

# YENİ NESİL TROMBOSİT ÜRÜNLERİ:

Prof. Dr. Menemşe Gümüşderelioğlu

Arş. Gör. Sena Koç

[ Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

# PRP ve PRF

**Sadece yarım saatlik bir süre sonunda kendi kanınızdan elde edilen trombosit türevi yapıların vücudunuzdaki birçok hasara çözüm getirebileceğini söylesek ne düşünürdünüz?**

2000'li yılların başında yayınlanan bir makale ile diş hekimleri ve plastik cerrahlar arasında popülaritesi artan, şimdilerde ise cilt ve diş tedavisi, kas ve bağ dokusu onarımı, hatta veterinerlik uygulamaları gibi birçok klinik uygulamada tercih edilen trombositten zengin plazma (PRP), bilim insanları için büyük merak konusu. Öyle ki ikinci nesil trombosit ürünü olarak adlandırılan trombositten zengin fibrin (PRF) kullanımına olan ilgi de günden güne artmakta. Peki, trombosit ürünleri neden bu kadar önemli ve yaşam kalitemizi nasıl etkiliyor?

## Kan Pulcukları: Trombositler

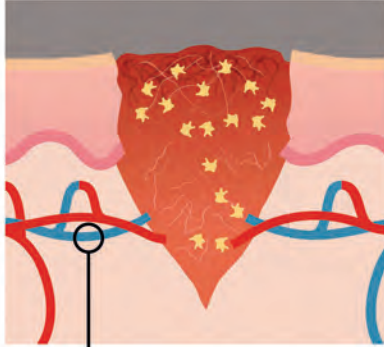
Kan hücreleri temel olarak kırmızı kan hücreleri (eritrosit), beyaz kan hücreleri (lökosit) ve trombositlerdir. Platelet ya da halk arasında kan pulcuğu olarak da bilinen trombositler, boyutları 2 ile 4 mikrometre arasında değişen, renksiz hücre parçacıklarıdır. Trombositler, yara iyileşme sürecinde pıhtı oluşumunu sağlayarak doku rejenerasyonunu hızlandırır.

Bir yara iyileşme sürecini düşünelim: Öncelikle, yaranın olduğu bölgeye trombositler göç eder ve aktif hâle geçerek fibrin ağ oluştururlar. Oluşan 3 boyutlu fibrin ağ bir yandan pıhtının kararlılığını sağlarken, diğer yandan yaralı bölgede doku oluşumunu gerçekleştirecek hücrelerin tutunması için de bir iskele görevi görür. Son olarak, trombosit granüllerinde bulunan büyüme faktörlerinin salınması gerçekleşir ve iyileşme süreci başlar. Peki, bu büyüme faktörlerinin görevleri nelerdir? Örneğin; plateletten türetilmiş büyüme faktörü (PDGF) kemik hasarı sırasında kolajen üretimini

### Yara İyileşme Süreci

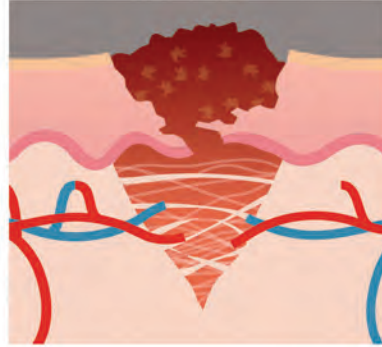
**1**

Deride bir kesik olduğunda kan damarları kasılır ve trombositleri salar. Trombositler polimerize olan fibrin proteinlerini oluşturur, kanın pıhtılaşmasını sağlar ve yara bölgesi tıkanır.



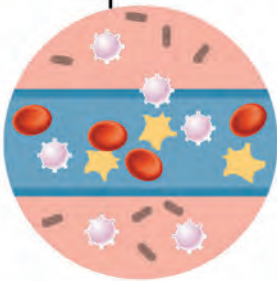
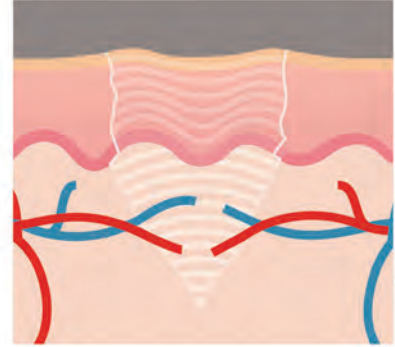
**2**

Birkaç gün sonra bağ doku hücreleri olan fibroblastlar tarafından kolajen proteini salgılanır ve doku onarımı süreci başlar.

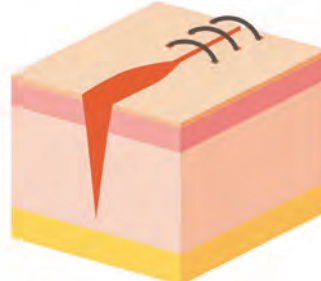


**3**

Yaranın ciddiyetine bağlı olarak birkaç ay ya da bir yıl içerisinde doku onarımı tamamlanır. Yara izi kalıcı olabilir veya uzun bir süre sonra tamamen kaybolabilir.



Yara bölgesini temizlemek ve temiz tutmak önemlidir. Yaralanmayı takiben kan damarları trombositlerin yanı sıra bağışıklık yanıtı olarak bakterilere veya diğer zararlı mikroorganizmalara karşı lökositleri de salar.



Bir yaralanma olduğunda kanayan bölgeye gazlı bez ile bastırılarak kanama durdurulmaya çalışılabilir. Ancak eğer oluşan yara veya kesik derinse dikiş atılarak yaranın kapatılması gerekebilir.

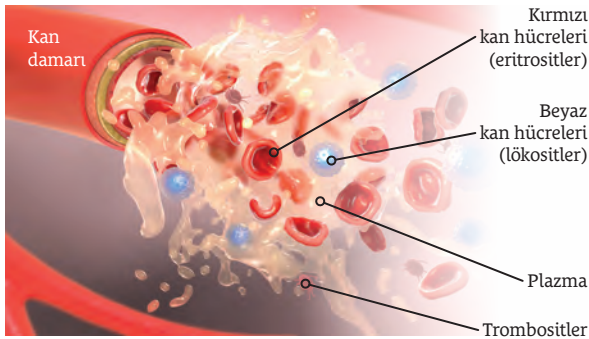


den, vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) dokulara yeteri kadar oksijen gidemediğinde (hipoksi) kılcal damar geçirgenliğinin artırılmasından, transforme edici büyüme faktörü (TGF) ise iyileşme sürecinde tendonun mekanik yapısının geliştirilmesinden sorumlu. Asıl çarpıcı nokta ise trombositlerin bu denli önemli görevi olan büyüme faktörlerinden 600 tanesine ve sayısız miktarda protein ve peptite sahip olduğunun düşünülmesi.

İşte tam da bu nedenlerden dolayı kanımızdaki trombosit sayısı yaşam kalitemizi değiştirebiliyor. Sağlıklı bir insanın 1 mikrolitre kanında ortalama 200 bin trombosit bulunuyor. Trombosit sayısının bu değer altında olması kan pıhtılaşmasını ve hemostazı (ka-

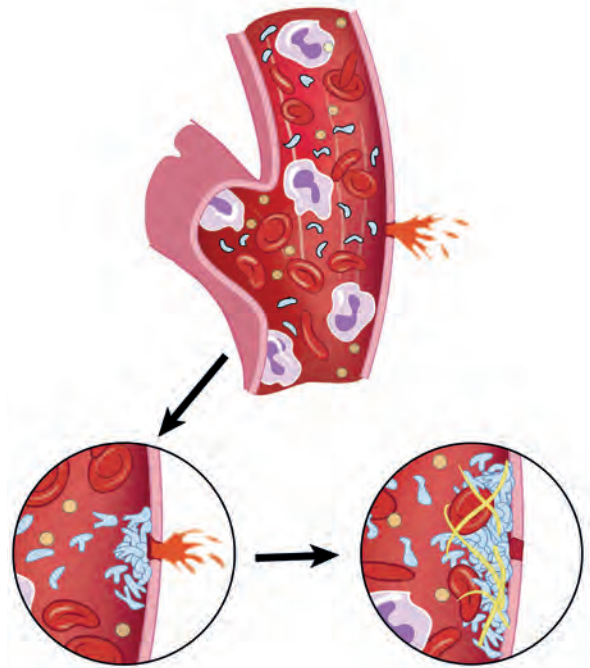
namanın durdurulması) engellerken, fazlası ise kan kaybı riskini artırıyor. Mesela kanser tedavisi sırasında kemoterapi gören hastaların trombosit sayısının ciddi miktarda azaldığını ve bu eksikliğin genellikle trombosit bağışıyla giderilmeye çalışıldığını biliyoruz. Tüm bunlar düşünüldüğünde, trombositlerin hayati önemi açıkça anlaşılabilir. Dolayısıyla da bilim insanlarının trombosit ürünleri geliştirmeye yönelik araştırmaları günden güne artıyor.

#### Damarda Akan Kanın Şematik Gösterimi



İnsan kanı, plazma içinde dağılmış kırmızı kan hücreleri (eritrositler), beyaz kan hücreleri (lökositler) ve trombositlerden (platelet) oluşur. Kan plazması içerisinde yağ ve şeker gibi besin molekülleri de taşınır. Kana kırmızı rengini veren hemoglobini taşıyan eritrositler akciğerden alınan oksijeni taşır ve kanda en çok bulunan hücrelerdir. Lökositler bağışıklık sistemi için hayati önem taşır, vücudu mikro yapıdaki zararlı maddelere/canlılara karşı korur. Kemik iliğindeki büyük hücrelerden koparak oluşan trombositler ise herhangi bir kanama anında pıhtı oluşturarak kanamanın durdurulmasına ve yaranın iyileşmesine yardımcı olur.

#### Kanın pıhtılaşmasını gösteren temsili çizim



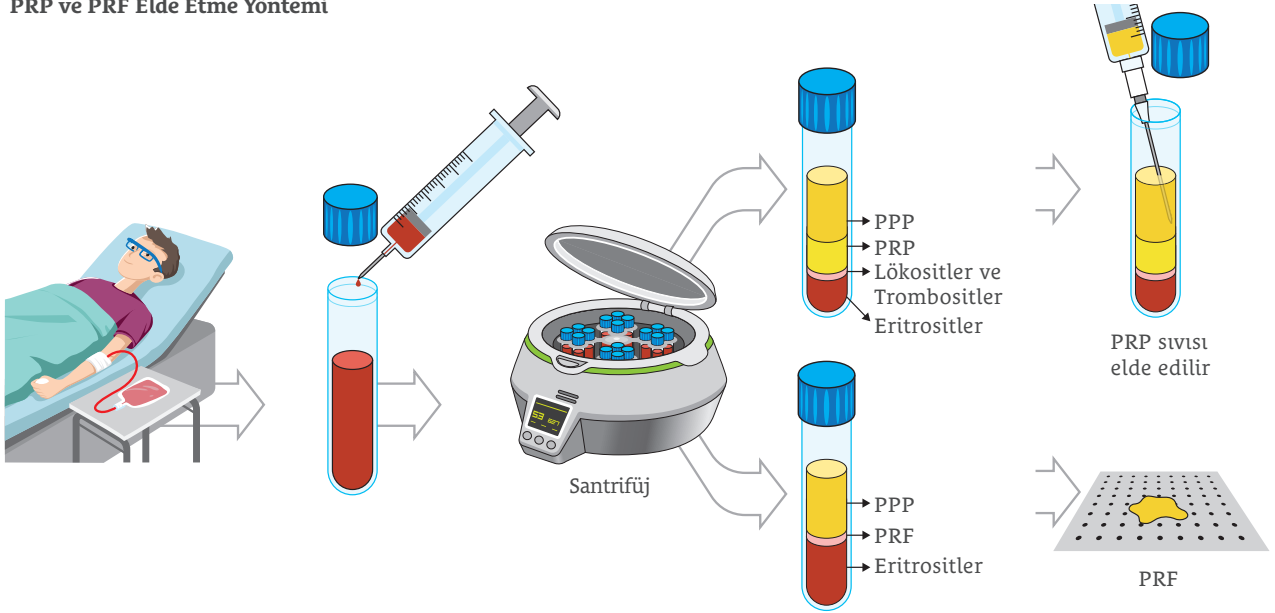
Koagülasyon veya pıhtılaşma, kandaki kan hücreleri sayesinde, kanın havayla temas etmesi sonrasında tortu hâline gelmesidir. Bu sayede kan kaybı ve zararlı mikroorganizmaların yaralı dokudan içeri girmesi engellenebilir.

## Trombositten Zengin Plazma

Kişinin kendinden alınan kanın santrifüj edilmesiyle kana kıyasla trombosit içeriği çok daha yüksek olan malzemeler hazırlanabiliyor ve bu tekniklerle hazırlanan malzemeler genellikle “trombositten zengin plazma” olarak adlandırılıyor. PRP’yi dakikalar içerisinde hazırlamak mümkün. Hazırlama işlemi sırasında, ilk olarak hastadan alınan kan, pıhtılaşmayı

önleyici ajan (antikoagulan) içeren tüplere konur ve santrifüj edilir. Santrifüj sonunda ise yer çekimi ve molekül ağırlığına göre kan hücreleri katman katman ayrışır. Üst katmanda plazma yer alır. “Buffy coat” olarak adlandırılan ortadaki beyaz katman plateletler ve lökositleri içerir. En alt katmanda ise eritrositler bulunur. PRP ortadaki beyaz katman olup enjektör ucuna takılan uzun bir iğne yardımıyla dikkatlice alınarak işlem tamamlanır. Tartışmalı olmakla birlikte, bazı araştırmacılar buffy coat ve plazma kısmının ikinci bir santrifüje tabi tutulması sonucu daha iyi ayrışma sağ-

### PRP ve PRF Elde Etme Yöntemi



Kişiden alınan kan PRP için antikoagülan (kanın pıhtılaşmasını önleyen madde) içeren, PRF için ise antikoagülan içermeyen tüplere aktarılır. Farklı santrifüj hızı ve süreleri sonunda molekül ağırlığına göre kan hücreleri katmanlara ayrılır. İki trombosit ürününde de eritrositler, tüpün en alt kısmına çöker. PRP sıvı formda (sağ üstte), PRF ise yoğun fibrin içeren jel formda (sağ altta) elde edilir. Tüpten bir şırınga yardımı ile alınan PRP sıvısı hastanın hasarlı, iltihaplı veya yaralı vücut bölgesine uzman doktor tarafından enjekte edilir. PPP trombositten fakir plazma ifadesinin kısaltmasıdır.

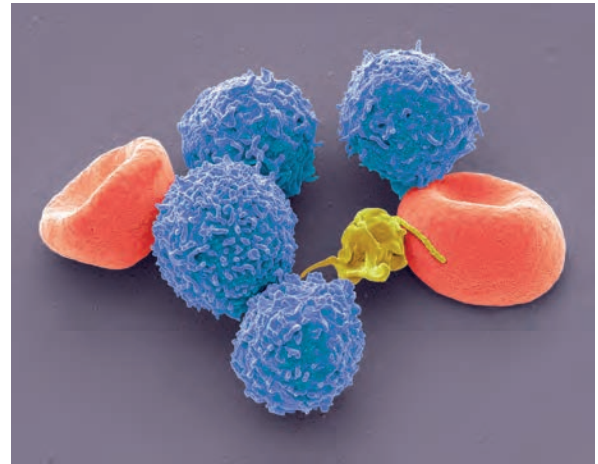
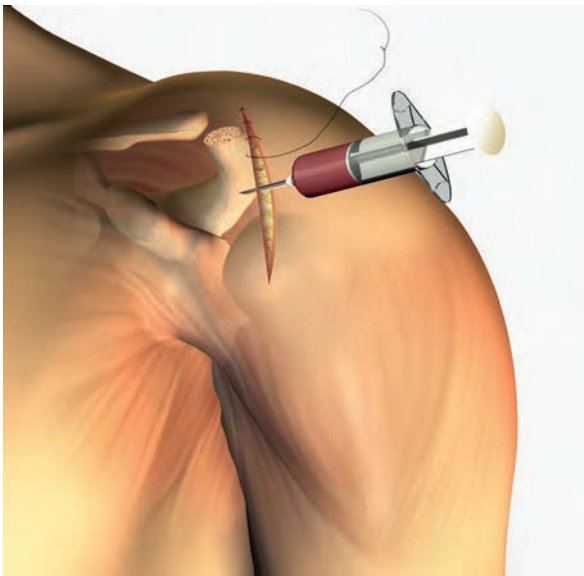
Santrifüj, genellikle elektrikli bir motor yardımıyla sabit eksenli, dairesel dönme hareketi gerçekleştiren bir laboratuvar aletidir. Santrifüj aletinin yüksek devir sayısı, içerisine yerleştirilen karışımların çökeltme prensibine göre ayrılmasını sağlar.

lanabileceğini savunuyor. Santrifüj yönteminin tek ya da iki basamakta gerçekleştirilmesi seçilen protokole bağlı oluyor.

PRP’de normal kana kıyasla 3-5 kat daha fazla oranda trombosit bulunur. Bu da mililitrede yaklaşık 1 milyon trombosit demektir ve oldukça yüksek bir sayıdır. Her bir trombosit içindeki sayısız büyüme faktörü ve biyoaktif molekül düşünüldüğünde yaklaşık 1 milyon trombosit daha da anlam kazanıyor. Bundan dolayı araştırmacılar arasında PRP “büyüme faktörü kokteyli” olarak da adlandırılıyor. Ayrıca, hastanın kendi kanından elde edildiği için enfeksiyon riski ve alerjik reaksiyon ihtimali çok düşük. Günümüzde PRP saç ekimi, cilt tedavisi, eklem ve kemik hasarları onarımı ve veterinerlik uygulamaları gibi birçok alanda kullanılıyor.

Literatürde bugüne kadar yapılan araştırmalara bakıldığında, bağ dokusu ve tendon gibi yumuşak doku hasarları dışında PRP’nin doğrudan sıvı formda kullanımına pek rastlanmıyor. Genellikle PRP, trombin, kalsiyum klorür ( $CaCl_2$ ) veya kolajen tip I ile aktive edilerek jel formuna getiriliyor. PRP jeli yüksek miktarda trombosit ve fibrinojen (fibrin ağ oluşumunu tetikleyen protein) içeriyor. Ancak aktivasyon ajanı eklenmesi sonrasında büyüme faktörlerinin %70’inin 10 dakika içerisinde, tamamına yakınının da 1 saat içerisinde jelden salımı gerçekleşiyor. Bu nedenle enjeksiyon en kısa sürede yapılmalı. Ayrıca bazı araştırmacılar sonradan eklenen kimyasal aktivasyon ajanının PRP’nin otojenliğini (kişinin kendinden alınan) bozduğunu ve küçük bir ihtimal de olsa vücutta inflamasyona neden olacağını düşünüyor. Tüm bu tartışmalar ikinci nesil trombosit ürünü olan “trombositten zengin fibrinin” ortaya çıkmasına yol açtı.

**PRP tedavisinin omuz yaralanması vakalarında kullanılmasını gösteren temsili çizim.**



İnsandaki kan hücrelerinin renkli taramalı elektron mikroskop (SEM) görüntüsü (x5000 büyütme). Kırmızı kan hücreleri (eritrositler, kırmızı renkte), beyaz kan hücreleri (lökositler, mavi renkte), trombositler (platelet, sarı renkte).

## İkinci Nesil Trombosit Ürünü: Trombositten Zengin Fibrin

Yara iyileşme sürecinde, trombositlerin yapısında bulunan fibrinojen, trombin enziminin etkisiyle polimer yapıdaki fibrin proteinine dönüşür. Fibrin, ağ şeklinde liflerle yarayı saran katı bir matrikstir. Burada fibrin ağ hücre göçü ve çoğalması için mekanik destek görevini, içerdiği büyüme faktörleri ise kimyasal destek görevini üstlenir. Vücudumuzun herhangi bir bölgesinde meydana gelen kanama, oluşan fibrin tıkaç sayesinde durdurulur. Kısacası, iyileşme sürecinin kilit elemanı fibrin ağ yapısıdır. İkinci nesil trombosit ürünü olan lökositten ve trombositten zengin fibrin, 2001 yılında, Fransa'da geliştirilmiş ve otolog (kişinin kendinden alınan kan örnekleri) bir biyomalzeme olarak tanımlanmıştır.

Peki, daha güncel bir ürün olan PRF'yi elde etmek de PRP kadar kolay mı? Evet, hatta daha zahmetsiz olduğunu söylemek de yanlış olmaz! Çünkü PRF üretiminde, PRP'deki gibi antikoagulan içeren tüpler gerekmez ve cam tüp duvarlarına kan değdiği andan itibaren doğal bir pıhtılaşma süreci başlar. Tek basamaklı santrifüj işlemi sonunda tüpün üst kısmında PPP (plateletçe fakir plazma), orta bölgede PRF ve alt tabakada eritrositler toplanır. Kana herhangi bir biyokimyasal ajan uygulanmadan (trombin veya CaCl<sub>2</sub>'e ihtiyaç duyulmadan) kendiliğinden aktive olan trombositler, doğal fibrin yapıyı oluşturur ve bir makas veya bistüri yardımıyla kırmızı kan hücreleri PRF'den kolaylıkla ayrılır. İşlemin başarısı kan örneğinin

alınma ve santrifüjlenme hızına bağlı. Kan hemen pıhtılaşabileceğinden bu aşamada oldukça hızlı olmak gerekir. Fibrin hızlı bir şekilde polimerize olacağı için yeterince çabuk davranılmazsa elde edilen ürün çok düşük miktarda fibrin ağ içerecektir.

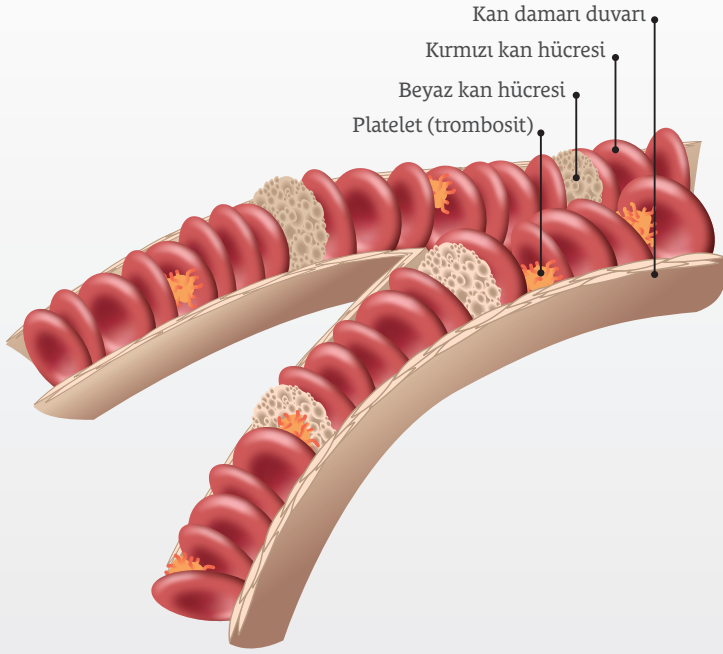
PRF jel formda olduğundan enjeksiyonla uygulanması zordur. Klinikte kullanımı daha çok membran (seçici geçirgen zar) ya da greft (yama) malzemesi şeklinde gerçekleşir. Elde edilen PRF pıhtısı, serum fizyolojik ile nemlendirilen gazlı bez arasında minimal parmak basıncı ile membran hâline getirilir ve kullanılacak bölgenin özelliğine göre tek kat ya da iki kat şeklinde hasarlı bölgeye yerleştirilir. Diş eti çekilmelerinin tedavisinde PRF membran hâline getirilerek, serbest bağ dokusu grefti gibi uygulamalara benzer bir şekilde, değişik periodontal flep (ağız ortamında doğrudan ulaşılamayan dokulara ulaşabilmek için diş eti ve bağ dokusunun altındaki dokulardan cerrahi olarak ayrılması) teknikleri ile birlikte kullanılabilir.



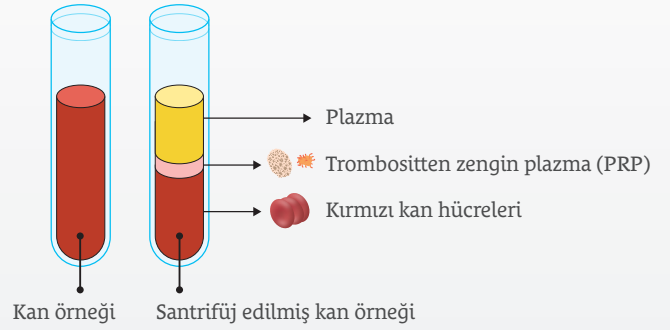
Santrifüj edilmiş kan örneği. Numune torbasının üst kısmındaki plazma sarı renkte, alt kısmındaki eritrosit/kırmızı kan hücreleri ise kırmızı renkte görünüyor.



## Damardaki kanın içeriği



## Test tüplerindeki kan örneklerinin santrifüj edilmeden önceki ve sonraki hali



Santrifüj işlemine tabi tutulan kan örneğinin %55'ini plazma, %45'ini ise kırmızı kan hücreleri oluşturur. Trombositten zengin plazma (PRP) ve beyaz kan hücrelerinin bulunduğu kısım ise tüm plazma sıvısının yaklaşık %1'i kadardır.

Plazmanın içeriğini su (%92), proteinler (%7: fibrinojen, albümin ve globülin) ve geri kalan yaklaşık %1'lik kısmını ise bazı besin maddeleri (aminoasitler, şekerler ve lipitler), hormonlar (eritropoietin ve insülin) ve elektrolitler (sodyum, potasyum ve kalsiyum) oluşturur.

## Kaynaklar

Fernandes, G., & Yang, S., Application of Platelet-Rich Plasma With Stem Cells in Bone and Periodontal Tissue Engineering. Bone Research, 4, 16036, 2016.

Can, G. D., Akdere, Ö. E., Can, M. E., Aydın, B., Çağil, N., & Gümüşderelioğlu, M., A completely human-derived biomaterial mimicking limbal niche: Platelet-rich fibrin gel. Experimental Eye Research, 173, 1-12, 2018.

Kutlu, H. B., Trombositten Zengin Plazma Emdirilmiş Kitosan Temelli Taşıyıcıdan PDGF, TGF-B Ve IGF-1 Büyüme Faktörlerinin Salım Kinetiklerinin Saptanması ve Kitosan Taşıyıcı Jel ile Uygulanan Trombositten Zengin Plazmanın Periodontal Ligament Hücreleri ve Sementoblastlar Üzerindeki Etkilerinin Belirlenmesi: in vitro. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2011.

<https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/platelet-rich-fibrin>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S246878551930165X>

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1555415519305732>