

Trombositten Zengin Fibrin ve Ortopedik Cerrahide Kullanımı

Platelet-Rich Fibrin and its Usage in Orthopaedic Surgery: Review

Ali Said DURMUŞ,^a
Hawa Nur CAN^a

^aCerrahi AD,
Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Elazığ

Geliş Tarihi/Received: 29.04.2016
Kabul Tarihi/Accepted: 24.05.2016

Yazışma Adresi/Correspondence:
Ali Said DURMUŞ
Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi,
Cerrahi AD, Elazığ
TÜRKİYE/TURKEY
alisaidurmus@gmail.com

ÖZET Bu çalışmada, trombositten zengin fibrin (TZF)'in ortopedik cerrahide kullanımı ile ilgili bilgi verilmesi amaçlanmıştır. Kemik defektlerinin onarımları önemli bir sorun olarak görülmektedir. Kemik iyileşmesini hızlandırmak için greft kullanımı gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan otojen, allojen ve ksenojen kemik greftlerinin bazı komplikasyonları bulunmaktadır. Otojen kemik greftleri yetersiz elde edilebilir ve donör bölge morbiditesi görülebilir. Allojen ve ksenojen kemik greftlerinin ise hastalık transferi ve greft rejeksiyonu gibi bazı önemli komplikasyonları vardır. Komplikasyon risklerini en aza indirmek için kemik grefti yerine geçen alternatif arayışlar hâlen devam etmektedir. Ortopedik cerrahide TZF'nin kullanımı günümüzde popüler hâle gelmeye başlamıştır. İkinci kuşak trombosit konsantrasyonu olan TZF, kemik defektlerinin onarımında uygulama alanı bulmaktadır. TZF trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), transforme edici büyüme faktörü-β (TGF-β), insülin benzeri büyüme faktörü-I (IGF-I), interlökin-1β (IL-1β), interlökin-4 (IL-4), interlökin-6 (IL-6), tümör nekroze edici faktör α (TNF-α) gibi birçok büyüme faktörleri ve sitokinlere sahiptir. Büyüme faktörleri, yara iyileşmesinde ve özellikle de, proliferasyon, diferansiyasyon, kemotaksis ve morfogenez gibi hücrel işlemlerin düzenlenmesinde çok önemlidir. Sitokinler ve büyüme faktörleri, hücre büyümesi, proliferasyonu, farklılaşması ve rezorpsiyonunu etkileyerek kemik ve doku rejenerasyonunu stimüle etmektedir. Bu derlemede TZF'nin özellikleri, kemik iyileşmesi üzerine hızlandırıcı etkileri ve bu konu ile ilgili son gelişmeler hakkında bilgiler verilmiş, kemik iyileşmesinde TZF ile ilgili son çalışmaların sonuçları değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kan trombositleri; fibrin; kemik yerini tutan maddeler

ABSTRACT In this review, it was aimed that give information about of usage of platelet rich fibrin (PRF) in orthopaedic surgery. Repair of bone defects is seen as a major problem. The usage of grafts are required to accelerate bone healing. There are some complications of usage of autogenous, allogeneic or xenogeneic bone grafts in repair of bone defects. Autogenous bone grafts are insufficient obtainable, and donor site morbidity can be observed. The allogeneic and xenogeneic bone grafts have some important complications such as diseases transfer and graft rejection. To minimize the risk of complications, the alternative researches of bone graft substitute is still ongoing. PRF use in orthopaedic surgery is becoming popular nowadays. PRF, which is a second-generation platelet concentration, is applied for repairing of bone defects. PRF has many growth factors and cytokines such as platelet derived growth factor (PDGF), vascular endothelial growth factor (VEGF), transforming growth factor-β (TGF-β), insulin like growth factor-I (IGF-I), interleukin-1β (IL-1β), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor-alpha (TNF-α). Growth factors are very important in wound healing and in the regulation of cellular processes especially such as proliferation, differentiation, chemotaxis and morphogenesis. Cytokines and growth factors stimulates bone and tissue regeneration by affecting cell growth, proliferation, differentiation and resorption. In this review, properties of PRF and accelerator effects on bone healing and it was informed about the latest developments regarding in this subject. The results of the recent studies about the PRF in bone healing were evaluated.

Key Words: Blood platelets; fibrin; bone substitutes

doi: 10.5336/vetsci.2016-51892

Copyright © 2016 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Vet Sci 2016;7(1):24-9

Kemik greftleri defektlerin onarımında ve kemik iyileşmesini hızlandırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır.¹⁻³ Özellikle kritik boyuttaki defektler olarak adlandırılan ve bireyin yaşamı boyunca kendiliğinden iyileşemeyecek en küçük intraosseöz yaralarda iyileşmenin sağlanabilmesi amacıyla mutlaka greft kullanımı gerekmektedir.⁴ Bu amaçla otojen, allojen ve ksenojen kemik greftleri yaygın olarak kullanılmaktadır.^{2,5,6} Otojen kemik greftleri altın standart olarak kabul edilmesine rağmen, yetersiz elde edilmesi, anestezi süresinin uzaması ile ağrı, kan kaybı, enfeksiyon ve kırık oluşması gibi bazı komplikasyonları bulunmaktadır.³ Allojen ve ksenojen greftlerin ise hastalık transferi ve reddedilebilirlik riskleri bulunmaktadır. Bu riskleri en aza indirmek için kemik grefti yerine geçen alternatif arayışlar hâlen devam etmektedir.⁷⁻¹¹ Bu çalışmada, kemik iyileşmesinin hızlandırılması amacıyla kemik grefti yerine kullanılabilen ve ikinci kuşak trombosit konsantrasyonu olan trombositten zengin fibrin (TZF)'nin özellikleri, yapısında bulundurduğu büyüme faktörleri ve konu ile ilgili çalışmalar hakkında bilgi verilmesi amaçlanmıştır.

BÜYÜME FAKTÖRLERİ VE SİTOKİNLER

İskelet sisteminin gelişiminde hormonlar ve büyüme faktörleri önemli bir rol oynamaktadır. Gerçekleştirilen pek çok çalışmada, sistemik hormonlar ve büyüme faktörlerinin sert ve yumuşak doku metabolizması üzerine olan etkileri araştırılmıştır.^{12,13} Büyüme faktörlerinin, özellikle yara iyileşmesi sürecindeki proliferasyon, diferansiyasyon, kemotaksis ve morfogenez gibi hücresel olayların düzenlenmesinde önemi bulunmaktadır.¹⁴ Sitokinler ile büyüme faktörleri; hücre büyümesi, çoğalması, farklılaşması, sekresyonu ve rezorpsiyonunu etkileyerek kemik ve doku rejenerasyonunu stimüle eder. Yara iyileşmesinde bazı spesifik hücreler tarafından salınan bu faktörlerin organizmadaki görevleri, kemotaksis, proliferasyon, hücre farklılaşması ve ekstraselüler matriks proteinlerinin üretilmesi gibi hücresel olayların çoğunu düzenlemektir. Bu görevlerini yüksek afiniteli hücre membran reseptörlerine bağlanarak yerine getirirler. Trombosit kaynaklı büyüme faktörü [platelet

derived growth factor (PDGF)], trombositlerden salgılanmasına rağmen kan plazmasında genellikle görülmemektedir. Doğrudan kana verildiğinde konsantrasyonu iki dakikadan daha kısa sürede sıfıra düşmektedir. Trombositlerin konsantrasyonunun artması ile PDGF konsantrasyonu da arttığından PDGF'lerin elde edilmesi kolaydır.^{15,16}

TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN NEDİR?

Hormonların iyileşmedeki rolünün daha iyi anlaşılması ve otojen platelet konsantrasyonlarının keşfi ile birlikte, yumuşak ve sert doku rekonstrüksiyonunda yeni bir çağa girilmiştir. Fibrin yapıştırıcıların keşfi ile başlayan bu süreç, trombositten zengin plazma (TZP) ve ardından TZF'nin uygulamaya girmesiyle devam etmektedir.¹⁷⁻²⁰

Fibrin, kandaki inaktif fibrinojenin aktive edilmiş formudur. Plazmadaki serbest fibrinojen trombosit agregasyonu ile açığa çıkan trombin tarafından aktifleştirilerek kalsiyum iyonlarının varlığında fibrin iplikler oluşturur ve oluşan bu iplikler aralarına kanın şekilli elemanlarını alarak fibrin ağı örerler. Bu bilinen normal pıhtılaşma mekanizmasıdır.²¹ Çözülebilir bir protein olan fibrinojen hemostaz sırasında, trombin tarafından çözülemeyen bir molekül olan fibrine dönüşerek, kanama bölgesinde biyolojik yapıştırıcı olan fibrin jeli meydana getirerek vasküler defekti kapatır. Bu fibrin matriks içindeki hücrelerden yara iyileşmesini uyaran büyüme faktörleri ve sitokinlerde salgılanmaktadır.²² Trombositlerin bu özelliklerinden faydalanarak fibrin yapıştırıcılar, TZP ve son olarak geliştirilen ikinci kuşak trombosit konsantrasyonu olan TZF uygulamaları geliştirilmiştir.²³

TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN NASIL HAZIRLANIR?

TZF'nin hazırlanmasında 10 mL'lik otojen kanın antikoagülan madde içermeyen steril cam tüpte 10 dk 400 g'da santrifüj edilmesiyle gerçek pıhtıya çok yakın bir oluşum elde edildiği bildirilmiştir. TZF; fibrin yapıştırıcılar, TZP gibi maddelerden farklı olarak herhangi bir antikoagülan, sıgır kaynaklı trombin veya başka jelleştirici ajan kullanılmadan

hazırlanmakta olup, diğer fibrin uygulamalarından farklı olarak TZF’de kan cam tüp yüzeyine değdiği anda pıhtılaşma olayı başlamaktadır. Santrifüj işlemi sonrasında tüpte en altta kırmızı kan hücrelerini içeren tabaka, ortada yoğun bir şekilde trombosit içeren TZF ve en üstte plazma olmak üzere üç tabaka oluşmaktadır.²⁴

TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİNİN ORTOPEDİK CERRAHİDE KULLANIMI

TZP derivelerinde antikoagülan kullanılmasından dolayı jelleştirici ajanların trombositlerin yeteri kadar aktive olmasını sağlayamadığı ve bu nedenle oluşan fibrillerin daha ince, gevşek ve yoğun olmayan bir bağ oluşturduğu, bu nedenle fibrin yapıştırıcılar gibi çabuk çözünerek istenilen etkiyi göstermediği öne sürülmüştür. TZF’deki trombositlerin ise doğal pıhtılaşma mekanizmasını aktive ederek, doğal pıhtıdaki gibi kalın organize daha kompleks bir fibrin ağı oluşturarak daha uzun etkili ve güçlü bir yapı oluşturduğu belirtilmiştir. TZF yara bölgesine uygulandıktan sonra yavaş yavaş yerini yeni dokuya bırakırken, fibrin ağı içindeki trombositlerin ortama aktardığı sitokinler yara bölgesinde sürekli olarak doku uyarımı sağlarlar. Trombositlerin tam olarak aktive olamaması granüllerdeki sitokinlerin yeteri miktarda salınımını engellediğinden ve TZP’nin yumuşak yapısından dolayı ortamdan hızla uzaklaşması nedeni ile kullanım avantajını kaybettiği ve yerini TZF’ye bıraktığı düşünülmektedir.¹⁷

Trombositlerin oluşan fibrin içinde yoğun bir şekilde bulunduğu, düşük hızda santrifüj işlemiyle meydana gelen fibrin ağının doğal fibrin ağına çok benzemesi nedeni ile trombosit ve bunların salgıladığı sitokinlerin daha rahat migrasyonuna yardımcı olduğu, TZF’nin biyolojik bir fibrin yapıştırıcıdan çok yara iyileşmesini hızlandıran bir ajan olduğu belirtilmiştir.^{17,22} Trombosit aktivasyonundan 10 dk sonra, α granüllerindeki büyüme faktörlerinin salgılandığı ve bir saat içinde de bu büyüme faktörlerinin %95’inin yara bölgesine ulaştığı bildirilmiştir. Büyüme faktörleri yaralanma sonrasında çevre dokularda iyileşmeyi başlatmaktadır.^{25,26} İn vitro çalışmalarda, PDGF’nin fibrob-

lastların üzerinde proliferatif ve kemotaktik etki yaptığı, kollajen ve protein sentezini artırarak kemik iyileşmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir.^{26,27}

TZF içerisinde lökositler tarafından salgılanıp polimorfonükleer lökosit, makrofaj gibi hücrelerin aktive edilip, inflamasyon kontrolünde görev alan sitokinler de saptanmıştır. TZF’deki sitokinler hızlı hücresel yanıtla savunma mekanizması oluştururlar. Çalışmalar, sitokinlerin remodeling aşamasında yavaş salınarak uzun dönemde etkili olduklarını göstermiştir.^{21,28}

TZF içinde PDGF, vasküler endotelial büyüme faktörü [vascular endothelial growth factor (VEGF)], transforme edici büyüme faktörü-beta [transforming growth factor (TGF- β)], insülin benzeri büyüme faktörü-I [insulin like growth factor (IGF-I)], interlökin-1 β (IL-1 β), IL-4, IL-6, tümör nekrozis faktör-alfa [tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)] gibi büyüme faktörleri ve sitokinler bulunmaktadır. Bu faktörlerin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerinden dolayı, TZF’nin kullanımı yaygınlaşmaktadır.^{22,29}

PDGF etkilerini; IGF, TGF- β , VEGF ve endotelial büyüme faktörü [endothelial growth factor (EGF)] gibi diğer bazı büyüme faktörleriyle etkileşime geçerek göstermektedir.^{30,31} PDGF, IGF-I, TGF- β ve EGF birlikte kullanıldığında insan osteoblastlarının proliferasyonunda artış olduğu bildirilmiştir. PDGF’nin yara bölgesindeki IGF ve diğer faktörleri uyararak lokal bir somatotropin etkisi oluşturduğu, böylece defekte hücre proliferasyonunu, vaskülarizasyonu ve yeniden yapılanmayı hızlandırdığı düşünülmektedir. TZF yapısındaki IL’lerin defektteki ve çevresindeki yangıyı baskılamasının yanı sıra, IL-6 ile osteoklastları uyararak remodeling ile yara iyileşmesini artırdığı düşünülmektedir.^{23,32,33}

Rezorbe olabilen bir membran ile birlikte kullanıldığında PDGF’nin kalvaryal defektlerdeki kemik rejenerasyonunu artırdığı gösterilmiştir. Bir diğer in vivo çalışmada, köpeklerdeki ağız içi defektlerde, bariyer membran ile birlikte PDGF kullanımının kemik doku ve periodontal ligament gelişiminde artışa neden olduğu bildirilmiştir.³⁴⁻³⁶

Maymunlardaki periodontal defektler üzerinde yapılan bir çalışmada, tek doz olarak yapılan PDGF uygulamasının, alveolar kemik yüksekliğinde artışa neden olduğu bildirilmektedir.³³

IGF'nin IGF-I ve IGF-II olmak üzere iki farklı formunun kemik ve dişler gibi pek çok dokunun gelişiminde etkili olduğu belirlenmiştir. Her iki IGF formu da hematopoietik hücreler, fibroblastlar ve sinir sisteminin canlılığının korunmasında görev almaktadır. IGF-II miktarı daha fazla olmakla beraber, osteoblastlar üzerinde de doza bağlı kemotaktik etkileri olduğu düşünülmektedir.^{23,33}

Trombositler ve trombositlerden kaynaklanan büyüme faktörlerinin ömürleri ve etki süreleri literatürde tartışılmıştır.^{21,28} Trombositlerin degranülasyonu ve büyüme faktörü salınımlarının ilk 3-5 gün, büyüme faktörü aktivitesinin ise 7-10 gün devam ettiği bildirilmiştir. Trombosit kaynaklı büyüme faktörlerinin direkt etkilerinin ortalama olarak ilk 5-6 günden sonra yavaş yavaş azalarak kaybolacağı, ancak aktif osteoblastların ömrü yaklaşık 3 ay olduğu için kemik rejenerasyonunun hızlanmış bir şekilde devam ettiği düşünülmektedir.^{37,38} Osteoblastlar organik matriks proteinlerini sentezlerken IGF-I, IGF-II, TGF- β , fibroblast büyüme faktörü [fibroblast growth factor (FGF)], PDGF ve kemik morfojenik protein [bone morphogenetic protein (BMP)]'leri gibi osteoblastlar tarafından üretilen büyüme faktörlerinin yapısal matriks proteinlerine katılarak büyüme faktörü etkisinin devam etmesini sağladığı bildirilmiştir.^{19,26}

TZF'nin kemik defektlerinin onarımı ile ilgili deneysel çalışmalar yapılarak olumlu sonuç alındığını bildiren raporlar bulunmaktadır.^{24,39} Shah ve ark., periodontal rejenerasyon için TZF ve dondurulmuş, kurutulmuş demineralize kemik allogreftlerini kullanmışlar ve TZF'nin birçok avantajı olduğunu ve kemik defektlerinin onarımında kullanılabileceğini bildirmişlerdir.⁴⁰ Bununla birlikte klinik olarak TZF daha çok çene kemiği defektle-

rinde kullanılmıştır. Araştırmalar kemik ve yara iyileşmesinde TZF'deki sitokinlerin etkisiyle olumlu sonuçlar alındığını gösterse de karşıt sonuçları rapor eden çalışmaların olduğu da görülmüştür. TZP'nin ardından TZF'nin keşfinden sonra yapılan karşılaştırmalı çalışmalarda yapay yolla elde edilen TZP'de trombositlerin in vivo olarak kalsiyum klorür ile aktifleştirildiği ve sığır trombinini eklenmesi sonucunda oluşan pıhtı kullanılırken, TZF'de cam tüp yüzeyine temas eden trombositlerin aktifleşerek fibrin matriks içinde doğal bir pıhtı oluşmasının yara iyileşmesinde daha etkili olduğu belirtilmiştir.^{17,22, 41-43} Choukroun ve ark., TZF'nin, hemostaz ve yara iyileşmesinde önemli görevleri olduğunu belirtmişlerdir.²³ Sinüs tabanı yükseltilmesinde TZF kullanılan çalışmalarda olumlu sonuçlar alındığı bildirilmiştir.^{19,44} Can ve Durmuş, tavşan tibia defektlerinin iyileşmesi üzerine yaptıkları bir çalışmada, TZF'nin erken dönemde kemik iyileşmesini anlamlı miktarda artırdığını ve iyi bir greft materyali olarak güvenle kullanılabileceğini bildirmişlerdir.²⁴

SONUÇ

TZF operasyon bölgesinde vasküler hemostaz ile kanamayı azaltmakta, yapısında bulundurduğu büyüme faktörleri ile dokuların vaskülarizasyonunu, yumuşak ve sert doku iyileşmesini hızlandırmaktadır. Adeziv yapısı ile birlikte kullanılabilen greft materyallerinin tespitini sağlaması, toksik olmaması, otojen olduğu için immün reaksiyonlara, enfeksiyöz hastalıkların geçişine sebep olmaması, doku uyumlu olması, kısa sürede ve kolayca hazırlanması, içerdiği sitokinler ile inflamasyon ve enfeksiyonu baskılaması gibi birçok avantajı vardır.^{23,28,44} Ayrıntılı kaynak değerlendirmeleri sonucunda, otojen TZF uygulamaları ile kemik iyileşmesinin hızlandırılabilceği, kırık tedavisi ve kemik defektlerinin onarımı gibi kemik grefti gerektiren durumlarda güvenle kullanılabileceği anlaşılmaktadır.

KAYNAKLAR

- Durmuş AS, Akpolat N, Ünsaldı E. Effect of dl-alpha-tocopherol-acetate on the Fracture Healing of Experimental Radial Diaphysis Fracture in Dogs. *F.Ü Sağlık Bil Derg* 2008;22(3):141-6.
- Durmuş AS, Ünsaldı E. [Application of autogenous fibular bone graft in experimental femoral fracture in dogs]. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları* 2004;2(3):144-50.
- Durmuş AS, Ünsaldı E. [Comparison of coral and cancellous autograft applications in experimental femoral fractures with large bone defect in dogs]. *F.Ü Sağlık Bil Derg* 2001; 15(1):101-12.
- Hollinger JO, Kleinschmidt JC. The critical size defect as an experimental model to test bone repair materials. *J Craniofac Surg* 1990;1(1):60-8.
- Durmuş AS, Eröksüz H. [Comparison of autogenous cancellous bone graft and coral applications in subchondral defects: an experimental study of knee joints in dogs]. *Doğu Anadolu Bölgesi Araştırmaları* 2008;6(3):72-7.
- Durmuş AS. [A natural bioceramic as a bone graft substitute: Coral]. *F.Ü Sağlık Bil Vet Derg* 2015;29(2):145-50.
- Kim S, Shim K, Yoon T, Kang S. Clinical application of bone forming peptide-1 for nonunion fracture healing in a dog with Cushing's disease: a case report. *Vet Med-Czech* 2015;60(9):527-31.
- Kobayashi M, Kawase T, Horimizu M, Okuda K, Wolff LF, Yoshie H. A proposed protocol for the standardized preparation of PRF membranes for clinical use. *Biologicals* 2012; 40(5):323-9.
- Mathur A, Bains VK, Gupta V, Jhingran R, Singh GP. Evaluation of intrabony defects treated with platelet-rich fibrin or autogenous bone graft: A comparative analysis. *Eur J Dent* 2015;9(1):100-8.
- Moghaddam A, Breier L, Haubruck P, Bender D, Biglari B, Wentzensen A, et al. Non-unions treated with bone morphogenetic protein 7: introducing the quantitative measurement of human serum cytokine levels as promising tool in evaluation of adjunct non-union therapy. *J Inflamm* 2016;13(3):2-9.
- Welch RD, Berry BH, Crawford K, Zhang H, Zobitz M, Bronson D, et al. Subchondral defects in caprine femora augmented with in situ setting hydroxyapatite cement, polymethylmethacrylate, or autogenous bone graft: biomechanical and histomorphological analysis after two-years. *J Orthop Res* 2002;20(3):464-72.
- Martínez CE, Smith PC, Palma Alvarado VA. The influence of platelet-derived products on angiogenesis and tissue repair: a concise update. *Front Physiol* 2015;6:290.
- Ozaki A, Tsunoda M, Kinoshita S, Saura R. Role of fracture hematoma and periosteum during fracture healing in rats. Interaction of fracture hematoma and the periosteum in the initial step of the healing process. *J Orthop Sci* 2000;5(1):64-70.
- Singh A, Ali S, Srivastava RN. Platelet-rich plasma in osteoporotic fractures: A review of literature. *J Orthop Traumatol Rehabil* 2014;7(2):123-38.
- Kim SG, Chung CH, Kim YK, Park JC, Lim SC. Use of particulate dentin plaster of Paris combination with/without platelet-rich plasma in the treatment of bone defects around implants. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2002;17(1):86-94.
- Wilson EMK, Barbieri CH, Mazzer N. Bone healing stimulation by platelet-rich autogenous plasma. An experimental study in rabbits. *Acta Ortop Bras* 2006;14(4):208-12.
- 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* 2009;27(3):158-67.
- Eravcı E, Olgun Erdikmen D. [Platelet rich plasma administrations in orthopedics]. *Türkiye Klinikleri J Vet Sci* 2014;5(2):81-4.
- Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. 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* 2006;101(3):299-303.
- Saravanakumar B, Julius A, Sarumathi T, Aarthinisha V, Manisundar N. Therapeutic effects and concepts in the use of platelet-rich fibrin (PRF) on alveolar bone repair - A literature review. *Middle East Journal of Scientific Research* 2014;19(5):669-73.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):37-44.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):e45-50.
- Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):e56-60.
- Can HN, Durmuş AS. [Effects of platelet-rich fibrin on bone healing]. *F.Ü Sağlık Bil Vet Derg* 2015;29(2):91-5.
- Du Toit J, Gluckman H, Salama M. Platelet-rich fibrin (PRF): a growth factor-rich biomaterial. Part 1 - the platelet concentrates milieu & review of the literature. *International Dentistry-African Edition* 2015;5(5):62-70.
- Hurley MM, Adams DJ, Wang L, Jiang X, Burt PM, Du E, et al. Accelerated fracture healing in transgenic mice overexpressing an anabolic isoform of fibroblast growth factor 2. *J Cel Biochem* 2016;117(3):599-611.
- Jäger M, Hemigou P, Zilkens C, Herten M, Li X, Fischer J, et al. Cell therapy in bone healing disorders. *Orthop Rev (Pavia)* 2010; 2(2):e20.
- Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101(3):e51-5.
- Khallaf FG, Kehinde EO, Mostafa A. Growth factors and cytokines in patients with long bone fractures and associated spinal cord injury. *J Orthop* 2016;13(2):69-75.
- Panda S, Jayakumar ND, Sankari M, Varghese SS, Kumar DS. Platelet rich fibrin and xenograft in treatment of intrabony defect. *Contemp Clin Dent* 2014;5(4):550-4.
- Shah M, Deshpande N, Bharwani A, Nadig P, Doshi V, Dave D. Effectiveness of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: A systematic review and meta-analysis. *J Indian Soc Periodontol* 2014;18(6):698-704.
- Dohan Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte MP, Charrier JB. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on hu-man gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009;108(3):341-52.
- Kahn AJ, Simmons DJ, Krukowski M. Osteoclast precursor cells are present in the blood of preossification chick embryos. *Dev Biol* 1981;84(1):230-4.
- Berberoğlu A. [Role of growth factor on periodontal tissue healing]. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* 2007;31(3):114-21.
- Suárez-López Del Amo F, Monje A, Padiál-Molina M, Tang Z, Wang HL. Biologic Agents for Periodontal Regeneration and Implant Site Development. *Biomed Res Int* 2015;1-10.

36. Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone* 1996;19(1 Suppl): 23S-37S.
37. Lozada JL, Caplanis N, Proussaefs P, Willardsen J, Kammeyer G. Platelet-rich plasma application in sinus graft surgery: Part 1--Background and processing techniques. *J Oral Implantol* 2001;27(1):38-42.
38. Yoshikawa T, Ohgushi H, Akahane M, Tamai S, Ichijima K. Analysis of gene expression in osteogenic cultured marrow/hydroxyapatite construct implanted at ectopic sites: a comparison with the osteogenic ability of cancellous bone. *J Biomed Mater Res* 1998;41(4): 568-73.
39. Kökdere NN, Baykul T, Findik Y. The use of platelet-rich fibrin (PRF) and PRF-mixed particulated autogenous bone graft in the treatment of bone defects: An experimental and histomorphometrical study. *Dent Res J (Isfahan)* 2015;12(5):418-24.
40. Shah M, Patel J, Dave D, Shah S. Comparative evaluation of platelet-rich fibrin with demineralized freeze-dried bone allograft in periodontal infrabony defects: A randomized controlled clinical study. *J Indian Soc Periodontol* 2015;19(1):56-60.
41. Betoni-Junior W, Dechichi P, Esteves JC, Zanetta-Barbosa D, Magalhães AE. Evaluation of the bone healing process utilizing platelet-rich plasma activated by thrombin and calcium chloride: a histologic study in rabbit calvaria. *J Oral Implantol* 2013;39(1):14-21.
42. Oral O, Papavasiliou A, Cabuk R, Nomikos G, Ozveren Y, Varol SR. A general aspect of platelet rich plasma. *IntJSCS* 2015;3(4):494-502.
43. Peng W, Kim IK, Cho HY, Seo JH, Lee DH, Jang JM, et al. The healing effect of platelet-rich plasma on xenograft in peri-implant bone defects in rabbits. *Maxillofac Plast Reconstr Surg* 2016;38(1):1-9.
44. Borie E, Oliví DG, Orsi IA, Garlet K, Weber B, Beltrán V, et al. Platelet-rich fibrin application in dentistry: a literature review. *Int J Clin Exp Med* 2015;8(5):7922-9.