

Basit Bir Yöntem ile Trombositten Zengin Plazma Elde Edilebilmesi İçin Farklı Santrifüj Devirlerinin Karşılaştırılması

The Comparison of Different Centrifugation Speeds for Obtaining Platelet Rich Plasma with a Simplified Method

Fatih ARIKAN¹ Banu YEŞİLBEK¹ Fahri ŞAHİN²

Ege Üniversitesi, ¹Dışhekek Fakültesi, Periodontoloji AD, ²Tıp Fakültesi, Hematoloji AD, İZMİR

Özet

Amaç: Trombositten zengin plazma (TZP) donör kanın trombositlerinin konsantre edilmesi ile elde edilir. TZP jelinin kalp ve sinir cerrahisinde pek çok kullanım alanı vardır. Son zamanlarda oral ve maksillofasial cerrahide kemik greftleri ile kombine edilerek hem stabilizatör, hem de büyüme faktörleri kaynağı olarak kullanımı yaygınlık kazanmıştır. Bu çalışmanın amacı TZP hazırlamak için az miktarda kan kullanımı gerektiren basit bir teknik geliştirmek ve bunun etkinliğini mevcut TZP hazırlama teknikleriyle karşılaştırmaktır.

Yöntem: Çalışmaya 14 sağlıklı gönüllü katıldı. Çalışılacak yöntemler için 8'er ml kan örneği elde edilip farklı santrifüj kuvvetleri uygulanmış elde edilen trombosit sayıları tıp fakültesi hematoloji bilim dalında değerlendirilmiştir. Uygulanan santrifüj kuvvetleri sırasıyla birinci ve ikinci santrifüj işlemi olmak üzere 1. Grup: 122G ve 177G, 2. Grup: 177G ve 314G, 3. Grup: 491G ve 768G, 4. Grup: 708G ve 1593G'dir. Tüm gruplarda santrifüj süresi her iki aşama için de on dakikadır.

Bulgular: Trombosit sayısı tüm gruplarda başlangıca göre anlamlı olarak artmıştır. En fazla trombosit, başlangıç değerinin yedi misli artış sağlayan, birinci grupta elde edilmiştir.

Sonuç: Elde edilen veriler ışığında optimal G kuvvetten birinci santrifüj işlemi için 122 G ikinci aşama için ise 177 G olarak belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Trombositten zengin plazma, santrifüj kuvveti

Abstract

Objective: Platelet-rich plasma (PRP) gel is derived from an autogenous preparation of concentrated platelets. PRP gel has numerous applications, particularly in the cardiac and neurosurgical areas. Recently, it has undergone a significant increase in use as an adhesive and source of growth factors with cancellous bone particles in oral and maxillofacial surgery bone grafting procedures. The purpose of this study was to develop a simplified technique of PRP preparation requiring low volumes of blood and to compare their efficacy with already established methods of PRP preparation. Fourteen healthy volunteers participated in the study.

Methods: Eight ml of blood samples were collected for each method and processed with four different techniques. The number obtained by each method was compared with unprocessed blood samples in hematology department of the medical school. Centrifugal forces used were (for the first and second step respectively) 1st group: 122G and 177G, 2nd group: 177G and 314G, 3rd group: 491G and 768G, 4th group: 708G and 1593G. The centrifugation time for all groups at both steps was ten minutes.

Results: The number of platelets increased significantly for all groups when compared to baseline. The highest number of platelets could be obtained in the first group, which provided seven-fold increase compared to baseline.

Conclusion: Based on the data obtained, the optimal centrifugal forces were 122 G for the first cycle and 177 G for the second cycle.

Keywords: Platelet-rich plasma, centrifugal force

Giriş

Melcher¹ tarafından periodontal rejenerasyon hipotezinin ortaya konulmasından beri, kaybolan periodontal dokularda rejenerasyona yönelik teknikler geliştirme amaçlı çalışmalar oldukça ilgi çekmiştir. Yaralanmayı takip eden tamir süreci iyi düzenlenmiş pek çok hücre-hücre arası ya da hücre-molekül arası etkileşimi içerir. Normal yara iyileşmesi sürecinde pek çok büyüme faktörü uyum içinde çalışarak hassas bir moleküler düzenleme yaparlar ve yara bölgesindeki ya da ona komşu alanlardaki hücrelerin aktivitesini düzenlerler. Subepitelyal bağ dokularını da içeren akut yaralanma sonucunda, yara bölgesindeki damarsal hasar fibrin oluşumuna ve hücrenel bir tıkaç oluşturacak olan trombosit agregasyonuna sebep olur. Yara kenarındaki trombositler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme eden büyüme faktörü, ensülin benzeri büyüme faktörü, epidermal büyüme faktörü, gibi pek çok büyüme faktörünü salgırlarlar.²

PDGF trombositler, makrofajlar ve endotel hücreleri tarafından salgılanan bir glikoproteindir. Yaralanma bölgesindeki etkinliğini gösteren ilk büyüme faktörü olduğu düşünülmektedir ve bu bölgede bulunan degranüle olmakta olan trombositlerden salınarak kemik dokusunun rejenerasyonu ve tamirini de içeren bağ dokusu iyileşmesini başlatır. PDGF'nin en önemli özellikleri arasında mitogenez, anjiyogenez ve makrofaj aktivasyonu yoluyla ikinci bir büyüme faktörü kaynağı oluşu sayılabilir.³

Transforme edici büyüme faktörü (TGF)'ler, kemik morfojenik proteinlerinde ait olduğu bir büyüme faktörleri süper ailesidir. PDGF gibi bunlar da trombositlerde, makrofajlarda ve diğer hücre tiplerinde üretilir ve depolanırlar. Trombositler tarafından serbestlendiklerinde parakrin büyüme faktörleri gibi etkinlik göstererek çoğunlukla fibroblastları, kemik iliği kök hücrelerini ve preosteoblastları etkilerler. Aynı zamanda bu hedef hücrelerde kendi TGF'lerini salgılayarak hem parakrin, hem de otokrin şekilde faaliyet gösterebilirler. Bu nedenle TGF, kemik rejenerasyonunda rol alan, hatta zaman içinde kemik remodelasyonunu da etkileyebilen önemli bir moleküldür.^{3,4}

Büyüme faktörü kaynağı olarak hayvan kaynaklı veya genetik olarak elde edilmiş büyüme faktörlerini kulla-

nan, yara iyileşmesi ve kemik rejenerasyonu üzerine hızlandırıcı etkilerini gösteren pek çok çalışma vardır.⁵⁻¹² Bütün potansiyel yararlılıklarına rağmen hayvan kaynaklı ya da genetik mühendislikle elde edilmiş büyüme faktörleri güvenilirlikleri ve etkinlikleri hala tam olarak kanıtlanamadığından pratikte rutin kullanıma henüz girememişlerdir. Bu nedenle, Trombositten zengin plazma (TZP)'nin çapraz enfeksiyon riski taşımayan otojen kaynaklı olması güvenilirliğini artırmaktadır. TZP, otolog olarak elde edilmiş bir trombosit konsantresidir.² TZP jelinin kalp ve sinir cerrahisi alanında pek çok kullanım alanı vardır. Son zamanlarda yapıştırıcı ve otojen büyüme faktörü kaynağı olarak kemik parçacıkları ile birlikte oral cerrahi ve periodontal kemik grefti cerrahilerinde kullanımı artmıştır.^{7,13-17}

TZP'nin geleneksel olarak elde edilmesi bir hücre ayrıcısı ile trombositlerin ayrılması yoluyla olur.² Fakat bu işlemin pek çok zorlukları da bulunmaktadır. Gereklili donanım son derece pahalıdır ve sadece kan bankası veya hastanelerde bulunmaktadır ki bu TZP'nin dişhekimliğinde kullanımını son derece zorlaştırmaktadır.^{18,19} Ayrıca elde edilen TZP periodontal ve plastik cerrahi uygulamaları için gerekenden çok daha fazladır ve hastaya gereksiz yere ek stres getirmektedir.

Bu konudaki literatür incelendiğinde TZP'nin elde edilmesinde kullanılan pek çok farklı yöntemin ve hızın bulunduğu belirlendi.^{13,16,19-21} Bununla beraber, yayımlanmış çalışmaların pek çoğunda, elde edilen trombositlerin sayısı belirtilmemiştir. Bu yüzden, elde edilmiş materyallerin gerçekten TZP olarak kabul edilip edilemeyeceği tartışmalıdır, çünkü TZP bir Coulter sayacı ile sayıldığında periferik kan sayımındaki trombosit sayısının ortalama %400'ü kadar trombosit içermelidir.²⁰ Bu konuda sadece Landsberg ve arkadaşlarının²⁰ yaptığı bir çalışma TZP elde edilmesinde farklı devirlerin etkinliğini değerlendirmektedir. Ancak bu çalışmada işlem sırasında pıhtılaşmayı engellemek amacıyla kullanılan EDTA, trombositler üzerinde kan bankalarının yıllardır güvenle kullandığı sodyum sitrata oranla çok daha fazla potansiyel zarara sahiptir.²⁰

Bu çalışmanın amacı günlük dişhekimliği pratiğinde rahatlıkla kullanılabilecek bir TZP hazırlama yöntemi geliştirebilmek ve farklı devirlerin trombosit sayısını arttırmadaki etkinliklerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntem

Çalışmada yaşları 22 -30 yaş arasında değişen 7 kadın ve 7 erkek toplam 14 sağlıklı bireyden alınan venöz kan örnekleri kullanıldı. Bireylerden 4'er adet 1/10 ml sodyum sitrat içeren 10 ml'lik vakumlu tüplere ve 1'er adet 1/10 sodyum sitrat içeren 2 ml'lik tüpe kan örnekleri alındı. Biri kontrol, diğer dördü çalışma gurubu olarak toplam 5 grup oluşturuldu. Her çalışma grubu belirlenen devirlerde santrifüje edilerek TZP hazırlandı (Resim 1). Her gruba uygulanan devirler Tablo 1'de izlenmektedir. İki ml'lik örnekler normal kan trombosit oranını saptamak için hiç bir işlem yapılmadan kontrol gurubunu oluşturmak üzere sayıma alındı.



Resim 1. TZP hazırlamak için gerekli santrifüj cihazı. Soldan sağa: iğne, tutucu, sitratlı vakumlu tüp, boş 10 cc tüp, 5'lik enjektör

Tablo 1. Grupların santrifüj devirler ve G kuvveti karşılıkları

Grup	1. Santrifüj		2. Santrifüj	
	devir/dk.	G	devir/dk.	G
Kontrol	0	0	0	0
1. Grup	1000	122	1200	177
2. Grup	1200	177	1600	314
3. Grup	2000	491	2500	768
4. Grup	2400	708	3600	1593

Örnekler her grupta önce düşük olan devirde 10 dakika santrifüj edilerek kanın trombositleri de içeren serum katmanı ile diğer şekilli elemanlarının ayrılması sağlandı (Resim 2). Bu işlem sonrasında tüpte üstte açık sarı renkli, altta ise kırmızı renkli iki ayrı katman oluştu. Tüplerin içinden üstteki sarı renkli serum ve seruma yakın seviyedeki kırmızı renkli kan hücreleri içeren katman bir başka boş tüpe aktarıldı. Her grup belirlenen devirlerde ikinci kez 10 dakika santrifüj edildi. Bu işlemden sonra tüpteki ayrılmış olan plazmanın yüzeyinden yavaşça aşağı inerken trombositten zayıf plazma enjektörle çekilerek uzaklaştırıldı. Geriye kalan 1 ml sıvı trombositten zengin plazmayı oluşturdu. Bu sıvı karıştırılarak homojenize edildi ve sayım için laboratuvara gönderildi (Resim 3).



Resim 2. Elde edilen kanın ilk santrifüj işleminden sonraki şekilli elemanları ve plazmanın ayrılmış hali



Resim 3. Kanın şekilli elemanları ve plazmanın farklı toplere alınmış, 2. santrifüj işleminden sonra TFP alındıktan sonra kalan TZP ve homojenize

Trombositten fakir plazma (TFP) Yaklaşık 4 ml

Trombositten zengin plazma (TZP) Yaklaşık 1 ml

Kırmızı kan hücreleri Yaklaşık 4 ml

Plazma öngörülen ikinci devirle tekrar santrifüje edildi.

Tüpün üstünden başlanarak aşağıda 1 ml serum kalacak şekilde trombositten fakir plazma atıldı.

Homojenize edildikten sonra örnek sayım için hematoloji laboratuvarına gönderildi.

Tablo 2. Farklı santrifüj devirlerinde elde edilen mililitredeki trombosit sayıları

Hasta No:	Cinsiyet	Kontrol	1. Grup	2. Grup	3. Grup	4. Grup
1	Erkek	301	1560	914	570	187
2	Erkek	191	1590	1600	778	476
3	Erkek	233	1420	2260	153	509
4	Erkek	283	1521	1980	897	1530
5	Erkek	267	1570	1460	893	2060
6	Erkek	220	1720	2250	673	506
7	Erkek	302	2730	4520	1570	1030
8	Kadın	261	2530	1660	711	766
9	Kadın	124	2280	1660	1330	543
10	Kadın	231	2400	1090	659	287
11	Kadın	299	1660	688	627	174
12	Kadın	272	1090	896	332	210
13	Kadın	204	1960	2260	2110	1680
14	Kadın	231	1380	389	278	138

Tablo 3. Grupların ortalama trombosit sayıları, kontrol grubuna göre artış indeksi ve standart hataları

Grup	Trombosit Sayısı/ml	Artış Endeksi*	Artış Endeksi Standart*
Kontrol	269.000	100	-
1. Grup	1.883.000	700	1,11
2. Grup	1.459.000	541	1,20
3. Grup	769.000	286	1,22
4. Grup	575.000	214	1,28

* Standart hatalar çarpımsaktır.

Örneklerdeki trombosit sayıları Tıp Fakültesi Hastanesi hematoloji laboratuvarında CELL-DYN 4000 kan sayım cihazında empedans yöntemi ile belirlendi. Artış endeksleri çarpımsal değerler olarak hesaplandı. İçin grupların artış endeksleri karşılaştırılırken logaritmik değerlerin arasındaki farklar, standart hataların logaritmik değerlerinden hesaplanan farkın standart hatasına bölünerek t-testi ile değerlendirildi ($p=0,05$).

Bulgular

Tüm çalışma gruplarında normal kan değerlerine kıyasla trombosit sayısı arttı. Bireysel değerler Tablo 2'de; grupların ortalamaları ise Tablo 3'de görülmektedir.

Düşük G kuvvetlerinin kullanıldığı gruplarda (1. ve 2. gruplar) sağlanan trombosit sayısı artışları birbirleriyle istatistiksel açıdan benzer bulundu ($p>0,05$).

Yüksek kuvvetlerin değerlendirildiği gruplar (3. ve 4. gruplar) kendi içlerinde değerlendirildiklerinde ise istatistiksel olarak birbirlerine benzer oranda trombosit artışı sağladılar ($p>0,05$). Yüksek G kuvvetlerinin kullanıldığı gruplardaki trombosit sayısındaki artış düşük kuvvetlerin kullanıldığı gruplara oranla daha az bulundu. Gruplar arasındaki bu farklar istatistiksel olarak anlamlıdır ($p<0,01$).

Tartışma

Büyüme faktörleri doku tamirinde stratejik önemi olan; hücre proliferasyonu, kemotaksi, diferansiyasyon ve matris sentezi gibi hücreyel olayları regüle eden doğal biyolojik medyatörlerin bir grubudur.³ Hayvan kaynaklı ya da genetik olarak elde edilmiş büyüme kaynaklarının aksine TZP, uygun koşullarda hazırlandığında ve aseptik bir ortamda kullanıldığında yabancı materyallere bağlı kontaminasyon ve çapraz

enfeksiyon olasılığını tamamen ortadan kalkmaktadır.² Enfeksiyöz hastalıkları (ör: BSE, HIV ve hepatit), alerjik ya da immünolojik etkilerin oluşma riski minimuma inmektedir.

TZP'nin periodontal rejenerasyonda ve maksilofasiyal cerrahide kemik greftleriyle birlikte kullanılması kemik rejenerasyonu artırabilmesi ve teknik uygulama kolaylığı sağlaması nedeniyle yararlı bir yöntem olarak görülmektedir.^{12,14,16,17} Bu konuda yayınlanmış olan hayvan, hücre ve insan çalışmaları başarılı sonuçlarını ortaya koymuştur.^{18,22,23}

TZP birkaç yöntemle elde edilebilmektedir. Hastanelerde uygulanan ototransfüzyon sistemi veya *random* trombosit yöntemi en çok kullanılanlardır. Bu yöntemlerle büyük miktarda TZP elde edilebilir olmasına karşın elde edilme sürelerinin uzun ve pahalı olması yöntemin önemli dezavantajlarıdır. Ayrıca bu işlemler için hastaların kan bankasına gönderilme zorunluluğu TZP'nin günlük kullanıma girmesine engel olmaktadır. Küçük cerrahi işlemler için düşük hacimler yeterli olabilmekte ve bu yöntem kolay ve ucuz olduğundan kullanım alanı bulabilmektedir. Bu nedenle basit bir santrifüj ile hastadan alınan küçük hacimde kandan TZP elde edilmesi kolay ve ucuz bir yöntemdir. Alman kanın %10'u TZP olarak kullanılmaktadır. Bu amaçla birkaç ticari sistem ve kit geliştirilmiştir. Bu konudaki çalışmalar incelendiğinde de çok farklı devirler ve süreler olduğu gözlenmektedir.^{13-17,24} Bu çalışmanın amacı farklı devir ve süreleri karşılaştırarak optimum devirin (G kuvveti) saptanmasıydı. Bu çalışmada iki aşamalı santrifüj işleminin tercih edilme nedeni ilk santrifüjle kanın diğer şekilli elemanlarını ayırarak trombositlerin daha yüksek devirlerde tüpün tabanında biriken daha ağır hücrelerle karışmasını engellemektir. Santrifüj işlemi 250 G üzerinde olduğunda trombositlerin aşırı sıkıştırılarak çökerek bir yumak oluşturmalarına ve tekrar ayrılamamalarına sebep olacaktır.^{2,19} Trombositlerin aktive olmaları ve büyüme faktörlerini salgılayabilmeleri için trombin ile temas etmeleri gereklidir. Trombositler bir yumak haline gelirse sadece dış yüzdekiler trombin ile temas edebileceğinden içeride kalan trombositler aktive olamayacak sadece dış kısımdaki, aktive olabilmiş az sayıdaki bu hücre trombosit kaynaklı faktörleri salgılayacaktır. Bu olumsuzluğun önlenmesi için en yüksek sayıdaki trombositin

elde edileceği düşük santrifüj güçleri kullanılmalıdır. Süre artırılarak toplanan trombosit yoğunluğu artırılabilir.^{20,21} Bu çalışmadan elde ettiğimiz verilere göre klinik ortamında kolay TZP elde edebilmek için gerekli optimal koşullar 1. grupta elde edildi. Buna göre, sıratlı tüpe alınan kan örnekleri önce 122 G ile santrifüje edildikten sonra üstteki serum kısmı ayrılarak tekrar 177 G ile işleme tabi tutulmalı, üstte biriken trombositten fakir plazma doku yapıştırıcısı olarak ayrılmalı sonra elde edilen TZP kalsiyum klorür ve trombin ilave edilerek kullanılmalıdır. Bu yöntemle elde edilen TZP'nin trombosit aktivasyonu ve bunun yara iyileşmesine ve yeni kemik oluşumuna katkılarını anlamak için yeni çalışmalara gerek vardır.

Kaynaklar

1. Melcher AH. Wound repair in the periodontium of the rat incisor. *Arch Oral Biol* 1967; 12: 1645-1647.
2. Lynch SE, Genco RJ, Marx RE. Tissue Engineering. Quintessence, ABD, 1999.
3. Trowbridge HQ, Emling RC. Inflammation. A review of the process. 5th Ed., Quintessence, ABD, 1997, 7-11.
4. Lee MB. Bone morphogenetic proteins: background and implications for oral reconstruction. A review. *J Clin Periodontol* 1997; 24: 355-365.
5. Gruber R, Varga F, Fischer MB, Walzek G. Platelets stimulate proliferation of bone cells: involvement of platelet-derived growth factor, microparticles and membranes. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13: 529-535.
6. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 638-646.
7. Blumenthal NM, Koh-Kunst G, Alves ME, Miranda D, Sorensen RG, Wozney JM, Wikesjo UM. Effect of surgical implantation of recombinant human bone morphogenetic protein-2 in a bioabsorbable collagen sponge or calcium phosphate putty carrier in intrabony periodontal defects in the baboon. *J Periodontol* 2002; 73: 1494-1506.
8. Weber FE, Eyrich G, Gratz KW, et al. Slow and continuous application of human recombinant bone morphogenetic protein via biodegradable poly(lactide-co-glycolide) foamspheres. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31: 60-65.
9. King GN, Hughes FJ. Effects of occlusal loading on ankylosis, bone, and cementum formation during bone morphogenetic protein-2-stimulated periodontal regeneration *in vivo*. *J Periodontol* 1999; 70: 1125-1135.

10. Nagao H, Tachikawa N, Miki T, Oda M, Mori M, Takahashi K, Enomoto S. Effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 on bone formation in alveolar ridge defects in dogs. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31: 66-72.
11. Howell TH, Fiorellini JP, Paquette DW, Offenbacher S, Giannobile WV, Lynch SE. A phase I/II clinical trial to evaluate a combination of recombinant human platelet-derived growth factor-BB and recombinant human insulin-like growth factor-I in patients with periodontal disease. *J Periodontol* 1997; 68: 1186-1193.
12. Becker W, Lynch SE, Lekholm U, Becker BE, Caffesse R, Donath K, Sanchez R. A comparison of ePTFE membranes alone or in combination with platelet-derived growth factors and insulin-like growth factor-I or demineralized freeze-dried bone in promoting bone formation around immediate extraction socket implants. *J Periodontol* 1992; 63: 929-940.
13. Kassolis JD, Rosen PS, Reynolds MA. Alveolar ridge and sinus augmentation utilizing platelet-rich plasma in combination with freeze-dried bone allograft: case series. *J Periodontol* 2000; 71: 1654-1661.
14. Shanaman R, Filstein MR, Danesh-Meyer MJ. Localized ridge augmentation using GBR and platelet-rich plasma: case reports. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2001; 21: 345-355.
15. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontol Res* 2002; 37: 300-306.
16. Whitman DH, Berry RL. A technique for improving the handling of particulate cancellous bone and marrow grafts using platelet gel. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 1217-1218.
17. Fennis JP, Stoeltinga PJ, Jansen JA. Mandibular reconstruction: a clinical and radiographic animal study on the use of autogenous scaffolds and platelet-rich plasma. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2002; 31: 281-286.
18. Gonshor A. Technique for producing platelet-rich plasma and platelet concentrate: background and process. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002; 22: 547-557.
19. Eby BW. Platelet-rich plasma: harvesting with a single-spin centrifuge. *J Oral Implantol* 2002; 28: 297-301.
20. Appel TR, Potzsch B, Muller J, von Lindern JJ, Berge SJ, Reich RH. Comparison of three different preparations of platelet concentrates for growth factor enrichment. *Clin Oral Implants Res* 2002; 13: 522-528.
21. Lekovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Kenney EB. Comparison of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral, and guided tissue regeneration versus platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral in the treatment of intrabony defects: a reentry study. *J Periodontol* 2002; 73: 198-205.
22. Kobony M, Polini F, Costa F, Politi M. Osteogenesis distraction and platelet-rich plasma for bone restoration of the severely atrophic mandible: preliminary results. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 630-635.
23. Kanno T, Takahashi T, Tsujisawa T, Ariyoshi W, Nishihara T. Platelet-rich plasma enhances human osteoblast-like cell proliferation and differentiation. *J Oral Maxillofac Surg* 2005; 63: 362-369.
24. Landesberg R, Roy M, Glickman RS. Quantification of growth factor levels using a simplified method of platelet-rich plasma gel preparation. *J Oral Maxillofac Surg* 2000; 58: 297-300.
25. Tozum TF, Demiralp B. Platelet-rich plasma: a promising innovation in dentistry. *J Can Dent Assoc* 2003; 69: 664.

Yazışma Adresi:

Dr. Fatih ARIKAN
Ege Üniversitesi,
Dişhekimliği Fakültesi,
Periodontoloji AD,
35100 Bornova, İZMİR
Tel : (232) 388 22 05
Faks : (232) 388 03 25
E-posta : fatih.arikan@ege.edu.tr