A biological approach. Spain, Team Work Media. 2015;115-123.
- Anitua E, Aguirre JJ, Algorta J, Ayerdi E, Cabezas AI, Orive G, Andia I. Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 2008a;84(2):415-421.
- Anitua E, Alkhraisat MH, Orive G. Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *J Control Release* 2012a;157(1):29-38.
- Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost* 2004;91(1):4-15.
- Anitua E, Andia I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zaldueño M, de la Fuente M, Nurden P, Nurden AT. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res* 2005;23(2):281-286.
- Anitua E, Orive G, Aguirre JJ, Andia I. Clinical outcome of immediately loaded dental implants bioactivated with plasma rich in growth factors: a 5-year retrospective study. *J Periodontol* 2008b;79(7):1168-1176.
- Anitua E, Pascual C, Antequera D, Bolos M, Padilla S, Orive G, Carro E. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) reduces neuropathologic hallmarks and improves cognitive functions in an Alzheimer's disease mouse model. *Neurobiol Aging* 2014;35(7):1582-1595.
- Anitua E, Pascual C, Perez-Gonzalez R, Antequera D, Padilla S, Orive G, Carro E. Intranasal delivery of plasma and platelet growth factors using PRGF-Endoret system enhances neurogenesis in a mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One* 2013a;8(9):1-13.
- Anitua E, Pascual C, Perez-Gonzalez R, Orive G, Carro E. Intranasal PRGF-Endoret enhances neuronal survival and attenuates NF-kappaB-dependent inflammation process in a mouse model of Parkinson's disease. *J Control Release* 2015a;203:170-180.
- Anitua E, Pelacho B, Prado R, Aguirre JJ, Sanchez M, Padilla S, Aranguren XL, Abizanda G, Collantes M, Hernandez M, Perez-Ruiz A, Penuelas I, Orive G, Prosper F. Infiltration of plasma rich in growth factors enhances in vivo angiogenesis and improves reperfusion and tissue remodeling after severe hind limb ischemia. *J Control Release* 2015b;202:31-39.
- Anitua E, Prado R, Orive G. A lateral approach for sinus elevation using PRGF technology. *Clin Implant Dent Relat Res* 2009a;11(1):23-31.

- Anitua E, Prado R, Orive G. Bilateral sinus elevation evaluating plasma rich in growth factors technology: a report of five cases. *Clin Implant Dent Relat Res* 2012b;14(1):51-60.
- Anitua E, Prado R, Orive G, Tejero R. Effects of calcium-modified titanium implant surfaces on platelet activation, clot formation, and osseointegration. *J Biomed Mater Res A* 2015c;103(3):969-980.
- Anitua E, Prado R, Sánchez M, Orive G. Platelet-rich plasma: preparation and formulation. *Operative techniques in orthopaedics* 2012c;22(1):25-32.
- Anitua E, Sanchez M, Merayo-Lloves J, De la Fuente M, Muruzabal F, Orive G. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates proliferation and migration of primary keratocytes and conjunctival fibroblasts and inhibits and reverts TGF-beta1-Induced myodifferentiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(9):6066-6073.
- Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andia I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol* 2006a;24(5):227-234.
- Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Orive G, Azofra J, Andia I. Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res A* 2006b;77(2):285-293.
- Anitua E, Sanchez M, Orive G, Andia I. The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials* 2007;28(31):4551-4560.
- Anitua E, Sanchez M, Zalduendo MM, de la Fuente M, Prado R, Orive G, Andia I. Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Prolif* 2009b;42(2):162-170.
- Anitua E, Tejero R, Zalduendo MM, Orive G. Plasma rich in growth factors promotes bone tissue regeneration by stimulating proliferation, migration, and autocrine secretion in primary human osteoblasts. *J Periodontol* 2013b;84(8):1180-1190.
- Anitua E, Zalduendo M, Troya M, Padilla S, Orive G. Leukocyte inclusion within a platelet rich plasma-derived fibrin scaffold stimulates a more pro-inflammatory environment and alters fibrin properties. *PLoS One* 2015d;10(3):1-19.
- Anitua EA. Enhancement of osseointegration by generating a dynamic implant surface. *J Oral Implantol* 2006;32(2):72-76.
- Anjayani S, Wirohadidjojo YW, Adam AM, Suwandi D, Seweng A, Amiruddin MD. Sensory improvement of leprosy peripheral neuropathy in patients treated with perineural injection of platelet-rich plasma. *Int J Dermatol* 2014;53(1):109-113.

- Argintar E, Edwards S, Delahay J. Bone morphogenetic proteins in orthopaedic trauma surgery. *Injury* 2011;42(8):730-734.
- Aricioglu C, Dolanmaz D, Esen A, Isik K, Avunduk MC. Histological evaluation of effectiveness of platelet-rich fibrin on healing of sinus membrane perforations: A preclinical animal study. *J Craniomaxillofac Surg* 2017;45(8):1150-1157.
- Arnoczky SP, Delos D, Rodeo SA. What is platelet-rich plasma? *Oper Tech Sports Med* 2011;19:142-148.
- Arnoczky SP, Sheibani-Rad S. The basic science of platelet-rich plasma (PRP): what clinicians need to know. *Sports Med Arthrosc* 2013;21(4):180-185.
- Arora S, Agnihotri N. Platelet derived biomaterials for therapeutic use: review of technical aspects. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2017;33(2):159-167.
- Arslantunali D, Dursun T, Yucel D, Hasirci N, Hasirci V. Peripheral nerve conduits: technology update. *Med Devices* 2014;7:405-424.
- Asaka T, Ohga N, Yamazaki Y, Sato J, Satoh C, Kitagawa Y. Platelet-rich fibrin may reduce the risk of delayed recovery in tooth-extracted patients undergoing oral bisphosphonate therapy: a trial study. *Clin Oral Investig* 2017;21(7):2165-2172.
- Asplund M, Nilsson M, Jacobsson A, von Holst H. Incidence of traumatic peripheral nerve injuries and amputations in Sweden between 1998 and 2006. *Neuroepidemiology* 2009;32(3):217-228.
- Atabay K, Hong C, Heil BV. The use of “sliding epineural sheath tube” for repair of peripheral nerve defects. *Plast Surg Forum* 1995;18:121-123.
- Avsar UZ, Avsar U, Aydin A, Yayla M, Ozturkcaragoz B, Un H, Saritemur M, Mercantepe T. L-carnitine alleviates sciatic nerve crush injury in rats: functional and electron microscopy assessments. *Neural Regen Res* 2014;9(10):1020-1024.
- Badiavas EV, Abedi M, Butmarc J, Falanga V, Quesenberry P. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing. *J Cell Physiol* 2003;196(2):245-250.
- Bain JR, Mackinnon SE, Hunter DA. Functional evaluation of complete sciatic, peroneal, and posterior tibial nerve lesions in the rat. *Plast Reconstr Surg* 1989;83(1):129-138.
- Bajrovic FF, Sketelj J, Jug M, Gril I, Mekjavic IB. The effect of hyperbaric oxygen treatment on early regeneration of sensory axons after nerve crush in the rat. *J Peripher Nerv Syst* 2002;7(3):141-148.
- Balcı H, Toker H. Trombositten zengin fibrin: Özellikleri ve diş hekimliğinde kullanımı. *Acta Odontologica Turcica* 2012;29(3):183-192.

- Barr ML, Kiernan JA. The human nervous system: an anatomical viewpoint. 5th Edition, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins. 1988; 2.
- Barrick B, Campbell EJ, Owen CA. Leukocyte proteinases in wound healing: roles in physiologic and pathologic processes. *Wound Repair Regen* 1999;7(6):410-422.
- Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M. Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair Regen* 2008;16(5):585-601.
- Bastami F, Vares P, Khojasteh A. Healing Effects of platelet-rich plasma on peripheral nerve injuries. *J Craniofac Surg* 2017;28(1):49-57.
- Bensaid W, Triffitt JT, Blanchat C, Oudina K, Sedel L, Petite H. A biodegradable fibrin scaffold for mesenchymal stem cell transplantation. *Biomaterials* 2003;24(14):2497-2502.
- Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM. Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1121-1130.
- Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM, Everts PA, Wiczowski A. The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1153-1162.
- Bielecki T, Gazdzik TS, Szczepanski T. Re: The effects of local platelet rich plasma delivery on diabetic fracture healing. What do we use: Platelet-rich plasma or platelet-rich gel? *Bone* 2006;39(6):1388-1389.
- Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Krol W, Wielkoszynski T. Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *J Bone Joint Surg Br* 2007;89(3):417-420.
- Bigi MM, Lewicki M, Ubios AM, Mandalunis PM. Experimental model of distraction osteogenesis in edentulous rats. *Braz Oral Res* 2011;25(3):217-224.
- Blair P, Flaumenhaft R. Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood Rev* 2009;23(4):177-189.
- Blomback B, Carlsson K, Fatah K, Hessel B, Procyk R. Fibrin in human plasma: gel architectures governed by rate and nature of fibrinogen activation. *Thromb Res* 1994;75(5):521-538.
- Blomback B, Hessel B, Hogg D, Therkildsen L. A two-step fibrinogen--fibrin transition in blood coagulation. *Nature* 1978;275(5680):501-505.
- Bonucci E, Marini E, Valdinucci F, Fortunato G. Osteogenic response to hydroxyapatite-fibrin implants in maxillofacial bone defects. *Eur J Oral Sci* 1997;105(6):557-561.

- Border WA, Noble NA. Transforming growth factor beta in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 1994;331(19):1286-1292.
- Borzini P, Mazzucco L. Platelet gels and releasates. *Curr Opin Hematol* 2005;12(6):473-479.
- Boswell SG, Cole BJ, Sundman EA, Karas V, Fortier LA. Platelet-rich plasma: a milieu of bioactive factors. *Arthroscopy* 2012;28(3):429-439.
- Boswell SG, Schnabel LV, Mohammed HO, Sundman EA, Minas T, Fortier LA. Increasing platelet concentrations in leukocyte-reduced platelet-rich plasma decrease collagen gene synthesis in tendons. *Am J Sports Med* 2014;42(1):42-49.
- Bouquet C, Nothias F. Molecular mechanisms of axonal growth. *Adv Exp Med Biol* 2007;621:1-16.
- Bowe DC, Gruber EA, McLeod NM. Nerve injury associated with orthognathic surgery. Part 1: UK practice and motor nerve injuries. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2016;54(4):362-365.
- Bowen RA, Remaley AT. Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochem Med* 2014;24(1):31-44.
- Braccini F, Dohan DM. The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic lipostructure (Coleman's technique): preliminary results. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2007;128(4):255-260.
- Braccini F, Tardivet L, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin (PRF) during middle ear surgery: preliminary results. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2009;130(3):175-180.
- Brandt KE, Mackinnon SE. Microsurgical repair of peripheral nerves and nevre grafts. In: Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM, editors. *Grabb and Smith's Plastic Surgery*. 5th Ed., Philadelphia, Lippincott-Raven. 1997; 79.
- Bridge PM, Ball DJ, Mackinnon SE, Nakao Y, Brandt K, Hunter DA, Hertl C. Nerve crush injuries--a model for axonotmesis. *Exp Neurol* 1994;127(2):284-290.
- Broos K, De Meyer SF, Feys HB, Vanhoorelbeke K, Deckmyn H. Blood platelet biochemistry. *Thromb Res* 2012;129(3):245-249.
- Bunge RP. The role of the Schwann cell in trophic support and regeneration. *J Neurol* 1994;242(1):19-21.
- Burnett MG, Zager EL. Pathophysiology of peripheral nerve injury: a brief review. *Neurosurg Focus* 2004;16(5):1-7.

- Burnouf T, Goubran HA, Chen TM, Ou KL, El-Ekiaby M, Radosevic M. Blood-derived biomaterials and platelet growth factors in regenerative medicine. *Blood Rev* 2013;27(2):77-89.
- Butt AJ, Firth SM, Baxter RC. The IGF axis and programmed cell death. *Immunol Cell Biol* 1999;77(3):256-262.
- Campbell WW. Evaluation and management of peripheral nerve injury. *Clin Neurophysiol* 2008;119(9):1951-1965.
- Canalis E. Effect of insulinlike growth factor I on DNA and protein synthesis in cultured rat calvaria. *J Clin Invest* 1980;66(4):709-719.
- Carp S. *Peripheral Nerve Injury An Anatomical and Physiological Approach for Physical Therapy Intervention*. 1st Edition, Philadelphia, F.A. Davis Company. 2015; 2-13.
- Casanas J, de la Torre J, Soler F, Garcia F, Rodellar C, Pumarola M, Climent J, Soler R, Orozco L. Peripheral nerve regeneration after experimental section in ovine radial and tibial nerves using synthetic nerve grafts, including expanded bone marrow mesenchymal cells: morphological and neurophysiological results. *Injury* 2014;45(4):2-6.
- Chandran P, Sivadas A. Platelet-rich fibrin: Its role in periodontal regeneration. *The Saudi Journal for Dental Research* 2014;5:117-122.
- Charrier JB, Monteil JP, Albert S, Collon S, Bobin S, Dohan Ehrenfest DM. Relevance of Choukroun's Platelet-Rich Fibrin (PRF) and SMAS flap in primary reconstruction after superficial or subtotal parotidectomy in patients with focal pleiomorphic adenoma: a new technique. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2008;129(4-5):313-318.
- Chen FM, Zhang J, Zhang M, An Y, Chen F, Wu ZF. A review on endogenous regenerative technology in periodontal regenerative medicine. *Biomaterials* 2010;31(31):7892-7927.
- Chen RR, Silva EA, Yuen WW, Mooney DJ. Spatio-temporal VEGF and PDGF delivery patterns blood vessel formation and maturation. *Pharm Res* 2007;24(2):258-264.
- Chierzi S, Ratto GM, Verma P, Fawcett JW. The ability of axons to regenerate their growth cones depends on axonal type and age, and is regulated by calcium, cAMP and ERK. *Eur J Neurosci* 2005;21(8):2051-2062.
- Cho HH, Jang S, Lee SC, Jeong HS, Park JS, Han JY, Lee KH, Cho YB. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. *Laryngoscope* 2010;120(5):907-913.

- Choukroun J. Advanced PRF & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates? *J Periodont Med Clin Pract* 2014;1:3.
- Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A-. Une opportunit en parodontologie: le PRF. *Implantodontie* 2000;42:55-62.
- Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006a;101(3):56-60.
- Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Dohan DM. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006b;101(3):299-303.
- Choukroun JI, Braccini F, Diss A, Giordano G, Doglioli P, Dohan DM. Influence of platelet rich fibrin (PRF) on proliferation of human preadipocytes and tympanic keratinocytes: A new opportunity in facial liposuction (Coleman's technique) and tympanoplasty?. *Rev Laryngol Otol Rhinol* 2007;128(1-2):27-32.
- Cieslik-Bielecka A, Choukroun J, Odin G, Dohan Ehrenfest DM. L-PRP/L-PRF in esthetic plastic surgery, regenerative medicine of the skin and chronic wounds. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1266-1277.
- Clark RA. Fibrin and wound healing. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:355-367.
- Collen A, Koolwijk P, Kroon M, van Hinsbergh VW. Influence of fibrin structure on the formation and maintenance of capillary-like tubules by human microvascular endothelial cells. *Angiogenesis* 1998;2(2):153-165.
- Cross JA, Cole BJ, Spatny KP, Sundman E, Romeo AA, Nicholson GP, Wagner B, Fortier LA. Leukocyte-Reduced Platelet-Rich Plasma normalizes matrix metabolism in torn human rotator cuff tendons. *Am J Sports Med* 2015;43(12):2898-2906.
- Dahlin LB. Nerve injury and repair: from molecule to man. In: Slutsky DJ, Hentz VR, editors. *Peripheral nerve surgery: practical applications in the upper extremity*. 1st Ed., Philadelphia, Churchill Livingstone Elsevier. 2006; 1-22.
- Daneyemez M. Periferik sinirin Fiziopatolojisi. In: Demircan N, Zileli M, edit rler. *Periferik sinir cerrahisi*. 1. Baskı. Ankara, Buluş Tasarım ve Matbaacılık 2008; 99-108.
- Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone JV, Rutkowski JL. Platelet-rich preparations to improve healing. Part II: platelet activation and enrichment, leukocyte inclusion, and other selection criteria. *J Oral Implantol* 2014;40(4):511-521.

- de Medinaceli L, Freed WJ, Wyatt RJ. An index of the functional condition of rat sciatic nerve based on measurements made from walking tracks. *Exp Neurol* 1982;77(3):634-643.
- deGroot J, Chusid GJ. *Correlative Neuroanatomy*. 21th Edition, Unites States of America, Appleton & Lange. 1988; 1-17.
- Del Corso M, Ehrenfest DD. Use of Autologous leukocyte and Platelet Rich Fibrin (L-PRF) in post avulsion sites. *J Implant Adv Clin Dent* 2010;1:27-35.
- Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Re: Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. *J Periodontol* 2009;80(11):1694-1697.
- Del Corso M, Vervelle A, Simonpieri A, Jimbo R, Inchingolo F, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Current knowledge and perspectives for the use of platelet-rich plasma (PRP) and platelet-rich fibrin (PRF) in oral and maxillofacial surgery part 1: Periodontal and dentoalveolar surgery. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1207-1230.
- Dellon AL, Mackinnon SE, Seiler WA. Susceptibility of the diabetic nerve to chronic compression. *Ann Plast Surg* 1988;20:117-119.
- DeLong JM, Russell RP, Mazzocca AD. Platelet-rich plasma: the PAW classification system. *Arthroscopy* 2012;28(7):998-1009.
- Demir R, Yayla M, Akpınar E, Cakir M, Calikoglu C, Ozel L, Ozdemir G, Mercantepe T. Protective effects of alpha-lipoic acid on experimental sciatic nerve crush injury in rats: assessed with functional, molecular and electromicroscopic analyses. *Int J Neurosci* 2014;124(12):935-943.
- Denapoli PM, Stilhano RS, Ingham SJ, Han SW, Abdalla RJ. Platelet-Rich Plasma in a murine model: leukocytes, growth factors, Flt-1, and muscle healing. *Am J Sports Med* 2016;44(8):1962-1971.
- Dennison DK, Vallone DR, Pinero GJ, Rittman B, Caffesse RG. Differential effect of TGF-beta 1 and PDGF on proliferation of periodontal ligament cells and gingival fibroblasts. *J Periodontol* 1994;65(7):641-648.
- Dijkstra JR, Meek MF, Robinson PH, Gramsbergen A. Methods to evaluate functional nerve recovery in adult rats: walking track analysis, video analysis and the withdrawal reflex. *J Neurosci Methods* 2000;96(2):89-96.
- Ding XG, Li SW, Zheng XM, Hu LQ, Hu WL, Luo Y. The effect of platelet-rich plasma on cavernous nerve regeneration in a rat model. *Asian J Androl* 2009;11(2):215-221.
- Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. 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* 2008;105(5):572-579.

- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006a;101(3):37-44.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006b;101(3):45-50.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, Gogly B. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006c;101(3):51-55.
- Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles Ligaments Tendons J* 2014;4(1):3-9.
- Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Del Corso M, Inchingolo F, Sammartino G. Shedding light in the controversial terminology for platelet-rich products: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), platelet-leukocyte gel (PLG), preparation rich in growth factors (PRGF), classification and commercialism. *J Biomed Mater Res A* 2010a;95(4):1280-1282.
- Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Jimbo R, Barbe G, Del Corso M, Inchingolo F, Sammartino G. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol* 2012a;13(7):1145-1152.
- Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Mishra A, Borzini P, Inchingolo F, Sammartino G, Rasmusson L, Everts PA. In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Curr Pharm Biotechnol* 2012b;13(7):1131-1137.
- Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth Factors* 2009a;27(1):63-69.

- Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol* 2010b;81(4):546-555.
- Dohan Ehrenfest DM, Lemo N, Jimbo R, Sammartino G. Selecting a relevant animal model for testing the in vivo effects of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): rabbit tricks and traps. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010c;110(4):413-416.
- Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, Jimenez P, Corso MD, Kang BS, Nally M, Lanata N, Wang HL, Quirynen M. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. *Platelets* 2017:1-14.
- Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol* 2009b;27(3):158-167.
- Doolittle RF. Structural basis of the fibrinogen-fibrin transformation: contributions from X-ray crystallography. *Blood Rev* 2003;17(1):33-41.
- Doucet C, Ernou I, Zhang Y, Llense JR, Begot L, Holy X, Lataillade JJ. Platelet lysates promote mesenchymal stem cell expansion: a safety substitute for animal serum in cell-based therapy applications. *J Cell Physiol* 2005;205(2):228-236.
- Douglas C, Anthony F, VS. Peripheral Nervous System. In: Damjanov I, Linder J, editors. *Anderson's Pathology*. 1st Ed., St. Louis, Missouri, Mosby. 1996; 2799-2810.
- Drespe IH, Polzhofer GK, Turner AS, Grauer JN. Animal models for spinal fusion. *Spine J* 2005;5(6):209-216.
- Du J, Mei S, Guo L, Su Y, Wang H, Liu Y, Zhao Z, Wang S, Liu Y. Platelet-rich fibrin/aspirin complex promotes alveolar bone regeneration in periodontal defect in rats. *J Periodontal Res* 2017;53(1):47-56.
- Ducker TB. Metabolic factors in surgery of peripheral nerves. *Surg Clin North Am* 1972;52(5):1109-1122.
- Eccleston PA, Funa K, Heldin CH. Expression of platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF alpha- and beta-receptors in the peripheral nervous system: an analysis of sciatic nerve and dorsal root ganglia. *Dev Biol* 1993;155(2):459-470.
- Ehrenfest DD, Kang BS, Del Corso M, Nally M, Quirynen M, Wang HL, Pinto NR. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a Leukocyte-and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 1: evaluation of the vibration shocks of 4 models of table centrifuges for L-PRF. *Poseido* 2014;2(2):129-139.

- Einhorn TA. The science of fracture healing. *J Orthop Trauma* 2005;19(10):4-6.
- El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, Van Dyke TE. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol* 2007;78(4):661-669.
- Elgazzar RF, Mutabagani MA, Abdelaal SE, Sadakah AA. Platelet rich plasma may enhance peripheral nerve regeneration after cyanoacrylate reanastomosis: a controlled blind study on rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2008;37(8):748-755.
- Emel E, Ergun SS, Kotan D, Gursoy EB, Parman Y, Zengin A, Nurten A. Effects of insulin-like growth factor-I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. *J Neurosurg* 2011;114(2):522-528.
- Eppley BL, Woodell JE, Higgins J. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet-rich plasma: implications for wound healing. *Plast Reconstr Surg* 2004;114(6):1502-1508.
- Ertaş M. Periferik sinirlerin anatomi, fizyoloji ve patolojik süreçleri. 1. Baskı, İstanbul, Nobel Matbaacılık. 2004; 555-562.
- Ertekin C. Santral ve periferik EMG kitabı. 1. Baskı, İzmir, Meta Basım. 2006; 73-154.
- Everts PA, Hoffmann J, Weibrich G, Mahoney CB, Schonberger JP, van Zundert A, Knape JT. Differences in platelet growth factor release and leucocyte kinetics during autologous platelet gel formation. *Transfus Med* 2006a;16(5):363-368.
- Everts PA, Knape JT, Weibrich G, Schonberger JP, Hoffmann J, Overdeest EP, Box HA, van Zundert A. Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *J Extra Corpor Technol* 2006b;38(2):174-187.
- Everts PA, van Zundert A, Schonberger JP, Devilee RJ, Knape JT. What do we use: platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res A* 2008;85(4):1135-1136.
- Faroni A, Mobasser SA, Kingham PJ, Reid AJ. Peripheral nerve regeneration: experimental strategies and future perspectives. *Adv Drug Deliv Rev* 2015;82-83:160-167.
- Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. *Laryngoscope* 2007;117(1):157-165.
- Feng DF, Chen ET, Li XY, Liu Y, Wang Y. Standardizing optic nerve crushes with an aneurysm clip. *Neurol Res* 2010;32(5):476-481.
- Feng X, Clark RA, Galanakis D, Tonnesen MG. Fibrin and collagen differentially regulate human dermal microvascular endothelial cell integrins: stabilization of α v β 3 mRNA by fibrin1. *J Invest Dermatol* 1999;113(6):913-919.

- Feng X, Yuan W. Dexamethasone enhanced functional recovery after sciatic nerve crush injury in rats. *Biomed Res Int* 2015;2015:627923.
- Fernandez-Ferro M, Fernandez-Sanroman J, Blanco-Carrion A, Costas-Lopez A, Lopez-Betancourt A, Arenaz-Bua J, Stavaru Marinescu B. Comparison of intra-articular injection of plasma rich in growth factors versus hyaluronic acid following arthroscopy in the treatment of temporomandibular dysfunction: A randomised prospective study. *J Craniomaxillofac Surg* 2017;45(4):449-454.
- Ferrara N. Role of vascular endothelial growth factor in regulation of physiological angiogenesis. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001;280(6):1358-1366.
- Fioravanti C, Frustaci I, Armellini E, Condo R, Arcuri C, Cerroni L. Autologous blood preparations rich in platelets, fibrin and growth factors. *Oral Implantol* 2015;8(4):96-113.
- Flores AJ, Lavernia CJ, Owens PW. Anatomy and physiology of peripheral nerve injury and repair. *Am J Orthop* 2000;29(3):167-173.
- Fodstad H. The neuron theory. *Stereotact Funct Neurosurg* 2001;77(1-4):20-24.
- Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med* 2009;37(11):2259-2272.
- Frostick SP, Yin Q, Kemp GJ. Schwann cells, neurotrophic factors, and peripheral nerve regeneration. *Microsurgery* 1998;18(7):397-405.
- Fu SY, Gordon T. The cellular and molecular basis of peripheral nerve regeneration. *Mol Neurobiol* 1997;14(1-2):67-116.
- Fugleholm K, Schmalbruch H, Krarup C. Early peripheral nerve regeneration after crushing, sectioning, and freeze studied by implanted electrodes in the cat. *J Neurosci* 1994;14(5):2659-2673.
- Fugleholm K, Schmalbruch H, Krarup C. Post reinnervation maturation of myelinated nerve fibers in the cat tibial nerve: chronic electrophysiological and morphometric studies. *J Peripher Nerv Syst* 2000;5(2):82-95.
- Fujioka-Kobayashi M, Miron RJ, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Choukroun J. Optimized Platelet-Rich Fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. *J Periodontol* 2017;88(1):112-121.
- Fukami MH, Salganicoff L. Human platelet storage organelles. A review. *Thromb Haemost* 1977;38(4):963-970.
- Funakoshi H, Frisen J, Barbany G, Timmusk T, Zachrisson O, Verge VM, Persson H. Differential expression of mRNAs for neurotrophins and their receptors after axotomy of the sciatic nerve. *J Cell Biol* 1993;123(2):455-465.

- Gallo G, Letourneau P. Axon guidance: proteins turnover in turning growth cones. *Curr Biol* 2002;12(16):560-562.
- Galloway EB, 3rd, Jensen RL, Dailey AT, Thompson BG, Shelton C. Role of topical steroids in reducing dysfunction after nerve injury. *Laryngoscope* 2000;110(11):1907-1910.
- Gao C, Ma S, Ji Y, Wang JE, Li J. Siatic nerve regeneration in rats stimulated by fibrin glue containing nerve growth factor: an experimental study. *Injury* 2008;39(12):1414-1420.
- Garcia JF. Changes in blood, plasma and red cell volume in the male rat, as a function of age. *Am J Physiol* 1957;190(1):19-24.
- Gartner A, Pereira T, Alves MG, Armada-da-Silva PA, Amorim I, Gomes R, Ribeiro J, Franca ML, Lopes C, Carvalho RA, Socorro S, Oliveira PF, Porto B, Sousa R, Bombaci A, Ronchi G, Fregnan F, Varejao AS, Luis AL, Geuna S, Mauricio AC. Use of poly(DL-lactide-epsilon-caprolactone) membranes and mesenchymal stem cells from the Wharton's jelly of the umbilical cord for promoting nerve regeneration in axonotmesis: in vitro and in vivo analysis. *Differentiation* 2012;84(5):355-365.
- Gendaszewska-Darmach E, Kucharska M. Nucleotide receptors as targets in the pharmacological enhancement of dermal wound healing. *Purinergic Signal* 2011;7(2):193-206.
- Geuna S, Raimondo S, Fregnan F, Haastert-Talini K, Grothe C. In vitro models for peripheral nerve regeneration. *Eur J Neurosci* 2016;43(3):287-296.
- Geuna S, Raimondo S, Ronchi G, Di Scipio F, Tos P, Czaja K, Fornaro M. Chapter 3: Histology of the peripheral nerve and changes occurring during nerve regeneration. *Int Rev Neurobiol* 2009;87:27-46.
- Ghanaati S, Booms P, A. O, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Choukroun J. Advanced platelet-rich fibrin (A-PRF)—a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *J Oral Implantol* 2014;40(6):679-689.
- Giannessi E, Coli A, Stornelli MR, Miragliotta V, Pirone A, Lenzi C, Burchielli S, Vozzi G, De Maria C, Giorgetti M. An autologously generated platelet-rich plasma suturable membrane may enhance peripheral nerve regeneration after neurotomy in an acute injury model of sciatic nerve neurotmesis. *J Reconstr Microsurg* 2014;30(9):617-626.
- Giannini S, Cielo A, Bonanome L, Rastelli C, Derla C, Corpaci F, Falisi G. Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2015;19(6):927-930.
- Gibble JW, Ness PM. Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion* 1990;30(8):741-747.

- Girault JA, Peles E. Development of nodes of Ranvier. *Curr Opin Neurobiol* 2002;12(5):476-485.
- Gonshor A. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: background and process. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002;22(6):547-557.
- Goodman CS. Mechanisms and molecules that control growth cone guidance. *Annu Rev Neurosci* 1996;19:341-377.
- Gorgulu A, Imer M, Simsek O, Sencer A, Kutlu K, Cobanoglu S. The effect of aprotinin on extraneural scarring in peripheral nerve surgery: an experimental study. *Acta Neurochir* 1998;140(12):1303-1307.
- Gospodarowicz D, Neufeld G, Schweigerer L. Fibroblast growth factor: structural and biological properties. *J Cell Physiol* 1987;(5):15-26.
- Goubier JN, Teboul F. Grading of Nerve Injuries In: Tubbs RS, Rizk E, Shoja MM, Loukas M, Spinner RJ, Barbaro N, editors. *Nerve and nerve injuries*. 1st Ed., Amsterdam, Academic Press. 2015; 603-610.
- Grando Mattuella L, Westphalen Bento L, de Figueiredo JA, Nor JE, de Araujo FB, Fossati AC. Vascular endothelial growth factor and its relationship with the dental pulp. *J Endod* 2007;33(5):524-530.
- Gray AJ, Bishop JE, Reeves JT, Laurent GJ. A alpha and B beta chains of fibrinogen stimulate proliferation of human fibroblasts. *J Cell Sci* 1993;104(2):409-413.
- Graziani F, Ivanovski S, Cei S, Ducci F, Tonetti M, Gabriele M. The in vitro effect of different PRP concentrations on osteoblasts and fibroblasts. *Clin Oral Implants Res* 2006;17(2):212-219.
- Gainor BJ. Disorders of Nerves. In: Greene WB, editor. *Netter's Orthopaedics*. 1st Ed., Philadelphia, Saunders Elsevier. 2006; 138.
- Grinsell D, Keating CP. Peripheral nerve reconstruction after injury: a review of clinical and experimental therapies. *Biomed Res Int* 2014;2014:698256.
- Grothe C, Nikkhah G. The role of basic fibroblast growth factor in peripheral nerve regeneration. *Anat Embryol* 2001;204(3):171-177.
- Gudemez E, Ozer K, Cunningham B, Siemionow K, Browne E, Siemionow M. Dehydroepiandrosterone as an enhancer of functional recovery following crush injury to rat sciatic nerve. *Microsurgery* 2002;22(6):234-241.
- Haapaniemi T, Nylander G, Kanje M, Dahlin L. Hyperbaric oxygen treatment enhances regeneration of the rat sciatic nerve. *Exp Neurol* 1998;149(2):433-438.
- Hall S. Mechanisms of repair after traumatic injury. In: Dyck PJ, Thomas PK, editors. *Peripheral neuropathy*. Philadelphia, Elsevier Saunders. 2005; 1403–1433.

- Hall SM. Regeneration in the peripheral nervous system. *Neuropathol Appl Neurobiol* 1989;15(6):513-529.
- Hare GM, Evans PJ, Mackinnon SE, Best TJ, Bain JR, Szalai JP, Hunter DA. Walking track analysis: a long-term assessment of peripheral nerve recovery. *Plast Reconstr Surg* 1992;89(2):251-258.
- Hart AM, Terenghi G, Wiberg M. Neuronal death after peripheral nerve injury and experimental strategies for neuroprotection. *Neurol Res* 2008;30(10):999-1011.
- Haynesworth SE, Bruder SPEa. Mitogenic stimulation of human mesenchymal stem cells by platelet releasate. AAOS Annual Meeting, San Francisco-USA, Abstracts. 2001.
- He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108(5):707-713.
- Heath JW, Kidd GJ, Trapp BD, Dunkley PR. Myelin maintenance by Schwann cells in the absence of axons. *Neurosci Lett* 1991;128(2):277-280.
- Helvacioglu F, Kandemir E, Karabacak B, Karatas I, Pecen A, Ercan I, Sencelikel T, Dagdeviren A. Effect of Creatine on Rat Sciatic Nerve Injury: A Comparative Ultrastructural Study. *Turk Neurosurg* 2016;28(1):128-136.
- Herbst RS. Review of epidermal growth factor receptor biology. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2004;59(2):21-26.
- Hersant B, La Padula S, SidAhmed-Mezi M, Rodriguez AM, Meningaud JP. Use of platelet-rich plasma (PRP) in microsurgery. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg* 2017;118(4):236-237.
- Hirakawa H, Okajima S, Nagaoka T, Takamatsu T, Oyamada M. Loss and recovery of the blood-nerve barrier in the rat sciatic nerve after crush injury are associated with expression of intercellular junctional proteins. *Exp Cell Res* 2003;284(2):196-210.
- Hirata K, Kawabuchi M. Myelin phagocytosis by macrophages and nonmacrophages during Wallerian degeneration. *Microsc Res Tech* 2002;57(6):541-547.
- Hock JM, Canalis E. Platelet-derived growth factor enhances bone cell replication, but not differentiated function of osteoblasts. *Endocrinology* 1994;134(3):1423-1428.
- Hock JM, Centrella M, Canalis E. Insulin-like growth factor I has independent effects on bone matrix formation and cell replication. *Endocrinology* 1988;122(1):254-260.

- Ikumi A, Hara Y, Yoshioka T, Kanamori A, Yamazaki M. Effect of local administration of platelet-rich plasma (PRP) on peripheral nerve regeneration: An experimental study in the rabbit model. *Microsurgery* 2017;1-10.
- Ilfeld BM, Preciado J, Trescot AM. Novel cryoneurolysis device for the treatment of sensory and motor peripheral nerves. *Expert Rev Med Devices* 2016;13(8):713-725.
- Iqbal J, Pepkowitz SH, Klapper E. Platelet-rich plasma for the replenishment of bone. *Curr Osteoporos Rep* 2011;9(4):258-263.
- Islamov RR, Hendricks WA, Jones RJ, Lyall GJ, Spanier NS, Murashov AK. 17 Beta-estradiol stimulates regeneration of sciatic nerve in female mice. *Brain Res* 2002;943(2):283-286.
- Israels SJ, McMillan EM, Robertson C, Singhory S, McNicol A. The lysosomal granule membrane protein, LAMP-2, is also present in platelet dense granule membranes. *Thromb Haemost* 1996;75(4):623-629.
- Jacques L, Kline DG. Response of the peripheral nerve to physical injury. In: Crockard A, Hayward R, Hoff JT, editors. *Neurosurgery. The Scientific Basis of Clinical Practice*. 3rd Ed., London, Blackwell. 2000; 516-525.
- Jameson CA. Autologous platelet concentrate for the production of platelet gel. *Laboratory Medicine* 2007;38(1):39-42.
- Johansson L, Klinth J, Holmqvist O, Ohlson S. Platelet lysate: a replacement for fetal bovine serum in animal cell culture? *Cytotechnology* 2003;42(2):67-74.
- Joseph VR, Sam G, Amol NV. Clinical evaluation of autologous platelet rich fibrin in horizontal alveolar bony defects. *J Clin Diagn Res* 2014;8(11):43-47.
- Jovani-Sancho MD, Sheth CC, Marques-Mateo M, Puche-Torres M. Platelet-Rich Plasma: a study of the variables that may influence its effect on bone regeneration. *Clin Implant Dent Relat Res* 2016;18(5):1051-1064.
- Kaijzel EL, Koolwijk P, van Erck MG, van Hinsbergh VW, de Maat MP. Molecular weight fibrinogen variants determine angiogenesis rate in a fibrin matrix in vitro and in vivo. *J Thromb Haemost* 2006;4(9):1975-1981.
- Kakudo N, Minakata T, Mitsui T, Kushida S, Notodihardjo FZ, Kusumoto K. Proliferation-promoting effect of platelet-rich plasma on human adipose-derived stem cells and human dermal fibroblasts. *Plast Reconstr Surg* 2008;122(5):1352-1360.
- Kalender AM, Dogan A, Bakan V, Yildiz H, Gokalp MA, Kalender M. Effect of Zofenopril on regeneration of sciatic nerve crush injury in a rat model. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj* 2009;4:1-7.

- Kanaya F, Firrell JC, Breidenbach WC. Sciatic function index, nerve conduction tests, muscle contraction, and axon morphometry as indicators of regeneration. *Plast Reconstr Surg* 1996;98(7):1264-1271.
- Kang H, Tian L, Thompson W. Terminal Schwann cells guide the reinnervation of muscle after nerve injury. *J Neurocytol* 2003;32(5-8):975-985.
- Kang JR, Zamorano DP, Gupta R. Limb salvage with major nerve injury: current management and future directions. *J Am Acad Orthop Surg* 2011a;19(1):28-34.
- Kang YH, Jeon SH, Park JY, Chung JH, Choung YH, Choung HW, Kim ES, Choung PH. Platelet-rich fibrin is a Bioscaffold and reservoir of growth factors for tissue regeneration. *Tissue Eng Part A* 2011b;17(3-4):349-359.
- Kaplan S, Canan S, Altunkaynak ME, Odaci E, Aslan H, Unal B. Unbiased way to estimate total quantities: the fractionator technique. *Neuroquantology* 2012a;10:54-65.
- Kaplan S, Odaci E, Canan S, Onger ME, Aslan H, Unal B. The Disector Counting Technique. *Neuroquantology* 2012b;10:44-53.
- Kaplan S, Odaci E, Unal B, Sahin B, Fornaro M. Chapter 2: Development of the peripheral nerve. *Int Rev Neurobiol* 2009;87:9-26.
- Kaplan S, Piskin A, Ayyildiz M, Aktas A, Koksall B, Ulkay MB, Turkmen AP, Bakan F, Geuna S. The effect of melatonin and platelet gel on sciatic nerve repair: an electrophysiological and stereological study. *Microsurgery* 2011;31(4):306-313.
- Kater SB, Rehder V. The sensory-motor role of growth cone filopodia. *Curr Opin Neurobiol* 1995;5(1):68-74.
- Kawase T. Platelet-rich plasma and its derivatives as promising bioactive materials for regenerative medicine: basic principles and concepts underlying recent advances. *Odontology* 2015;103(2):126-135.
- Kaya Y, Sarikcioglu L, Aslan M, Kencebay C, Demir N, Derin N, Angelov DN, Yildirim FB. Comparison of the beneficial effect of melatonin on recovery after cut and crush sciatic nerve injury: a combined study using functional, electrophysiological, biochemical, and electron microscopic analyses. *Childs Nerv Syst* 2013;29(3):389-401.
- Kazura JW, Wenger JD, Salata RA, Budzynski AZ, Goldsmith GH. Modulation of polymorphonuclear leukocyte microbicidal activity and oxidative metabolism by fibrinogen degradation products D and E. *J Clin Invest* 1989;83(6):1916-1924.
- Kerns JM. The microstructure of peripheral nerves. *Techniques in Regional Anesthesia and Pain Management* 2008;12(3):127-133.

- Kevy SV, Jacobson MS. Comparison of methods for point of care preparation of autologous platelet gel. *J Extra Corpor Technol* 2004;36(1):28-35.
- Khiste SV, Tari NR. Platelet-rich fibrin as a biofuel for tissue regeneration. *SRN Biomaterials* 2013; 627367.
- Kim JY, Jeon WJ, Kim DH, Rhyu IJ, Kim YH, Youn I, Park JW. An inside-out vein graft filled with platelet-rich plasma for repair of a short sciatic nerve defect in rats. *Neural Regen Res* 2014;9(14):1351-1357.
- King SM, Reed GL. Development of platelet secretory granules. *Semin Cell Dev Biol* 2002;13(4):293-302.
- Kingham PJ, Terenghi G. Bioengineered nerve regeneration and muscle reinnervation. *J Anat* 2006;209(4):511-526.
- Kiran NK, Mukunda KS, Tilak Raj TN. Platelet concentrates. A promising innovation in dentistry. *J Dent Sci Res* 2011;2:50-61.
- Kishimoto T, Akira S, Narazaki M, Taga T. Interleukin-6 family of cytokines and gp130. *Blood* 1995;86(4):1243-1254.
- Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Austin LL, Butler EL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). *Ann Surg* 1986;204(3):322-330.
- Kobayashi E, Fluckiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, Miron RJ. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig* 2016;20(9):2353-2360.
- Koka R, Hadlock TA. Quantification of functional recovery following rat sciatic nerve transection. *Exp Neurol* 2001;168(1):192-195.
- Krystosek A, Seeds NW. Plasminogen activator release at the neuronal growth cone. *Science* 1981;213(4515):1532-1534.
- Kubota S, Kawata K, Yanagita T, Doi H, Kitoh T, Takigawa M. Abundant retention and release of connective tissue growth factor (CTGF/CCN2) by platelets. *J Biochem* 2004;136(3):279-282.
- Kucuk L, Gunay H, Erbas O, Kucuk U, Atamaz F, Coskunol E. Effects of platelet-rich plasma on nerve regeneration in a rat model. *Acta Orthop Traumatol Turc* 2014;48(4):449-454.
- Kuffler DP. Promoting and directing axon outgrowth. *Mol Neurobiol* 1994;9(1-3):233-243.
- Kuffler DP. An assessment of current techniques for inducing axon regeneration and neurological recovery following peripheral nerve trauma. *Prog Neurobiol* 2014;116:1-12.

- Kumar RV, Shubhashini N. Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell Tissue Bank* 2013;14(3):453-463.
- Kurtoglu Z, Ozturk AH, Bagdatoglu C, Polat G, Aktekin M, Uzmanse D, Camdeviren H, Bagdatoglu O, Sargon M. Effects of trapidil after crush injury in peripheral nerve. *Acta Med Okayama* 2005;59(2):37-44.
- Lacci KM, Dardik A. Platelet-rich plasma: support for its use in wound healing. *Yale J Biol Med* 2010;83(1):1-9.
- Lee AC, Yu VM, Lowe JB, 3rd, Brenner MJ, Hunter DA, Mackinnon SE, Sakiyama-Elbert SE. Controlled release of nerve growth factor enhances sciatic nerve regeneration. *Exp Neurol* 2003;184(1):295-303.
- Lee BH, Won R, Baik EJ, Lee SH, Moon CH. An animal model of neuropathic pain employing injury to the sciatic nerve branches. *Neuroreport* 2000a;11(4):657-661.
- Lee HB, Blaufox MD. Blood volume in the rat. *J Nucl Med* 1985;26(1):72-76.
- Lee M, Doolabh VB, Mackinnon SE, Jost S. FK506 promotes functional recovery in crushed rat sciatic nerve. *Muscle Nerve* 2000b;23(4):633-640.
- Lesurtel M, Graf R, Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, Gachet C, Bader M, Clavien PA. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science* 2006;312(5770):104-107.
- Letourneau PC, Condic ML, Snow DM. Interactions of developing neurons with the extracellular matrix. *J Neurosci* 1994;14(3):915-928.
- Levitan IB, Kaczmarek LK. *The neuron: cell and molecular biology*. 4th Edition, USA, Oxford University Press. 2015; 3-23.
- Lewis T, Pickering GW, Rothschild P. Centripetal paralysis arising out of arrested bloodflow to the limb. *Heart* 1931;16:1-32.
- Li H, Han Z, Liu D, Zhao P, Liang S, Xu K. Autologous platelet-rich plasma promotes neurogenic differentiation of human adipose-derived stem cells in vitro. *Int J Neurosci* 2013;123(3):184-190.
- Lichtenfels M, Colome L, Sebben AD, Braga-Silva J. Effect of Platelet Rich Plasma and Platelet Rich Fibrin on sciatic nerve regeneration in a rat model. *Microsurgery* 2013;33(5):383-390.
- Lippman RW. Blood, plasma, and drawn blood volumes in the rat. *Proc Soc Exp Biol Med* 1947;66(1):188-191.
- Liu H, Lv P, Zhu Y, Wu H, Zhang K, Xu F, Zheng L, Zhao J. Salidroside promotes peripheral nerve regeneration based on tissue engineering strategy using Schwann cells and PLGA: in vitro and in vivo. *Sci Rep* 2017;7:1-11.

- Loike JD, Sodeik B, Cao L, Leucona S, Weitz JI, Detmers PA, Wright SD, Silverstein SC. CD11c/CD18 on neutrophils recognizes a domain at the N terminus of the A alpha chain of fibrinogen. *Proc Natl Acad Sci* 1991;88(3):1044-1048.
- Lolley RD, Bose WJ, Bastian F, Bassam B, Meyer FN, Anderson LD. Vein, silastic, and polyglycolic acid fine mesh: a comparative study in peripheral nerve repair. *Ann Plast Surg* 1995;35(3):266-271.
- Lopez-Plandolit S, Morales MC, Freire V, Etxebarria J, Duran JA. Plasma rich in growth factors as a therapeutic agent for persistent corneal epithelial defects. *Cornea* 2010;29(8):843-848.
- Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, Cenacchi A, Del Vento AM, Meotti C, Bertoja AZ, Giardino R, Fornasari PM, Mercuri M, Picci P. Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials* 2003;24(18):3095-3100.
- Lucarelli E, Beretta R, Dozza B, Tazzari PL, O'Connell SM, Ricci F, Pierini M, Squarzone S, Pagliaro PP, Oprita EI, Donati D. A recently developed bifacial platelet-rich fibrin matrix. *Eur Cell Mater* 2010;20:13-23.
- Luis AL, Amado S, Geuna S, Rodrigues JM, Simoes MJ, Santos JD, Fregnan F, Raimondo S, Veloso AP, Ferreira AJ, Armada-da-Silva PA, Varejao AS, Mauricio AC. Long-term functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurosci Methods* 2007;163(1):92-104.
- Lundborg G. Structure and function of the intraneural microvessels as related to trauma, edema formation, and nerve function. *J Bone Joint Surg Am* 1975;57(7):938-948.
- Lundborg G. Nerve regeneration and repair. A review. *Acta Orthop Scand* 1987;58(2):145-169.
- Lundborg G. A 25-year perspective of peripheral nerve surgery: evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg Am* 2000;25(3):391-414.
- Lundborg G, Dahlin LB. Structure and function of peripheral nerve. In: Gelberman RH, editor. *Operative Nerve Repair and Reconstruction*. 1st Ed., Philadelphia, JB Lippincott. 1991: 3-15.
- Lundborg G, Dahlin LB. The pathophysiology of nerve compression. *Hand Clin* 1992;8(2):215-227.
- Mackinnon SE. New directions in peripheral nerve surgery. *Ann Plast Surg* 1989;22(3):257-273.
- Mackinnon SE, Dellon AL, Hudson AR, Hunter DA. Chronic nerve compression--an experimental model in the rat. *Ann Plast Surg* 1984;13(2):112-120.

- Mackinnon SE, Dellon AL, Hudson AR, Hunter DA. A primate model for chronic nerve compression. *J Reconstr Microsurg* 1985;1(3):185-195.
- Mackinnon SE, Dellon AL, O'Brien JP. Changes in nerve fiber numbers distal to a nerve repair in the rat sciatic nerve model. *Muscle Nerve* 1991;14(11):1116-1122.
- Magalon J, Chateau AL, Bertrand B, Louis ML, Silvestre A, Giraud L, Veran J, Sabatier F. DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ Open Sport Exerc Med* 2016;2(1):1-5.
- Magremanne M, Baeyens W, Awada S, Vervaeke C. Solitary bone cyst of the mandible and platelet rich fibrin (PRF). *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 2009;110(2):105-108.
- Makwana M, Raivich G. Molecular mechanisms in successful peripheral regeneration. *FEBS J* 2005;272(11):2628-2638.
- Malhotra A, Pelletier MH, Yu Y, Walsh WR. Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. *Arch Orthop Trauma Surg* 2013;133(2):153-165.
- Martinez CE, Smith PC, Palma Alvarado VA. The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update. *Front Physiol* 2015;6:1-7.
- Martins RS, Siqueira MG, da Silva CF, Plese JP. Correlation between parameters of electrophysiological, histomorphometric and sciatic functional index evaluations after rat sciatic nerve repair. *Arq Neuropsiquiatr* 2006;64(3):750-756.
- Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP? *Implant Dent* 2001;10(4):225-228.
- Marx RE. Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62(4):489-496.
- Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology* 1998;85(6):638-646.
- Matras H. Effect of various fibrin preparations on reimplantations in the rat skin. *Osterr Z Stomatol* 1970;67(9):338-359.
- Maurer AM, Zhou B, Han ZC. Roles of platelet factor 4 in hematopoiesis and angiogenesis. *Growth Factors* 2006;24(4):242-252.

- Mautner K, Malanga GA, Smith J, Shiple B, Ibrahim V, Sampson S, Bowen JE. A call for a standard classification system for future biologic research: the rationale for new PRP nomenclature. *PM R* 2015;7(4):53-59.
- McCarrel TM, Minas T, Fortier LA. Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy. *J Bone Joint Surg Am* 2012;94(19):141-148.
- Meek MF, Dijkstra JR, Den Dunnen WF, Ijkema-Paassen J, Schakenraad JM, Gramsbergen A, Robinson PH. Functional assessment of sciatic nerve reconstruction: biodegradable poly (DLLA-epsilon-CL) nerve guides versus autologous nerve grafts. *Microsurgery* 1999;19(8):381-388.
- Menard M, Meyers KM, Prieur DJ. Demonstration of secondary lysosomes in bovine megakaryocytes and platelets using acid phosphatase cytochemistry with cerium as a trapping agent. *Thromb Haemost* 1990;63(1):127-132.
- Menorca RM, Fussell TS, Elfar JC. Peripheral nerve trauma: mechanisms of injury and recovery. *Hand clinics* 2013;29(3):317-330.
- Menovsky T, Beek JF. Laser, fibrin glue, or suture repair of peripheral nerves: a comparative functional, histological, and morphometric study in the rat sciatic nerve. *J Neurosurg* 2001;95(4):694-699.
- Mihaylova Z, Mitev V, Stanimirov P, Isaeva A, Gateva N, Ishkitiev N. Use of platelet concentrates in oral and maxillofacial surgery: an overview. *Acta Odontol Scand* 2017;75(1):1-11.
- Mihaylova Z, Stanimirov P, Mitev V, Ishkitiev N. Platelet-Derived Products and Periodontal Ligament Stem Cells. *Arch Stem Cell Res* 2015;2(1):1-7.
- Mirajullah M, Shen X. Schwann cells: leader of Nervenkitz. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 2002;14(1):30-33.
- Mishra A, Harmon K, Woodall J, Vieira A. Sports medicine applications of platelet rich plasma. *Curr Pharm Biotechnol* 2012;13(7):1185-1195.
- Moradzadeh A, Brenner MJ, Whitlock EL, Tong AY, Luciano JP, Hunter DA, Myckatyn TM, Mackinnon SE. Bipolar electrocautery: A rodent model of Sunderland third-degree nerve injury. *Arch Facial Plast Surg* 2010;12(1):40-47.
- Mortimer D, Fothergill T, Pujic Z, Richards LJ, Goodhill GJ. Growth cone chemotaxis. *Trends Neurosci* 2008;31(2):90-98.
- Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA. The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:11-30.
- Mourao CF, Valiense H, Melo ER, Mourao NB, Maia MD. Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone graft: technical note. *Rev Col Bras Cir* 2015;42(6):421-423.

- Moy OJ, Peimer CA, Koniuch MP, Howard C, Zielesny M, Katikaneni PR. Fibrin seal adhesive versus nonabsorbable microsuture in peripheral nerve repair. *J Hand Surg Am* 1988;13(2):273-278.
- Mueller BK. Growth cone guidance: first steps towards a deeper understanding. *Annu Rev Neurosci* 1999;22:351-388.
- Muller HW, Stoll G. Nerve injury and regeneration: basic insights and therapeutic interventions. *Curr Opin Neurol* 1998;11(5):557-562.
- Myers JP, Santiago-Medina M, Gomez TM. Regulation of axonal outgrowth and pathfinding by integrin-ECM interactions. *Dev Neurobiol* 2011;71(11):901-923.
- Myers RR. Morphology of the peripheral nervous system and its relationship to neuropathic pain. In: Yaksh TL, Lynch III C, Zapol WM, Maze M, Biebuyck JF, Saidman LJ, editors. *Anesthesia: Biologic Foundations*. 1st Ed., Philadelphia, Lippincott-Raven. 1998; 483-514.
- Nanditha S, Chandrasekaran B, Muthusamy S, Muthu K. Apprising the diverse facets of Platelet rich fibrin in surgery through a systematic review. *Int J Surg* 2017;46:186-194.
- Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature* 2002;420:846-852.
- Nathan C, Ding A. Nonresolving inflammation. *Cell* 2010;140(6):871-882.
- Navarro X. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration and target reinnervation in animal models: a critical overview. *Eur J Neurosci* 2016;43(3):271-286.
- Navarro X, Vivo M, Valero-Cabre A. Neural plasticity after peripheral nerve injury and regeneration. *Prog Neurobiol* 2007;82(4):163-201.
- Nehls V, Herrmann R. The configuration of fibrin clots determines capillary morphogenesis and endothelial cell migration. *Microvasc Res* 1996;51(3):347-364.
- Nichols CM, Myckatyn TM, Rickman SR, Fox IK, Hadlock T, Mackinnon SE. Choosing the correct functional assay: a comprehensive assessment of functional tests in the rat. *Behav Brain Res* 2005;163(2):143-158.
- Noble J, Munro CA, Prasad VS, Midha R. Analysis of upper and lower extremity peripheral nerve injuries in a population of patients with multiple injuries. *J Trauma* 1998;45(1):116-122.
- Nurden P, Youlouz-Marfak I, Siberchicot F, Kostrzewa E, Andia I, Anitua E, Nurden AT. Use of autologous platelet-rich clots for the prevention of local injury bleeding in patients with severe inherited mucocutaneous bleeding disorders. *Haemophilia* 2011;17(4):620-624.

- Ochoa J, Danta G, Fowler TJ, Gilliatt RW. Nature of the nerve lesion caused by a pneumatic tourniquet. *Nature* 1971;233:265-266.
- Ochoa J, Fowler TJ, Gilliatt RW. Anatomical changes in peripheral nerves compressed by a pneumatic tourniquet. *J Anat* 1972;113(3):433-455.
- Odrlijn TM, Shainoff JR, Lawrence SO, Simpson-Haidaris PJ. Thrombin cleavage enhances exposure of a heparin binding domain in the N-terminus of the fibrin beta chain. *Blood* 1996;88(6):2050-2061.
- Ogino Y, Ayukawa Y, Kukita T, Koyano K. The contribution of platelet-derived growth factor, transforming growth factor-beta1, and insulin-like growth factor-I in platelet-rich plasma to the proliferation of osteoblast-like cells. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(6):724-729.
- Oliveira EF, Mazzer N, Barbieri CH, Selli M. Correlation between functional index and morphometry to evaluate recovery of the rat sciatic nerve following crush injury: experimental study. *J Reconstr Microsurg* 2001;17(1):69-75.
- Onger ME, Kaplan S, Deniz OG, Altun G, Altunkaynak BZ, Balci K, Raimondo S, Geuna S. Possible promoting effects of melatonin, leptin and alcar on regeneration of the sciatic nerve. *J Chem Neuroanat* 2017;81:34-41.
- Orcajo B, Muruzabal F, Isasmendi MC, Gutierrez N, Sanchez M, Orive G, Anitua E. The use of plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) in the treatment of a severe mal perforant ulcer in the foot of a person with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 2011;93(2):65-67.
- Ornitz DM, Xu J, Colvin JS, McEwen DG, MacArthur CA, Coulier F, Gao G, Goldfarb M. Receptor specificity of the fibroblast growth factor family. *J Biol Chem* 1996;271(25):15292-15297.
- Oya T, Zhao YL, Takagawa K, Kawaguchi M, Shirakawa K, Yamauchi T, Sasahara M. Platelet-derived growth factor-b expression induced after rat peripheral nerve injuries. *Glia* 2002;38(4):303-312.
- Ozgenel GY, Filiz G. Combined application of human amniotic membrane wrapping and hyaluronic acid injection in epineurectomized rat sciatic nerve. *J Reconstr Microsurg* 2004;20(2):153-157.
- Ozturk O, Tezcan AH, Adali Y, Yildirim CH, Aksoy O, Yagmurdur H, Bilge A. Effect of ozone and methylprednisolone treatment following crush type sciatic nerve injury. *Acta Cir Bras* 2016;31(11):730-735.
- Pal US, Mohammad S, Singh RK, Das S, Singh N, Singh M. Platelet-rich growth factor in oral and maxillofacial surgery. *Natl J Maxillofac Surg* 2012;3(2):118-123.
- Park GY, Kwon DR. Platelet-rich plasma limits the nerve injury caused by 10% dextrose in the rabbit median nerve. *Muscle Nerve* 2014;49(1):56-60.

- Parmantier E, Lynn B, Lawson D, Turmaine M, Namini SS, Chakrabarti L, McMahon AP, Jessen KR, Mirsky R. Schwann cell-derived Desert hedgehog controls the development of peripheral nerve sheaths. *Neuron* 1999;23(4):713-724.
- Parrish WR, Roides B. Physiology of Blood Components in Wound Healing:an Appreciation of Cellular Co-Operativity in Platelet Rich Plasma Action. *J Exerc Sports Orthop* 2017;4(2):1-14.
- Pavan Kumar A, Vikram Reddy G, Raja Babu P, Jagadish Reddy G. Platelet Rich Fibrin -A Second Regeneration Platelet Concentrate and Advances in PRF. *Indian J Dent Adv* 2015;7(4):251-254.
- Paydarfar JA, Paniello RC. Functional study of four neurotoxins as inhibitors of post-traumatic nerve regeneration. *Laryngoscope* 2001;111(5):844-850.
- Pellegrini G, Seol YJ, Gruber R, Giannobile WV. Pre-clinical models for oral and periodontal reconstructive therapies. *J Dent Res* 2009;88(12):1065-1076.
- Pietrzak WS, Eppley BL. Platelet rich plasma: biology and new technology. *J Craniofac Surg* 2005;16(6):1043-1054.
- Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Del Corso M, Kang B, Wang H, Quirynen M, Ehrenfest DMD. The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors and fibrin architecture of a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF) clot and membrane. Part 2: macroscopic, photonic microscopy and Scanning Electron Microscopy analysis of 4 kinds of L-PRF clots and membranes. *Poseido* 2014;2(2):141-154.
- Piskin A, Kaplan S, Aktas A, Ayyildiz M, Raimondo S, Alic T, Bozkurt HH, Geuna S. Platelet gel does not improve peripheral nerve regeneration: an electrophysiological, stereological, and electron microscopic study. *Microsurgery* 2009;29(2):144-153.
- Powell HC, Myers RR, Costello ML, Lampert PW. Endoneurial fluid pressure in wallerian degeneration. *Ann Neurol* 1979;5(6):550-557.
- Prakash S, Thakur A. Platelet concentrates: past, present and future. *J Maxillofac Oral Surg* 2011;10(1):45-49.
- Pripatnanont P, Nuntanaranont T, Vongvatcharanon S, Phurisat K. The primacy of platelet-rich fibrin on bone regeneration of various grafts in rabbit's calvarial defects. *J Craniomaxillofac Surg* 2013;41(8):191-200.
- Raaj V, Gautam A, Kumar A, Kumari P. Platelet-rich fibrin (PRF): A new generation paltelet concentrate. *Int J Dent Med Res* 2015;1:164-167.
- Radosevich M, Goubran HI, Burnouf T. Fibrin sealant: scientific rationale, production methods, properties, and current clinical use. *Vox Sang* 1997;72(3):133-143.

- Reddington M, Novak EK, Hurley E, Medda C, McGarry MP, Swank RT. Immature dense granules in platelets from mice with platelet storage pool disease. *Blood* 1987;69(5):1300-1306.
- Reed GL, Fitzgerald ML, Polgar J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the "secrete" life of thrombocytes. *Blood* 2000;96(10):3334-3342.
- Reichert F, Saada A, Rotshenker S. Peripheral nerve injury induces Schwann cells to express two macrophage phenotypes: phagocytosis and the galactose-specific lectin MAC-2. *J Neurosci* 1994;14(5):3231-3245.
- Rempel D, Dahlin L, Lundborg G. Pathophysiology of nerve compression syndromes: response of peripheral nerves to loading. *J Bone Joint Surg Am* 1999;81(11):1600-1610.
- Rendu F, Brohard-Bohn B. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets* 2001;12(5):261-273.
- Robinson LR. Traumatic injury to peripheral nerves. *Suppl Clin Neurophysiol* 2004;57:173-186.
- Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, Sacco L, Batani T, Rezzani R. Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microsc Res Tech* 2011;74(8):772-777.
- Rodriguez FJ, Valero-Cabr e A, Navarro X. Regeneration and functional recovery following peripheral nerve injury. *Drug Discov Today Dis Models* 2004;1(2):177-185.
- Roghani RS, Rayegani SM. Basics of peripheral nerve injury rehabilitation. In: Rayegani SM, editor. *Basic Principles of Peripheral Nerve Disorders*. Croatia, In Tech. 2012; 253-261.
- Ronchi G, Nicolino S, Raimondo S, Tos P, Battiston B, Papalia I, Varejao AS, Giacobini-Robecchi MG, Perroteau I, Geuna S. Functional and morphological assessment of a standardized crush injury of the rat median nerve. *J Neurosci Methods* 2009;179(1):51-57.
- Roque JS, Pomini KT, Buchaim RL, Buchaim DV, Andreo JC, Roque DD, Rodrigues AC, Rosa GMJ, Moraes LHR, Viterbo F. Inside-out and standard vein grafts associated with platelet-rich plasma (PRP) in sciatic nerve repair. A histomorphometric study. *Acta Cir Bras* 2017;32(8):617-625.
- Rosano G, Taschieri S, Del Fabbro M. Immediate postextraction implant placement using plasma rich in growth factors technology in maxillary premolar region: a new strategy for soft tissue management. *J Oral Implantol* 2013;39(1):98-102.
- Rosenkranz S, Kazlauskas A. Evidence for distinct signaling properties and biological responses induced by the PDGF receptor alpha and beta subtypes. *Growth Factors* 1999;16(3):201-216.

- Rosenthal AR, Egbert PR, Harbury C, Hopkins JL, Rubenstein E. Use of platelet-fibrinogen-thrombin mixture to seal experimental penetrating corneal wounds. *Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol* 1978;207:111-115.
- Rosso MPO, Rosa Junior GM, Buchaim DV, German IJS, Pomini KT, de Souza RG, Pereira M, Favaretto Junior IA, Bueno CRS, Goncalves JBO, Ferreira Junior RS, Barraviera B, Andreo JC, Buchaim RL. Stimulation of morphofunctional repair of the facial nerve with photobiomodulation, using the end-to-side technique or a new heterologous fibrin sealant. *J Photochem Photobiol B* 2017;175:20-28.
- Roth F, Fernandes M, Valente SG, Santos JBG, Furukawa RB, Fernandes CH, Leite VM, Faloppa F. Platelet-Rich Fibrin Conduits as an Alternative to Nerve Autografts for Peripheral Nerve Repair. *J Reconstr Microsurg* 2017;33(8):549-556.
- Rozman P, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatovenerologica Alpina Panonica et Adriatica* 2007;16(4):156-165.
- Sabongi RG, De Rizzo LA, Fernandes M, Valente SG, Gomes dos Santos JB, Faloppa F, Leite VM. Nerve regeneration: is there an alternative to nervous graft? *J Reconstr Microsurg* 2014;30(9):607-616.
- Sahni A, Francis CW. Vascular endothelial growth factor binds to fibrinogen and fibrin and stimulates endothelial cell proliferation. *Blood* 2000;96(12):3772-3778.
- Sahni A, Guo M, Sahni SK, Francis CW. Interleukin-1beta but not IL-1alpha binds to fibrinogen and fibrin and has enhanced activity in the bound form. *Blood* 2004;104(2):409-414.
- Sahni A, Odrlic T, Francis CW. Binding of basic fibroblast growth factor to fibrinogen and fibrin. *J Biol Chem* 1998;273(13):7554-7559.
- Sakiyama-Elbert SE, Hubbell JA. Controlled release of nerve growth factor from a heparin-containing fibrin-based cell ingrowth matrix. *J Control Release* 2000;69(1):149-158.
- Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Ann Maxillofac Surg* 2011;1(1):53-57.
- Sampson S, Gerhardt M, Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review. *Curr Rev Musculoskelet Med* 2008;1(3-4):165-174.
- Sanchez M, Anitua E, Azofra J, Aguirre JJ, Andia I. Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. *Clin Exp Rheumatol* 2008;26(5):910-913.

- Sanchez M, Anitua E, Cugat R, Azofra J, Guadilla J, Seijas R, Andia I. Nonunions treated with autologous preparation rich in growth factors. *J Orthop Trauma* 2009;23(1):52-59.
- Sanchez M, Anitua E, Delgado D, Prado R, Sanchez P, Fiz N, Guadilla J, Azofra J, Pompei O, Orive G, Ortega M, Yoshioka T, Padilla S. Ultrasound-guided plasma rich in growth factors injections and scaffolds hasten motor nerve functional recovery in an ovine model of nerve crush injury. *J Tissue Eng Regen Med* 2017a;11(5):1619-1629.
- Sanchez M, Anitua E, Delgado D, Sanchez P, Prado R, Orive G, Padilla S. Platelet-rich plasma, a source of autologous growth factors and biomimetic scaffold for peripheral nerve regeneration. *Expert Opin Biol Ther* 2017b;17(2):197-212.
- Sariguney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K. Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. *J Reconstr Microsurg* 2008;24(3):159-167.
- Sarikcioglu L, Ozkan O. Yasargil-Phynox aneurysm clip: a simple and reliable device for making a peripheral nerve injury. *Int J Neurosci* 2003;113(4):455-464.
- Schilephake H. Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002;31(5):469-484.
- Schimandle JH, Boden SD. Spine update. The use of animal models to study spinal fusion. *Spine* 1994;19(17):1998-2006.
- Schnabel LV, Mohammed HO, Miller BJ, McDermott WG, Jacobson MS, Santangelo KS, Fortier LA. Platelet rich plasma (PRP) enhances anabolic gene expression patterns in flexor digitorum superficialis tendons. *J Orthop Res* 2007;25(2):230-240.
- Schultz GS, Wysocki A. Interactions between extracellular matrix and growth factors in wound healing. *Wound Repair Regen* 2009;17(2):153-162.
- Scott A, Khan KM, Roberts CR, Cook JL, Duronio V. What do we mean by the term "inflammation"? A contemporary basic science update for sports medicine. *Br J Sports Med* 2004;38(3):372-380.
- Seckel BR. Enhancement of peripheral nerve regeneration. *Muscle Nerve* 1990;13(9):785-800.
- Seddon HJ. Three types of nerve injury. *Brain* 1943;66:237.
- Seijas R, Santana-Suarez RY, Garcia-Balletbo M, Cusco X, Ares O, Cugat R. Delayed union of the clavicle treated with plasma rich in growth factors. *Acta Orthop Belg* 2010;76(5):689-693.

- Senses F, Onder ME, Kocyigit ID, Kul O, Aydin G, Inal E, Atil F, Tekin U. Effect of Platelet-Rich Fibrin on Peripheral Nerve Regeneration. *J Craniofac Surg* 2016;27(7):1759-1764.
- Serarslan Y, Bal R, Altug ME, Kontas T, Keles ON, Unal D, Unal B. Effects of trimetazidine on crush injury of the sciatic nerve in rats: a biochemical and stereological study. *Brain Res* 2009;1247:11-20.
- Shah R, Thomas R, Mehta DS. An Update on the Protocols and Biologic Actions of Platelet Rich Fibrin in Dentistry. *The European journal of prosthodontics and restorative dentistry* 2017;25(2):64-72.
- Sharma P, Maffulli N. Tendinopathy and tendon injury: the future. *Disabil Rehabil* 2008;30(20-22):1733-1745.
- Shen N, Zhu J. Application of sciatic functional index in nerve functional assessment. *Microsurgery* 1995;16(8):552-555.
- Shenaq SM, Kim JYS. Repair and grafting of peripheral nerve. In: Mathes SJ, Hentz VR, editors. *Mathes' Plastic Surgery*. 2nd Ed., Philadelphia, Saunders Elsevier. 2006; 719-744.
- Simonpieri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant Dent* 2011;20(1):2-12.
- Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol. *Implant Dent* 2009a;18(2):102-111.
- Simonpieri A, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM. The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part II: implant surgery, prosthodontics, and survival. *Implant Dent* 2009b;18(3):220-229.
- Singh A, Kohli M, Gupta N. Platelet rich fibrin: a novel approach for osseous regeneration. *J Maxillofac Oral Surg* 2012;11(4):430-434.
- Smith KG, Robinson PP. The re-innervation of the tongue and salivary glands after lingual nerve repair by stretch, sural nerve graft or frozen muscle graft. *J Dent Res* 1995;74(12):1850-1860.
- Snell RS. *Neuroanatomy: a review with questions and explanations*. 1st Edition, Boston, Little Brown & Co. 1992; 1-35.
- Snell RS. *Clinical Neuroanatomy*. 7th Edition, Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins. 2010; 71-131.

- Soadoun AP, Touati B. Soft tissue recession around implants: is it still unavoidable?-- Part II. *Pract Proced Aesthet Dent* 2007;19(2):81-87.
- Soffer E, Ouhayoun JP, Anagnostou F. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2003;95(5):521-528.
- Sohn DS, Huang B, Kim J, Park WE, Park CC. Utilization of autologous concentrated growth factors (CGF) enriched bone graft matrix (Sticky bone) and CGF-enriched fibrin membrane in Implant Dentistry. *Jr Implant Adv Cli Dent* 2015;7:11-29.
- Sta M, Cappaert NL, Ramekers D, Baas F, Wadman WJ. The functional and morphological characteristics of sciatic nerve degeneration and regeneration after crush injury in rats. *J Neurosci Methods* 2014;222:189-198.
- Stavropoulos A, Sculean A, Bosshardt DD, Buser D, Klinge B. Pre-clinical in vivo models for the screening of bone biomaterials for oral/craniofacial indications: focus on small-animal models. *Periodontol* 2015;68(1):55-65.
- Stenberg PE. Ultrastructural Organization of Maturing Megakaryocytes. In: Levine RF, Williams N, Levin J, Evatt BL, editors. *Megakaryocyte Development and Function: Progress in clinical and biological research*. New York, Liss Inc. 1986; 373–386.
- Su CY, Kuo YP, Tseng YH, Su CH, Burnouf T. In vitro release of growth factors from platelet-rich fibrin (PRF): a proposal to optimize the clinical applications of PRF. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108(1):56-61.
- Subbanna PK, Prasanna CG, Gunale BK, Tyagi MG. Acetyl salicylic acid augments functional recovery following sciatic nerve crush in mice. *J Brachial Plex Peripher Nerve Inj* 2007;2:3.
- Sumner DR, Turner TM, Urban RM. Animal models relevant to cementless joint replacement. *J Musculoskelet Neuronal Interact* 2001;1(4):333-345.
- Sun W, Sun C, Lin H, Zhao H, Wang J, Ma H, Chen B, Xiao Z, Dai J. The effect of collagen-binding NGF-beta on the promotion of sciatic nerve regeneration in a rat sciatic nerve crush injury model. *Biomaterials* 2009;30(27):4649-4656.
- Sunderland S. A classification of peripheral nerve injuries producing loss of function. *Brain* 1951;74:491-516.
- Sunderland S. The nerve lesion in the carpal tunnel syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1976;39(7):615-626.
- Sunderland S. *Nerves and Nerve Injuries*. 2nd Edition, London, Churchill Livingstone. 1978; 68-127.

- Sunderland S. The anatomy and physiology of nerve injury. *Muscle Nerve* 1990;13(9):771-784.
- Sundman EA, Cole BJ, Fortier LA. Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma. *Am J Sports Med* 2011;39(10):2135-2140.
- Sunitha Raja V, Munirathnam Naidu E. Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian J Dent Res* 2008;19(1):42-46.
- Tamaki T, Aoki N. Cross-linking of alpha 2-plasmin inhibitor and fibronectin to fibrin by fibrin-stabilizing factor. *Biochim Biophys Acta* 1981;661(2):280-286.
- Tanaka H, Toyoshima T, Atsuta I, Ayukawa Y, Sasaki M, Matsushita Y, Hiraoka R, Koyano K, Nakamura S. Additional effects of platelet-rich fibrin on bone regeneration in sinus augmentation with deproteinized bovine bone mineral: preliminary results. *Implant Dent* 2015;24(6):669-674.
- Tang Y, Wu X, Lei W, Pang L, Wan C, Shi Z, Zhao L, Nagy TR, Peng X, Hu J, Feng X, Van Hul W, Wan M, Cao X. TGF-beta1-induced migration of bone mesenchymal stem cells couples bone resorption with formation. *Nat Med* 2009;15(7):757-765.
- Tassler PL, Dellon AL, Canoun C. Identification of elastic fibres in the peripheral nerve. *J Hand Surg Br* 1994;19(1):48-54.
- Tayapongsak P, O'Brien DA, Monteiro CB, Arceo-Diaz LY. Autologous fibrin adhesive in mandibular reconstruction with particulate cancellous bone and marrow. *Journal of oral and maxillofacial surgery* 1994;52(2):161-165.
- Terzis JK, Smith KL. Repair and grafting of the peripheral nerve. In: McCarthy JG, May JW, Litter WJ, editors. *Plastic surgery*. 3rd Ed., Philadelphia, W.B. Saunders Company. 1990; 630-697.
- Tessier-Lavigne M, Goodman CS. The molecular biology of axon guidance. *Science* 1996;274(5290):1123-1133.
- Teymur H, Tiftikcioglu YO, Cavusoglu T, Tiftikcioglu BI, Erbas O, Yigitturk G, Uyanikgil Y. Effect of platelet-rich plasma on reconstruction with nerve autografts. *Kaohsiung J Med Sci* 2017;33(2):69-77.
- Thibodeau GA, Patton KT. *Structure and function of the human body*. 14th Edition, St Louis, Missouri, Elsevier. 2013; 167-203.
- Thomas PK. Invited review: focal nerve injury: guidance factors during axonal regeneration. *Muscle Nerve* 1989;12(10):796-802.
- Thomas PK, Berthold CH, Ochoa J. Microscopic anatomy of the peripheral nervous system. In: Dyck PJ, Thomas PK, Griffin JW, Low PA, Poduslo JF, editors. *Peripheral neuropathy*. 3rd Ed., Philadelphia, WB Saunders. 1993; 28-92.

- Thrailkill KM, Siddhanti SR, Fowlkes JL, Quarles LD. Differentiation of MC3T3-E1 osteoblasts is associated with temporal changes in the expression of IGF-I and IGFBPs. *Bone* 1995;17(3):307-313.
- Tiggelman AM, Boers W, Linthorst C, Sala M, Chamuleau RA. Collagen synthesis by human liver (myo)fibroblasts in culture: evidence for a regulatory role of IL-1 beta, IL-4, TGF beta and IFN gamma. *J Hepatol* 1995;23(3):307-317.
- Toffler M, Toscano N, Holtzclaw D, Corso MD, Ehrenfest DD. Introducing Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) to the reconstructive surgery milieu. *J Implant Adv Clin Dent* 2009;1(6):21-30.
- Torigoe K, Tanaka HF, Takahashi A, Awaya A, Hashimoto K. Basic behavior of migratory Schwann cells in peripheral nerve regeneration. *Exp Neurol* 1996;137(2):301-308.
- Tos P, Ronchi G, Nicolino S, Audisio C, Raimondo S, Fornaro M, Battiston B, Graziani A, Perroteau I, Geuna S. Employment of the mouse median nerve model for the experimental assessment of peripheral nerve regeneration. *J Neurosci Methods* 2008;169(1):119-127.
- Tsay RC, Vo J, Burke A, Eisig SB, Lu HH, Landesberg R. Differential growth factor retention by platelet-rich plasma composites. *J Oral Maxillofac Surg* 2005;63(4):521-528.
- Tsirogianni AK, Moutsopoulos NM, Moutsopoulos HM. Wound healing: immunological aspects. *Injury* 2006;37(1):5-12.
- Tunali M, Ozdemir H, Kucukodaci Z, Akman S, Firatli E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2013;51(5):438-443.
- Udina E, Voda J, Gold BG, Navarro X. Comparative dose-dependence study of FK506 on transected mouse sciatic nerve repaired by allograft or xenograft. *J Peripher Nerv Syst* 2003;8(3):145-154.
- van Hinsbergh VW, Collen A, Koolwijk P. Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2001;936:426-437.
- Varejao AS, Cabrita AM, Geuna S, Melo-Pinto P, Filipe VM, Gramsbergen A, Meek MF. Toe out angle: a functional index for the evaluation of sciatic nerve recovery in the rat model. *Exp Neurol* 2003;183(2):695-699.
- Varejao AS, Cabrita AM, Meek MF, Bulas-Cruz J, Melo-Pinto P, Raimondo S, Geuna S, Giacobini-Robecchi MG. Functional and morphological assessment of a standardized rat sciatic nerve crush injury with a non-serrated clamp. *J Neurotrauma* 2004a;21(11):1652-1670.

- Varejao AS, Meek MF, Ferreira AJ, Patricio JA, Cabrita AM. Functional evaluation of peripheral nerve regeneration in the rat: walking track analysis. *J Neurosci Methods* 2001;108(1):1-9.
- Varejao AS, Melo-Pinto P, Meek MF, Filipe VM, Bulas-Cruz J. Methods for the experimental functional assessment of rat sciatic nerve regeneration. *Neurol Res* 2004b;26(2):186-194.
- Voinesco F, Glauser L, Kraftsik R, Barakat-Walter I. Local administration of thyroid hormones in silicone chamber increases regeneration of rat transected sciatic nerve. *Exp Neurol* 1998;150(1):69-81.
- Walker JL, Evans JM, Meade P, Resig P, Sicken BF. Gait-stance duration as a measure of injury and recovery in the rat sciatic nerve model. *J Neurosci Methods* 1994;52(1):47-52.
- Wang KK, Nemeth IR, Seckel BR, Chakalis-Haley DP, Swann DA, Kuo JW, Bryan DJ, Cetrulo CL, Jr. Hyaluronic acid enhances peripheral nerve regeneration in vivo. *Microsurgery* 1998;18(4):270-275.
- Wang-Saegusa A, Cugat R, Ares O, Seijas R, Cusco X, Garcia-Balletbo M. Infiltration of plasma rich in growth factors for osteoarthritis of the knee short-term effects on function and quality of life. *Arch Orthop Trauma Surg* 2011;131(3):311-317.
- Weibrich G, Hansen T, Kleis W, Buch R, Hitzler WE. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration. *Bone* 2004;34(4):665-671.
- Weibrich G, Kleis WK. Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system. Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet-rich plasma. *Clin Oral Implants Res* 2002;13(4):437-443.
- Weibrich G, Kleis WK, Hafner G. Growth factor levels in the platelet-rich plasma produced by 2 different methods: curasan-type PRP kit versus PCCS PRP system. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17(2):184-190.
- Weibrich G, Kleis WK, Hitzler WE, Hafner G. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2005;20(1):118-123.
- Weibrich G, Kleis WK, Kunz-Kostomanolakis M, Loos AH, Wagner W. Correlation of platelet concentration in platelet-rich plasma to the extraction method, age, sex, and platelet count of the donor. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2001;16(5):693-699.
- Weisel JW. The mechanical properties of fibrin for basic scientists and clinicians. *Biophys Chem* 2004;112(2-3):267-276.

- Welch JA, Kraus KH, Wells MR, Blunt DG, Weremowitz J. Effect of combined administration of insulin-like growth factor and platelet-derived growth factor on the regeneration of transected and anastomosed sciatic nerve in rats. *Am J Vet Res* 1997;58(9):1033-1037.
- Whitman DH, Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *J Oral Maxillofac Surg* 1997;55(11):1294-1299.
- Winograd JM, Mackinnon SE. Peripheral nerve injuries: repair and reconstruction. In: Mathes SJ, Hentz VR, editors. *Plastic Surgery*. 2nd Ed., Philadelphia, Saunders Elsevier. 2006; 471-514.
- Wintrobe M, Lee GR, Roggs D, Bithell J, Forester J. Platelets and megakaryocytes. *Clinical Hematology*. 8th Edition, USA, Lea and Febigel Company. 1981; 355-379.
- Wolberg AS. Determinants of fibrin formation, structure, and function. *Curr Opin Hematol* 2012;19(5):349-356.
- Wolthers M, Moldovan M, Binderup T, Schmalbruch H, Krarup C. Comparative electrophysiological, functional, and histological studies of nerve lesions in rats. *Microsurgery* 2005;25(6):508-519.
- Wood MD, Moore AM, Hunter DA, Tuffaha S, Borschel GH, Mackinnon SE, Sakiyama-Elbert SE. Affinity-based release of glial-derived neurotrophic factor from fibrin matrices enhances sciatic nerve regeneration. *Acta Biomater* 2009;5(4):959-968.
- Wu CC, Wu YN, Ho HO, Chen KC, Sheu MT, Chiang HS. The neuroprotective effect of platelet-rich plasma on erectile function in bilateral cavernous nerve injury rat model. *J Sex Med* 2012;9(11):2838-2848.
- Wu YN, Wu CC, Sheu MT, Chen KC, Ho HO, Chiang HS. Optimization of platelet-rich plasma and its effects on the recovery of erectile function after bilateral cavernous nerve injury in a rat model. *J Tissue Eng Regen Med* 2013;10(10):294-304.
- Yang CC, Wang J, Chen SC, Jan YM, Hsieh YL. Enhanced functional recovery from sciatic nerve crush injury through a combined treatment of cold-water swimming and mesenchymal stem cell transplantation. *Neurol Res* 2015;37(9):816-826.
- Ye F, Li H, Qiao G, Chen F, Tao H, Ji A, Hu Y. Platelet-rich plasma gel in combination with Schwann cells for repair of sciatic nerve injury. *Neural Regen Res* 2012;7(29):2286-2292.
- Yegiyants S, Dayicioglu D, Kardashian G, Panthaki ZJ. Traumatic peripheral nerve injury: a wartime review. *J Craniofac Surg* 2010;21(4):998-1001.

- Yin WJ, Xu HT, Sheng JG, An ZQ, Guo SC, Xie XT, Zhang CQ. Advantages of Pure Platelet-Rich Plasma Compared with Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma in Treating Rabbit Knee Osteoarthritis. *Med Sci Monit* 2016;22:1280-1290.
- Yu H, Liu J, Ma J, Xiang L. Local delivery of controlled released nerve growth factor promotes sciatic nerve regeneration after crush injury. *Neurosci Lett* 2014;566:177-181.
- Yu W, Wang J, Yin J. Platelet-rich plasma: a promising product for treatment of peripheral nerve regeneration after nerve injury. *Int J Neurosci* 2011;121(4):176-180.
- Yuce S, Cemal Gokce E, Iskdemir A, Koc ER, Cemil DB, Gokce A, Sargon MF. An experimental comparison of the effects of propolis, curcumin, and methylprednisolone on crush injuries of the sciatic nerve. *Ann Plast Surg* 2015;74(6):684-692.
- Zehnder JL, Leung LL. Development of antibodies to thrombin and factor V with recurrent bleeding in a patient exposed to topical bovine thrombin. *Blood* 1990;76(10):2011-2016.
- Zhang GZ, Su T, Xu JM, Cheng ZQ. Clinical Retrospective Analysis of 9 Cases of Intraparotid Facial Nerve Schwannoma. *J Oral Maxillofac Surg* 2016;74(8):1695-1705.
- Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X. Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: a histological and histomorphometric study. *J Craniomaxillofac Surg* 2012;40(4):321-328.
- Zhang YG, Sheng QS, Wang HK, Lv L, Zhang J, Chen JM, Xu H. Triptolide improves nerve regeneration and functional recovery following crush injury to rat sciatic nerve. *Neurosci Lett* 2014;561:198-202.
- Zheng C, Zhu Q, Liu X, Huang X, He C, Jiang L, Quan D. Improved peripheral nerve regeneration using acellular nerve allografts loaded with platelet-rich plasma. *Tissue Eng Part A* 2014;20(23-24):3228-3240.
- Zheng C, Zhu Q, Liu X, Huang X, He C, Jiang L, Quan D, Zhou X, Zhu Z. Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on proliferation, neurotrophic function and migration of Schwann cells in vitro. *J Tissue Eng Regen Med* 2016;10(5):428-436.
- Zheng M, Kuffler DP. Guidance of regenerating motor axons in vivo by gradients of diffusible peripheral nerve-derived factors. *J Neurobiol* 2000;42(2):212-219.
- Zochodne DW. The microenvironment of injured and regenerating peripheral nerves. *Muscle Nerve Suppl* 2000;9:33-38.

Zochodne DW, Levy D. Nitric oxide in damage, disease and repair of the peripheral nervous system. *Cell Mol Biol* 2005;51(3):255-267.



EKLER

EK 1- Etik Kurul Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 68489742-604.01.03-E.64724
Konu : HADYEK İzin Onayı Hk.

02/07/2017

DOÇ.DR.MEHMET CİHAN BEREKET
DİŞ HĒKİMLİĐİ FAKÜLTESİ DEKANLIĞI

Laboratuvar Hayvanları üzerinde Araştırma amaçlı çalışma yapmak üzere basıvranı Doç.Dr. Mehmet Cihan BEREKET'in 2017/24 Kabul nolu "Trombositten Zengin Fibrin (PRF) ve Büyüme Faktörlerinden Zengin Trombosit (PRGF) 'nin hasarlı periferik sinir üzerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi" başlıklı projesi 30.06.2017 tarihli Kurul toplantısında ÖMU-HADYEK 'in yönergesi kapsamında değerlendirilmiş ve Hayvan Hakları ve Deneş Etik İlkelerine Uygun bulunmuştur. Karar onayı ekte sunulmuştur.

Gereğini bilgilerinize arz/rica ederim.

e-imzalıdır

Prof. Dr. Feriıt KOLBAKIR
HADYEK

Ek: 2017_24 Mehmet Cihan BEREKET

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/>
5070 Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.

Ali ÖZTÜRK
ali.ozturk@omu.edu.tr
Dahili Tel: 2782

EK 2- Başlık Değişimi Onayı



T.C.
ONDOKUZ MAYIS ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Sayı : 68489742-604-E.3726
Konu : Dilekçeniz Hk.

14/02/2018

DOÇ.DR. M.ÇİHAN BEREKET
PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ

12.02.2018 tarihli dilekçenizde 2017/24 nolu " Trombositten Zengin Fibrin (PRF) ve Büyüme Faktörlerinden Zengin Trombosit (PRGF) 'nin hasarlı periferik sinir üzerine etkisinin deneysel olarak incelenmesi" başlıklı çalışmanızın başlığının " Trombositten zengin fibrin (PRF) ve büyüme faktörlerinden zengin plazma (PRGF)'nin hasarlı periferik sinir üzerine etkilerinin deneysel olarak incelenmesi" şeklinde değiştirilmesi talebiniz kurumumuzca uygun görülmüştür.
Gereğini bilgilerinize rica ederim

e-izimlidir

Prof. Dr. Feri KOLBAKIR
HADYEK

Adres: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Rektörlüğü Ali ÖZTÜRK
Telefon: 0362 312 19 19 Faks: 0362 457 60 91 ali.ozturk@omu.edu.tr
Elektronik Ağ: <http://www.omu.edu.tr/> Kep Adresi: omu@hs01.kep.tr Dahili Tel: 2782
5070 sayılı Elektronik İmza Kanunu'na uygun olarak Güvenli Elektronik İmza ile üretilmiştir.
Evrak teyidi <https://ebysorgu.omu.edu.tr> adresinden ORRH-6DT1-0SSO kodu ile yapılabilir.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Damla TORUL

Doğum Yeri: Erzurum/Merkez

Doğum Tarihi: 10.11.1985

Medeni Hali: Bekar

Bildiği Yabancı Diller: İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

Çarşamba Merkez İlkokulu (1992-1997)

Samsun Anadolu Lisesi (1998-2004)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi (2005-2010)

Ondokuz Mayıs Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene

Cerrahisi A.D. (2014-2018)

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl:

Pazar Bilge Diş Polikliniği (2011-2012)

Ordu Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız Diş ve Çene

Cerrahisi A.D. (2012-2014)

E-posta: damlatorul@gmail.com