

T.C.  
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ  
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ  
KOORDİNASYON BİRİMİ



**Deneysel Olarak Dura Mater Hasarı Oluşturulan Tavşanlarda  
Dura Mater Tamirinde Consantrated Growth Faktörün  
Etkinliğinin Otojen Doku Grefti, Sentetik Greft ve Platelet Rich  
Fibrin İle Karşılaştırılması**

**Proje No: TSA-2014-4964**

**Proje Türü**

Tıp Sağlık

**SONUÇ RAPORU**

**Proje Yürütücüsü**

Yrd.Doç.Dr. Halil ULUTABANCA  
Tıp Fakültesi/ Beyin ve Sinir Cerrahisi AD

**Araştırmacı Adı Soyadı**

Yrd. Doç.Dr Ahmet KÜÇÜK Beyin ve Sinir Cerrahisi AD  
Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ Histoloji ve Embrioloji AD  
Veteriner Dr. Zeynep SOYER SARICA Veterinerlik Fakültesi  
Arş.Gör. İsmail Şamil GERGİN Beyin ve Sinir Cerrahisi AD  
Prof.Dr. Ahmet SELÇUKLU Beyin ve Sinir Cerrahisi AD

Ocak 2016  
KAYSERİ



## **TEŞEKKÜR**

Çalışmamızın yapılmasında her türlü maddi desteği sağlayan Erciyes Üniversitesi BAP birimine ve DEKAM birimine teşekkür ederiz.

## ÖZET

Dura mater beyin dokusunu ve omuriliği çevreleyen dokunun en kalın ve en dıştaki katmanıdır. Dura materin yapısındaki kollajen ve elastik lifler, dura matere sert, kısmi elastik ve beyin omurilik sıvısı (BOS) geçişine izin vermeyen bir bariyer özelliği kazandırmaktadır. Dura mater BOS ve beyinin korunmasından sorumludur. Kranial cerrahi işlemler esnasında dura materin kesilmesi rutin bir işlemdir. Tamiri çoğunlukla pirimer kapama yöntemiyle yapılmaktadır. Dura mater bütünlüğünün bozulması halinde cilt altı BOS koleksiyonu, ampiyem, menenjit gibi ciddi komplikasyonlar oluşabilmektedir. Duranın primer tamirinin yapılamadığı durumlarda tamir için halen günümüzde otogreftler, allogreftler, xenogreftler ve sentetik greftler kullanılmaktadır.

Son yıllarda elde edilmiş olan growth faktör ekstreleri ve özellikle ikinci jenerasyonda yer alan PRF ve CGF taze kanın santifirüj edilmesiyle elde edilir. CGF, PRF'ye göre daha iyi membran oluşturur, daha vizközdür, daha yapışkandır ve üç boyutlu Fibrin ağ yapısı daha komplekstir. Biz bu çalışmada CGF'in dura defekti tamirinde kullanılabilirliği ile sentetik greftlere ve PRF ye karşı etkinliğini araştırdık.

Çalışmada ortalama 3000 gr ağırlığında 38 adet Yeni Zelanda ırkı erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu(n: 8). İkinci grup sentetik greft uygulanacak grup(n:10), üçüncü grup PRF uygulanacak grup (n:10) ve dördüncü grup ise CGF (n:10). Bütün tavşanlar cerrahi işleme dahil edildi. Durada yaklaşık 1cm<sup>2</sup>'lik defektif hasar oluşturuldu. Kontrol grubunda, oluşturulan bu dural defektif hasara işlem yapılmadı. İkinci gruptaki tavşanlara defekte uygun büyüklükte duragen kesilerek konuldu. Üçüncü gruba her tavşanın kendi kanından elde edilen PRF maddesi konuldu. Dördüncü gruba ise her tavşanın kendi kanından elde edilen CGF maddesi konuldu. 28. günde bütün tavşanlar dekapitize edildi. Kemik dokunun etrafı eski kraniektomi defektinden daha geniş olacak şekilde yüksek devirli tur yardımıyla açıldı. Altındaki katmanlar beyin dokusu dahil olacak şekilde koni tarzında bistüri ile dönülerek üzerindeki kemik doku ile beraber tam blok çıkarıldı. SF ile yıkanarak formaldehit içine konuldu ve histolojik incelemeye alındı

Grupların birbirleri ile yapılan karşılaştırmasında tam duramater oluşumu açısından CGF grubunda %100 oranında gerçekleşti ve istatistiksel açıdan anlamlı fark olarak hesaplandı (p<0,05). Kemik defektin, rejenere kemik dokusuyla kapatılması açısından 4 grup arasında istatistiksel fark görülmezken CGF grubunda % 60, PRF grubunda % 40, sentetik grupta % 20, kontrol grubunda % 25 oranında gerçekleşti.

Bu alışmada CGF'in hasarlanmış duranın tamirindeki etkinliği net olarak gösterilmiştir bunun yanında komsu kemik yapı ve nöral doku hasarında tamirindeki etkinliğide gösterilmiştir. Çalışmamıza göre CGF'in beyin cerrahisi alanında hem dura mater defekti ile ilişkili hem de kranium ile ilişkili patolojilerin tamirinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Dura defekti, CGF, PRF, Growth faktör

## ABSTRACT

Dura mater is the thick and external layer which plates the brain and spinal cord. Dura mater is responsible for protection of the brain tissue and CSF. In intracranial surgical procedures, dissection of the dura is a routine process. If dura's composition will be defect for any reason; we can see some serious complications like subcutaneous CSF collection, empyema and meningitis.

When dura's primary repair cant be possible; we use autografts, allografts, xenografts and synthetical grafts. In recent years, some growth factor derives, especially second generation PRF and CGF can be produced by centrifuge of the blood. In this study, we researched, CGF's utility in dura defects, and efficiency against PRF and synthetical graft (duragen).

In study we used 38 male rabbits which are avarage 3000 g, and in; New Zeland race. Rabbits selected and grouped randomly in to 4 groups. First group is control group (n:8). Second group is synthetical greft group (n:10), third group is PRF group (n:10) and the fourth one is the CGF group. We performed surgical procedure in all rabbits. We carved out Approximately 1 cm<sup>2</sup> defective injury in dura mater. In control group we did nothing to the dural defective injury. In second group we performed appropriate size duragen to injury site. In third group we used PRF to the injury site which produced by each rabbits own blood. In fourth group we used CGF to the injury site, which produced by each rabbits own blood.

In 28<sup>th</sup> day all rabbits has decapitated. The tissues under the bone, which includes brain tissue and bone; resected all blocks by a surgical lancet like a conic shape. After it material taken to histological examination. Comparing to each group one by one; regeneration of dura mater has seen in CGF 100% and which figured out statistically meaningful difference( $p<0.05$ ). In regenerating of the bone defect in all groups, no statistically meaningful difference between each of them; and founded in CGF group 60%, in PRF group 40%, in synthetical group 20% and in control group 25%.

In this study we clearly exhibited CGF's efficiency in injured dura mater reparation. In addition; it also has efficiency in adjacent neural and bone tissue's injury reperation.

According to our study, we think that CGF can be used in dural defects and also CGF's contribution of bone tissue recovery has been exhibited clearly in other studies.

**Keywords:** Dura defect, CGF, PRF, Growth factors

## GENEL BİLGİLER

Dura mater veya dura, beyin dokusunu ve omuriliği çevreleyen dokunun en kalın ve en dıştaki katmanıdır. Mezoderm tabakasından köken almaktadır. Dura mater endosteal (lamina externa) ve meningeal (lamina interna) olmak üzere iki yapraktan oluşur. Bu yapraklar venöz sinüslerin oluşma yerleri hariç birbirlerine sıkıca yapışmışlardır (1). Dura materin yapısındaki kollajen ve elastik lifler, dura matere sert, kısmi elastik ve BOS geçişine izin vermeyen bir bariyer özelliği kazandırmaktadır. Dura mater beyin-omurilik sıvısının (BOS) ve beyinin korunmasından sorumludur (1,2).

Kranial cerrahi işlemler esnasında dura materin kesilmesi rutin bir işlemdir. Tamiri çoğunlukla pirimer kapama yöntemiyle yapılmaktadır. Ancak travma, tümör veya enfeksiyonun dura materi etkilediği durumlarda dura mater bütünlüğü bozulmakta ve pirimer olarak tamiri mümkün olamamaktadır. Dura mater bütünlüğünün bozulması halinde cilt altı BOS koleksiyonu, ampiyem, menenjit gibi ciddi komplikasyonlar oluşabilmektedir.(3)

Duranın primer olarak tamir edilemediği durumlarda dura otojen, allogreft veya sentetik greftlerle tamir edilmektedir.(3,4)

### Dura Tamiri

**Pirimer sutureasyon:** Dura yapraklarının karşılıklı olarak ucuca getirilip dikilmesidir.

**Duraplasti:** Primer tamirin imkansız olduğu durumlarda otogreft veya allogreft kullanılarak dura açıklığının kapatılması yöntemidir (4,5).

### Duraplastide Kullanılan Greftler

**Otogreft Maddeler:** Doku uyumu ve fonksiyonel açıdan en çok tercih edilen greftlerdir.

**Fasya Lata:** Dura mater tamirinde ilk kullanılıp başarı elde edilmiş greft çeşitidir. Doku uyum problemi olmaması, geniş dura defektlerini bile kapatabilecek büyüklükte elde edilmesi, kolay dikilebilmesi ve ikinci cerrahi açılım gerektiğinde beyin üzerinde yeterli koruyucu etki sağlaması nedeniyle tercih edilir. Hastanın alt ekstremitesine ikinci bir kesinin yapılması ve estetik problemler olumsuz yönleridir. (6,8).

**Temporal Fasya:** Genelde cerrahi saha içerisinde olması nedeniyle başka bir cerrahi kesiye gereksinim duyulmaması fasya lataya göre avantaj sağlar. Özellik bakımından fasya

lataya benzer (6). Estetik problemler, dura defektini kapatmada büyüklük olarak yetersiz kalabilmesi ve temporal kasta atrofi gelişme ihtimali olumsuz yönleridir.

**Perikraniyum:** Elde edilmesi kolay olan bir greft şeklidir. Geniş dura defektlerini kapatacak büyüklükte greft elde edilebilir(7). Kolay dikilebilir ve esnek bir yapıya sahiptir. Skalp ve kraniumun etkilendiği patolojilerde kullanılamayabilir.

**Allogreft Maddeler:** Aynı türden alınan greftlere denir.

**Liyofilize Dura Mater:** Taze insan kadavrasından elde edilerek antijenik ve pirojenik maddelerden arıtılması için bir dizi işlemden geçer. Gama ışını ile steril edilir. Doku reddi oranı düşüktür. Çok iyi dikiş tutar. Kullanımı kolaydır. Ancak liyofilizasyon bazı yavaş virüsleri etkisiz hale getirememesi ve işlem sırasında dura mater yapısındaki kollajenlerin bozulmalarına sebep olmaktadır (6,7).

**Solvent Dehidrate Dura Mater (SDDM):** Donörlerden alınan dura materin hidrojen peroksit, aseton gibi solventler ve ilave güçlü alkoliklerle dehidrate edilerek elde edilir. Gama ışınlarıyla steril edilir. Ancak bu yöntemle virüsler elimine edilebilir. Daha esnek bir yapıdadır (9).

**Xenogreft Maddeler:** Farklı tür donörlerden alınan greftlere denir.

**Sığır Perikardiyumu:** Özellik olarak dura mater yapısına yakın olup dayanıklı, enfeksiyonlara karşı dirençli ve esneme kabiliyeti olan bu greft şekli ilerleyen zamanlarda FDA onayı alması ile birlikte kullanılabilecek bir materyal görüntüsündedir (6).

**Sentetik Greftler:** Yapay greftlere denir. Ototreftlerin kullanılmadığı durumlarda tercih edilir. Çok düşük oranda olsa da aşırı duyarlılık reaksiyonu ve enfeksiyon odağı olma riskleri vardır

**Tissudura® (Baxter AG, Vienna, Austria):** Doğal kollajen biyomatriksidir. Heterojen aşı tendonundan elde edilir. Kolay uygulanabilir olması, doğal dura mater rejenerasyonuna olanak sağlaması, düzensiz yüzeylere uygulanabilirliği, suture kullanmadan kullanılabilmesi, fibrin doku yapıştırıcılarla uygulanabilmesi ve cerrahi süreyi kısaltması avantajlarını sağlamaktadır (10).

**Tachocomb® (CSL Behring, Tokyo, Japan):** Trombin, fibrinojen, pıhtılaşma faktörleri, fibrinoliz inhibitörü aprotinin ve kollajen desteği ile bioaktif mekanizma sonucu su

geçirmez esnek ve dayanıklı canlı doku bariyeri oluşumudur. Avantajları *tissudura®* ile benzerlik göstermektedir (10).

**Duragen®** (Integra LifeSciences, Plainsboro, NJ, USA): Sığır aşıl tendonundan üretilmiştir. Kollajen yapıdadır. Vücut ile uyumlu olup reaksiyona sebep olmaz. Fibröz doku, kapsülleşme ve adezyona olanak vermez. Sütür gerektirmez. Islandığında jelleşerek dura mater üzerine yapışmaktadır. Kolay uygulanmaktadır (11).

**Fibrin Doku Yapıştırıcıları:** Dura mater tamirlerinde sütür aralıklarındaki sızmalarda ve endoskopik mikro invaziv yaklaşımlarda avantaj sağlamaktadır (12).

**Growth faktörler:** Yara iyileşmesinde önemli etkiye sahiplerdir. Günümüzde ortopedik girişimler, dental ve oral girişimler, travmatik cerrahi işlemler (maksillofasiyal cerrahi, spinal cerrahi) sonrasında kullanılmaktadır (13,14). Dermatoloji ve plastik cerrahi alanlarında özellikle kronik yara, ülser ve yanık bakımında kullanılmaktadır (15,16).

Growth faktörler başlıca plazma ve trombositlerde yer alır. Trombositlerdeki alfa granüller, sekresyon proteinleri adı verilen geniş bir protein grubu içerirler. Bu proteinler büyüme faktörü grubuna aittirler. Platelet derive growth faktör (PDGF), interlokin-1, platelet derive anjiogenez faktörü, vasküler endotelyal growth faktör, epidermal growth faktör, platelet derive endotelyal growth faktör, epitelyal hücre growth faktör, insülin-like growth faktör, fibronektin ve diğerlerini içerir (13,16,18,19) Aktive plateletlerden salınan bu growth faktörler; hücre migrasyonunu, proliferasyonunu ve diferansiasyonunu arttırmaktadır. Anjiogeneziste artış meydana gelmesini sağlar. Doku debrislerinin uzaklaştırılmasına katkıda bulunur. Uygun tip doku ile dokunun rejenerasyonunu sağlarlar (1).

Growth faktörler birinci ve ikinci jenerasyon olarak iki gruba ayrılır.

Birinci jenerasyon growth faktörler olarak bilinen Platelet Rich Plazma (PRP) ve Platelet Rich İn Growth Faktör (PRGF) ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. Sert dokularda iyileşmeyi artırmak için kullanılmışlardır. Ancak iyileşmeyi hızlandırmada etkileri sınırlı kalmış hatta iyileşme hızını azalttığı yönünde yayınlar da yapılmıştır (2,3). PRP ve PRGF'nin etkin olabilmesi için kalsiyum klorid gibi kimyasal maddelere ve/veya öküz trombinine ihtiyaç duyması dezavantajıdır (4).

İkinci jenerasyon growth faktörler Platelet Rich Fibrin (PRF) ve Consantradet Growth Faktör (CRF) dür. Her ikisi de taze venöz kanın santifirüjü ile elde edilir ancak santifirüj teknikleri farklıdır. PRF venöz kanın 10-12 dakika 3000 devir hızda santifüjü ile elde edilir

(20,21). CGF ise taze venöz kanın değişik hızlarda santifirüjü ile yaklaşık 13 dakikada elde edilmektedir(2,700 rpm 2 dak., 2,400 rpm 4 dak., 2,700 rpm 4 dak., and 3,000 rpm 3 dak.) CGF için özel santifirüj aletleri geliştirilmiş ve kullanımda bulunmaktadır (22). İkinci jenerasyon growth faktörlerin kullanılabilmesi için herhangi bir yardımcı maddeye ihtiyaç duyulmamaktadır (5,6). CGF, PRF ye göre daha fazla growth faktör içeren daha visköz daha yapışkan ve daha çok esneyebilme kapasitesine sahiptir(30). Bu özellikleri nedeni ile yumuşak dokuların iyileşmesinde membran özelliğini PRF ye göre daha iyi sağlayabilmekte aynı zamanda kemik greft ile birlikte kemik iyileşme hızını daha iyi artırabilmektedir(30). Halen CGF ve PRF yukarıdaki özellikleri sayesinde diş hekimliğinde implant cerrahisinde ve kemik greftlerin füzyonlaşma etkinliğinin artırılması ve füzyon süresinin kısaltılmasında diğer growth faktörleri gibi kullanılmaktadır. Ancak yumuşak doku bariyeri olarak kullanılıp kullanılamayacağı ile ilgili bir çalışma yoktur.

Bu çalışmada CGF'in yapışkan, elastik ve membran olarak kullanılabilme özelliğinden faydalanarak dura defektini kapatmadaki etkinliğinin hem sentetik dura greftleri hem de ikinci jenerasyon growth faktörü olan PRF ile karşılaştırmalı olarak araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL - METOD

Çalışmamız için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan onay alındı (09.10.2013- 13/123). Hayvan deneyleri Erciyes Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Uygulama Araştırma Merkezi (DEKAM)'da yapıldı ve çalışmamız Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (ERÜBAP) tarafından desteklendi ( TSA-2014-4964)

Çalışmada ortalama 3000 gr ağırlığında 38 adet Yeni Zelanda ırkı erkek tavşan kullanıldı. Tavşanlar çalışma süresince standart bakım ve beslenme koşullarında barındırıldı (20-/+2°C oda ısısında ve 12'şer saatlik aydınlık/karanlık ortamında tutulup standart pelet tavşan yemi ile beslenerek yem ve suya serbestçe (*ad libidum besleme*) ulaşılabilimleri sağlandı. Gruplardaki tavşanlar rastgele seçilerek 4 gruba ayrıldı. Birinci grup kontrol grubu olarak belirlendi ve 8 tavşan dahil edildi. İkinci grup sentetik greft uygulanacak grup, üçüncü grup PRF uygulanacak grup ve dördüncü grup ise CGF uygulanacak grup olarak belirlendi. Deney grubu olarak belirlenen 3 grupta 10'ar tavşan yer aldı. Bütün tavşanlar cerrahi işleme dahil edildi.

### Cerrahi İşlem

Tüm gruplardaki tavşanlar cerrahi işlem öncesi tartılarak 10 mg/kg olacak şekilde xylazine (Rampun-Bayer) ve 80 mg/kg ketamin hidroklorür ile sedasyon ve anestezi planlaması İM olarak yapıldı. Birinci gruptaki tavşanlara anestezi uygulaması ardından kafasındaki tüyler iki kulak arasındaki mesafeden iki göz arasındaki mesafeye kadar traş makinesi ile traşlandı ve operasyon masasına prone pozisyanunda yatırıldı. Cerrahi sahada %10'luk povidon iyot solüsyonuyla cilt antisepsisi sağlandı. Ardından 20 no.'lu bistüri yardımıyla orta hattın 0,5 cm sağ lateralinden gözün posteriorundan interpupiller hat anteriorda olacak şekilde iki kulak arası hattı ise posteriorda olacak şekilde kulak hizasının olduğu yerdeki temporal kasa kadar parietel bölgede anteriordan posterior istikamete doğru yaklaşık 4 cm ebadında düzgün lineer insizyon gerçekleştirilerek cilt, ciltaltı kesisi oluşturuldu ve periostal tabakaya gelindi. Periost 15 bistüri yardımıyla insize edilerek küret yardımı ile lateralize edildi. Kemik alan ortaya konuldu. Cerrahi sahaya mikroskop çekildi. Orta hattın sağında koronal sütunun posteriorunda olacak şekilde parietal kemik 2x2 cm'lik alanda elektrik ile çalışan yüksek devirli drill küçük topuz uç yardımıyla drillenerek inceltildi ve mini küret yardımıyla kırılarak kaldırıldı. Dura görüldü mikroskop ile devam edilerek ince uçlu penset ve 11 no'lu bistüri yardımı ile dura kare şeklinde lineer kesi yapılarak açıldı ve durada yaklaşık 1cm<sup>2</sup>'lik defektif hasar oluşturuldu. BOS gelişi izlendi. Bu esnada minimal

kortikal hasar da oluşturuldu. Kontrol grubunda, oluşturulan bu dural defektif hasara işlem yapılmadı.

İkinci gruptaki tavşanlara kontrol grubuna uygulanan cerrahi prosedür uygulandıktan sonra oluşturulan defekte uygun büyüklükte duragen kesilerek konuldu (şekil 1). Üçüncü gruba ise cerrahi prosedür sonrası oluşturulan defekte, her tavşanın kendi kanından elde edilen PRF maddesi konuldu. Tavşanlarda anestezinin başlangıcı esnasında kulak vena bölgesinin batikon ile antisepsisi sağlandı. Sonrasında intraket kullanılarak kulak venasından alınan 5 cc kan antikoagölansız cam tüpe konuldu. Santrifüj aletinde (Medifuge) PRF programında 12 dk santrifüj edildi. Santrifüjden çıkarılan tüpün üst katmandaki plazma kısmı enjektör yardımıyla çekilerek boşaltıldı. Orta tabakadaki oluşan PRF kısmı ise bir penset yardımıyla alınarak defektin üzerine yerleştirildi. Dördüncü gruba ise; çalışmadaki standart cerrahi prosedür ile elde edilen defekte, her tavşanın kendi kanından elde edilen CGF maddesi konuldu (şekil 2). Yine anestezinin başlangıç aşamasında batikonla bölge antisepsisi sağlandıktan sonra tavşanların kulak venlerinden intraket yardımı ile alınan 5cc lik kan antikoagölansız cam tüpe aktarılarak Santrifüj cihazının (Medifüj) CGF programında santrifüj edildi. Elde edilen CGF maddesi penset yardımıyla alınarak hemen dural defektin üzerine yerleştirildi.

Ardından bütün gruplarda ciltaltı ve cilt dokusu stapler ile primer kapatıldı. Batikonla pansuman yapıldı. Cerrahi sonrası 10 mg/ kg olacak şekilde cefazol IM yapıldı. Üç gün boyunca cefazol ve parasetamol almaya devam ettiler.

Tavşanlar 4 hafta süresince kafeslerinde nörolojik bulguları, davranışları, hareketlilikleri ve enfeksiyon bulguları yönünden takip edildi.

28. günde bütün tavşanlar ketamin/xylazin anestezisi altında dekapitize edilmek üzere masaya alındı ve kısa etkili potasyum klörür intrakardiyak olarak uygulanarak dekapite edildi. Eski insizyon yerindeki kesileri genişletilerek makasla cilt ve ciltaltı kesildi. Kemik dokunun etrafı eski kraniektomi defektinden daha geniş olacak şekilde yüksek devirli tur yardımıyla açıldı. Altındaki katmanlar beyin dokusu dahil olacak şekilde koni tarzında bistüri ile dönölerek üzerindeki kemik doku ile beraber tam blok çıkarıldı. SF ile yıkanarak formaldehit içine konuldu ve histolojik incelemeye alındı.



**Şekil 1.** Kranium defekti yapılmış ve üzerine duragen konulmuş



**Şekil 2.** Kanın santifirüj edilmesi sonrası elde edilmiş olan CGF materyali

### **Histolojik Takip**

Dokular %10'luk nötral formalin içinde 15 gün boyunca fikse edildi. Tespit edilen dokular daha sonra %5'lik nitrik asit solüsyonunda dekalsifiye edildi. Dekalsifikasyondan sonra 24 saat musluk suyunda yıkanan dokular daha sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Ksilol ile şeffaflaştırılan dokular parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan 5–6 µm kalınlığında kesitler normal yapıyı değerlendirmek için Hematoksilen-Eozin ve Masson'un üçlü boyası ile boyandı ve Olympus BX–51 fotomikroskopla incelenerek fotoğraflar elde edildi.

## BULGULAR

Yapılan ışık mikroskopik incelemede kontrol grubu deneklerin altısında hasar alanı fibröz doku ile ikisinde ise kemik doku ile kapatılmıştı. Hasar bölgesine komşu beyin dokusunda moleküler tabakada hücrelerde kayıp, daha alt tabakalarda ise dejenere nöronlar ayırt edilmekteydi. Hasar bölgesinde beyin dokusunun üzerinde altı denekte kompakt düzenli bir meninks tabakası vardı, ancak iki denekte meniks gözlenmedi (Şekil 3).

Sentetik doku grefti ile tamir yapılan ikinci grupta sekiz tavşanda hasar bölgesinin fibröz doku ile iki tavşanda ise kemik doku ile kapatıldığı belirlendi. Hasar bölgesine komşu beyin dokusunda moleküler tabakada hücrelerde kayıp, daha alt tabakalarda ise dejenere nöronlar bu grupta da ayırt edilmekteydi. Hasar bölgesinde beyin dokusunun üzerinde dört denekte düzenli bir meninks tabakası vardı, ancak altı denekte meniks gözlenmedi. Ancak beyin dokusunun üzerindeki meninks katmanı gevşek vaskülarize bir tabaka şeklinde gözlendi (Şekil 4, 5).

PRF ile tamir yapılan üçüncü grupta altı tavşanda hasar bölgesinin fibröz doku ile dört tavşanda ise kemik doku ile kapatıldığı belirlendi. Hasar bölgesine komşu beyin dokusunda moleküler tabakada hücrelerde kayıp, daha alt tabakalarda ise dejenere nöronlar bu grupta da ayırt edilmekteydi. Hasar bölgesinde beyin dokusunun üzerinde altı denekte düzenli bir meninks tabakası gözlendi (Şekil 6).

CGF ile tamir yapılan grupta dört tavşanda hasar bölgesinin fibröz doku ile altı tavşanda ise kemik doku ile kapatıldığı belirlendi. Hasar bölgesine komşu beyin dokusunda moleküler tabakada hücrelerde kayıp, daha alt tabakalarda ise dejenere nöronlar daha az olmakla birlikte bu grupta da ayırt edilmekteydi. Hasar bölgesinde beyin dokusunun üzerinde düzenli ve kalın bir meninks tabakası ayırt edildi (Şekil 7).

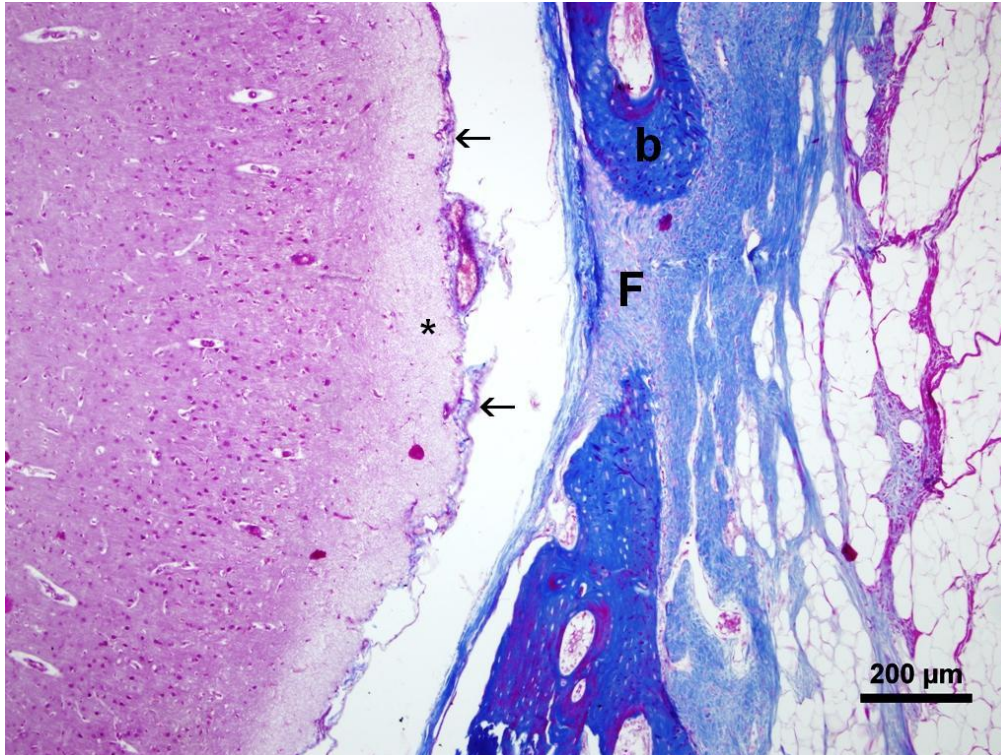
Grupların birbirleri ile yapılan karşılaştırmasında tam duramater oluşumu açısından CGF grubunda %100 oranında gerçekleşti (tablo1) ve istatistiksel açıdan anlamlı fark olarak hesaplandı ( $p<0,05$ ). Kemik defektin, rejenere kemik dokusuyla kapatılması açısından 4 grup arasında istatistiksel fark görülmezken (tablo2), CGF grubunda % 60, PRF grubunda % 40, sentetik grupta % 20, kontrol grubunda % 25 oranında gerçekleşti.

**Tablo 1.** Grupların, tam durameter oluşumu yönünden karşılaştırılması

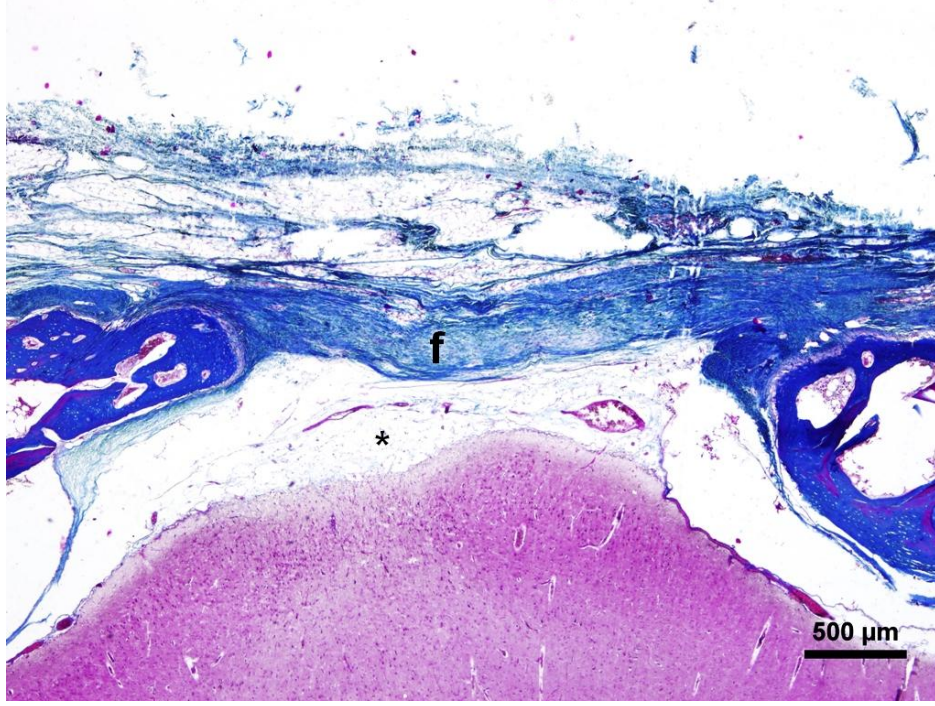
|                       | GRUPLAR                 |                          |                       |                       | <i>p</i> |
|-----------------------|-------------------------|--------------------------|-----------------------|-----------------------|----------|
|                       | Kontrol<br><i>n</i> (%) | Sentetik<br><i>n</i> (%) | PRF<br><i>n</i> (%)   | CGF<br><i>n</i> (%)   |          |
| Tam Durameter oluşumu |                         |                          |                       |                       |          |
| Var                   | 6 (75) <sup>a,b</sup>   | 4 (40) <sup>b</sup>      | 6 (60) <sup>a,b</sup> | 10 (100) <sup>a</sup> | 0.032    |
| Yok                   | 2 (25)                  | 6 (60)                   | 4 (40)                | 0 (0)                 |          |

**Tablo 2.** Grupların kemik oluşumu yönünden karşılaştırılması

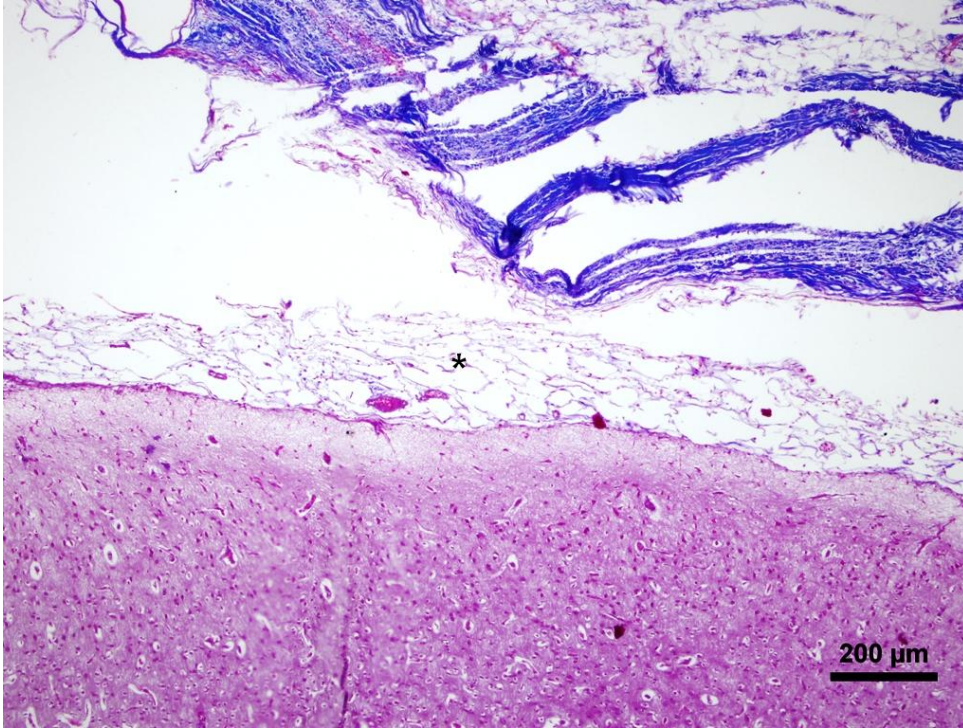
|                       | GRUPLAR                 |                          |                     |                     | <i>p</i> |
|-----------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|----------|
|                       | Kontrol<br><i>n</i> (%) | Sentetik<br><i>n</i> (%) | PRF<br><i>n</i> (%) | CGF<br><i>n</i> (%) |          |
| Kemik oluşumu yeterli | 2 (25)                  | 2 (20)                   | 4 (40)              | 6 (60)              | 0.271    |
| fibröz                | 6 (75)                  | 8 (80)                   | 6 (60)              | 4 (40)              |          |



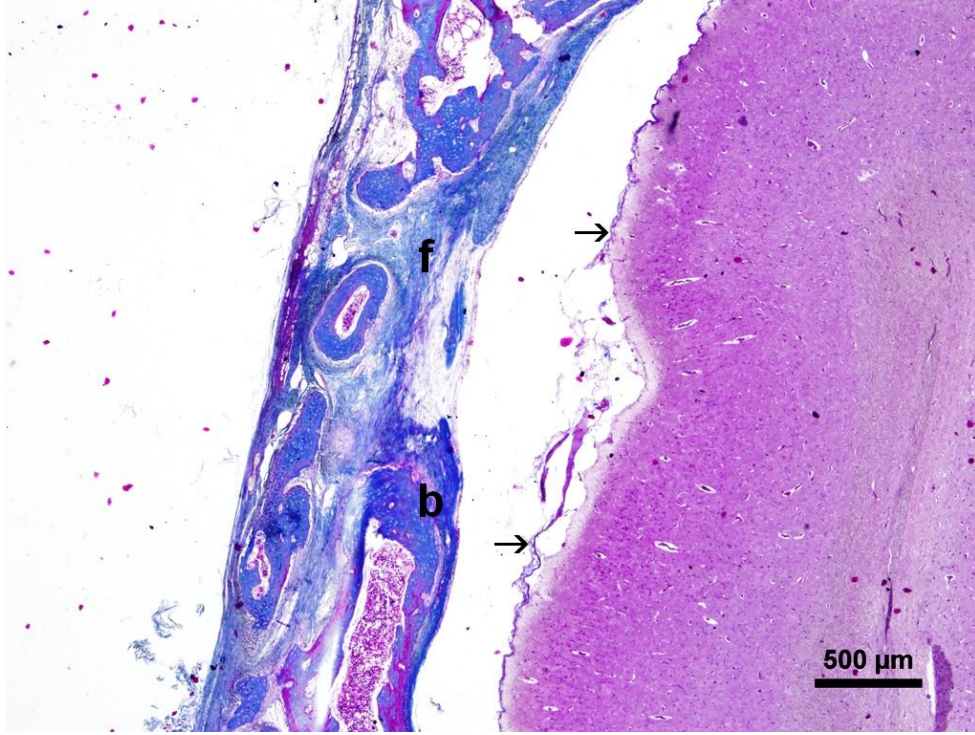
**Şekil 3.** Kontrol grubuna ait histolojik görüntü. Hasar alanı tamamen bağ doku (F) ve büyük ölçüde de kemik doku (b) ile kapatılmış durumda. Meninkslerin tam bir katman şeklinde olduğu ve moleküler tabakada hücre azalması (yıldız) görülmekte. Masson'un üçlü boyası. Ölçek çubuğu: 200μm



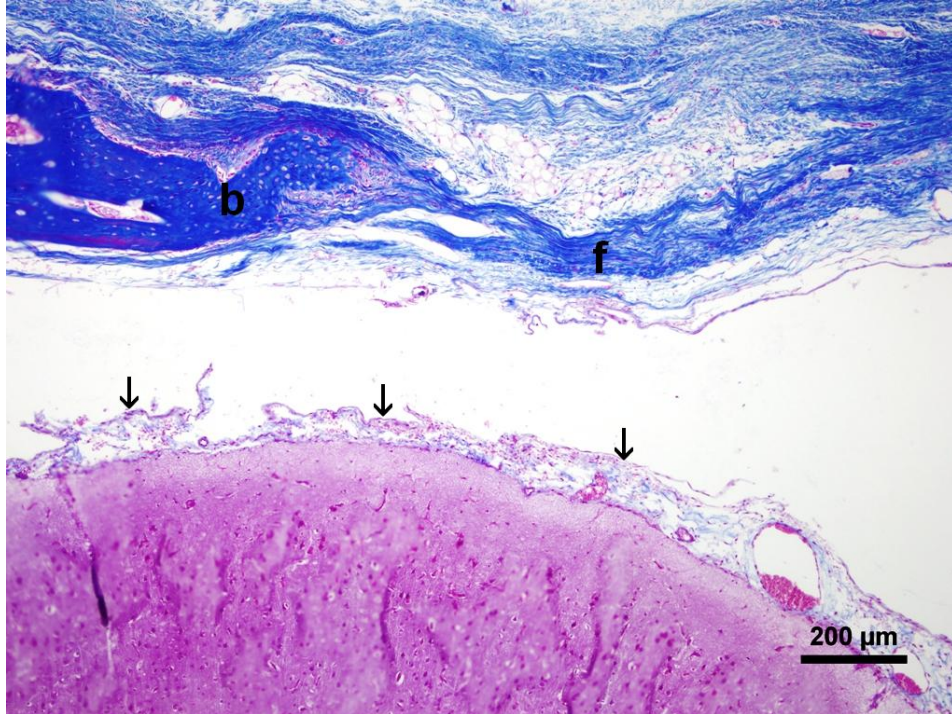
**Şekil 4.** Sentetik greft uygulanan gruba ait histolojik görüntü. Hasar alanının fibröz doku (f) ile kapatıldığı görülmekte. Fibröz doku ile beyin korteksi arasında gevşek vaskülarize meninks (yıldız) tabakası ayırt edilmekte. Masson'un üçlü boyası. Ölçek çubuğu: 500µm



**Şekil 5.** Sentetik greft uygulanan gruba ait histolojik görüntü. Fibröz doku ile beyin korteksi arasında gevşek vaskülarize meninks (yıldız) tabakası ayırt edilmekte. Masson'un üçlü boyası. Ölçek çubuğu: 200µm



**Şekil 6.** PRf uygulanan gruba ait histolojik görüntü. Hasar alanının tamamen fibröz doku (f) kısmen de kemik doku (b) ile kapatıldığı görülmekte. Meninksin (ok) büyük ölçüde korteksin üzerini kapattığı ayırt edilmekte.. Masson'un üçlü boyası. Ölçek çubuğu: 500µm



**Şekil 7.** CGF uygulanan gruba ait histolojik görüntü. Hasar alanının tamamen fibröz doku (f) kısmen de kemik doku (b) ile kapatıldığı görülmekte. Meninksin (ok) korteksin üzerini tamamen kapattığı ayırt edilmekte. Masson'un üçlü boyası. Ölçek çubuğu: 200µm

### **İstatistiksel Analiz**

Veriler IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, New York, ABD) istatistik paket programında değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler birim sayısı(*n*), yüzde(%),değerleri olarak verildi. Kategorik değişkenler arası ilişkiye Ki-Kare testinin exact yöntemi ile bakıldı.  $p<0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## TARTIŞMA

Dura materin en önemli görevi beyni ve spinal kordu sarıp dış ortamdan korumaktır. Bütünlüğünün bozulması sonucunda oluşabilecek komplikasyonlar morbidite ve mortalite açısından çok önemlidir. Komplikasyonların önlenmesi amacıyla dura mater tamirinin defektsiz olması büyük önem arz etmektedir (1,5).

Dura mater tamirindeki hedef, beyin dokusunun dış ortamla ilişkisinin kesilmesi ve BOS sızıntısının engellenmesidir. Çoğu zaman bu işlem karşılıklı dura dudaklarının primer dikilmesiyle olur. Bunun mümkün olmadığı durumlarda duraplasti amaçlı günümüzde sıklıkla otojen ve sentetik greftler kullanılmaktadır (4,5).

Ancak gelişen teknoloji ve uzayan yaşam ömrü nedeniyle yeni tedavi yöntemleri aranmaktadır. Özellikle kök hücre çalışmaları ve olguların kendi vücudundan elde edilen tedavi edici veya doku yapıştırıcı materyaller ile kendi hastalıklarının veya yaralarının tedavi edilebilmesiyle ilgili yoğun çalışmalar mevcuttur. Son yıllarda keşfedilmiş olan growth faktörler de yeni bir tedavi yöntemi olarak ortaya çıkmıştır (22).

Growth faktörlerin keşfi yara iyileşmesi ile ilgili yapılan çalışmalar esnasında olmuştur. Yara iyileşmesinde growth faktörler ve sitokinlerin etkin olduğu gösterilmiş. Growth faktör ve sitokinlerin kaynağında plateletler olduğu ortaya konmuştur. Trombositler 800 den fazla protein ve çok sayıda protein bazlı faktör içerir. Trombositler antibakterial-antifungal etkili proteinler, koagulasyon faktörleri, inflamasyon sitokinlerinin ve kemokinlerin sentezini artıran membran glikoproteinleri içerir. Platelet içersindeki yoğun granüller doku hemostazisini sağlayan ADP, ATP, kalsiyum, histamin, serotonin ve dopamin içerir. Plateletlerden salgılanan growth faktörler platelet derived growth faktör (PDGF), endotelial growth faktör (EGF), insulin-like growth faktör (IGF-I), transforming growth faktör b-I (TGFb-I), vasküler endotelial growth faktör (VEGF), hepatosit growth faktör (HGF) ve basic fibroblast growth faktör (bFGF) olarak sıralanabilir (17,22-25).

Plateletlerden salgılanan büyüme faktörlerinin anabolik ve mitotik etkilerinin olduğu bilinmektedir (17,23). Etkileri rejenerasyonun başarılı bir şekilde başlaması ve sonuçlanabilmesi için hücre migrasyonu, infiltrasyonu, proliferasyonu ve diferansiyasyonu ve inflamatuvar bir yanıt oluşturarak, devamında da yeni doku oluşumunu sağlayarak gerçekleşir. (5,17,23).

Growth faktörler iki jenerasyona ayrılır. Birinci jenerasyonda yer alan platelet rich plasma PRP ve Platelet rich in growth factor PGRP'dür. PRP Marks tarafından keşfedilmiş sert doku iyileşmesinde kullanılmış ancak doku rejenerasyonuna etkisi sınırlı kalmıştır (30). PRGF ise Anitua tarafından keşfedilmiştir (31) ve PRP'ye benzer etkisi vardır. Her iki growth faktör ekstresinin de aktive olabilmesi için Kalsiyum klorid ve jel oluşturmak içinde öküz trombinine ihtiyacı vardır. Halen birinci jenerasyon growth faktörler özellikle yara iyileşmesi, ortopedik ve diş hekimliği vakalarının tedavilerinde kullanılmaktadır (15,24). İkinci jenerasyon growth faktörler PRF ve CGF'dir. PRF, Choukroun tarafından keşfedilmiştir (29). Taze venöz kanın 10 ml lik normal biyokimya tüpünün içerisinde 3000 devir/dak 10-12 dakika süre ile santrifüj edilmesiyle elde edilir. Santrifüj sonrası tüp içerisinde en üstte plateletten fakir plazma ortada PRF ve en altta kırmızı jel yer alır(20). Aktifleşmesi veya kullanılması için kalsiyum klorid gibi herhangi bir yardımcı ajana veya öküz fibrinine ihtiyaç yoktur (20). Sert ve yumuşak doku iyileşmesinde kullanılır. Halen diş hekimliği ortopedi, dermatoloji ve plastik cerrahi alanlarında kullanılmaktadır (20).

CGF 2006 yılında Sacco tarafından keşfedilmiştir. Taze kanın değişik hız ve sürelerde santrifüjü ile elde edilmiştir (22). CGF'i PRF'den ayıran özellik CGF'in santrifüj tekniğindedir. Bu teknik sayesinde fibrin ağları sağlam üç boyutlu yapı oluşturabilmektedir. Üç boyutlu sağlam yapı sellüler migrasyona kolaylık sağlamaktadır. Fibrin yapı içerisindeki growth faktörlerin salınımı yavaş ve uzun süreli olması nedeniyle de hücre proliferasyonunu daha fazla katkı sunmaktadır. Aynı zamanda CGF, diğer growth faktörlere göre daha fazla growth faktör ekstresi içerir (25). Sağlam fibrin yapı sayesinde viskoz, daha yapışkan ve daha çok esneyebilme kapasitesine sahiptir. Bu özellikleri nedeni ile yumuşak dokuların iyileşmesinde membran özelliği sağlayabilmekte, cilt altı enjeksiyonu yapılabilmektedir. Kullanılması için herhangi bir ek yardımcı ajana ihtiyaç yoktur. Elde edildikten sonra direk dokuya uygulanabilir (22, 25).

Beyin cerrahisi alanında growth faktörler periferik sinir yaralanmaları ve omur ilik yaralanmalarında kullanılmış ve olumlu raporlar yayınlanmıştır (26,27,28). Dura defektlerinde membran olarak kullanımıyla ilgili bir çalışma bulunmamaktadır. 2014 yılında yayınlanmış bir tezde sütüre edilmiş durada PRP kullanılmış ve olumlu etkisi ortaya konulmuştur(2). Bu çalışmada ise CGF'in yapı ve içerik özellikleri nedeniyle dura defektini kapatmada membran olarak kullanılabilme düşüncesinden yola çıkarak CGF'in sentetik duraya karşı ve diğer ikinci jenerasyon olan PRF ye karşı etkisini araştırıldı.

Dört ayrı gruba ayırdığımız tavşanların her birine kraniotomi yapıldı ve 1 cm<sup>2</sup> genişliğinde dura defekti oluşturuldu. Kontrol grubunda dura defektini kapatmada herhangi madde kullanılmadı ve cerrahi kapatma işlemi uygulanmadı. İkinci grupta dura defektini kapatmada sentetik greft olan Duragen kullanıldı. Üçüncü grupta dura defektini kapatmada PRF kullanıldı. Dördüncü grupta dura defektini kapatmada CGF kullanıldı.

CGF kullandığımız gruptaki dura rejenerasyonu ve dura defektindeki tam kapanma oranı %100 idi ve dura tüm katmanları ile oluşmuş idi. Gruplar arası karşılaştırmada sentetik greft kullandığımız gruba göre bu sonuç istatistiki olarak anlamlı derecede olumlu idi. Diğer grupların birbirleri ile arasındaki oranlamaları istatistik açıdan anlamlı değildi. Yine CGF kullanılan gruptaki tavşanlarda dura altındaki nöral dokuda işlem esnasında oluşturulan hasarın iyileşmesi ve kranium defektinin kapatılmasındaki etkinliği istatistik açıdan farklılık göstermese de diğer gruplara göre daha olumlu idi. Literatürde bu alanda yapılmış ender çalışmalardan biri Hirotsugu ve arkadaşlarının tavşanlarda yapmış oldukları kranial defektinin CGF ve kök hücre ile tedavisine yönelik çalışmadır (25). Her ne kadar biz deneklerde sadece CGF kullansak da bizim çalışmamızda elde ettiğimiz kemik dokudaki iyileşme oranı bu çalışmayla da benzer özellikte idi.

Sonuç olarak bu çalışmada CGF'in hasarlanmış duranın tamirindeki etkinliği net olarak gösterilmiştir bunun yanında komşu kemik yapı ve nöral doku hasarında tamirindeki etkinliğide gösterilmiştir. Çalışmamıza göre CGF'in beyin cerrahisi alanında hem dura mater defekti ile ilişkili (spontan rinore, hipofiz cerrahisi vb) hem de kemik ile ilişkili (kompresyon kırıkları ve kranial defektlerin kapatılması vb.) patolojilerin tamirinde kullanılabileceğini düşünmekteyiz. CGF in rutin kullanıma girmesi sayesinde insanın 10-20 cc'lik kendi kanının santifirüjünden elde edilen greftin kullanımı ile fasia lata ve temporal fasia grefti elde etmek için ikinci bir doku hasarına gerek kalmayacak, allogreft ve sentetik greftlerin getireceği ek maliyet, olası doku uyumsuzluğu ve enfeksiyon riskleri de engellenmiş olacaktır.

Kuşkusuz growth faktörlerin özellikle beyin cerrahisi alanındaki tedavi etkinliğinin ortaya konulduğu çalışma sayısı oldukça azdır ve çalışma sonuçlarımızı kıyaslama imkanı yoktur. Çalışmamızın kısıtlayıcı bir diğer tarafı ise CGF in bir growth faktör ekstresi olması nedeniyle tümör cerrahisi sonrası kullanılıp kullanılamayacağı açısından bir bilginin olmamasıdır. Bu sebeplerden dolayı bu çalışmamızın daha kapsamlı çalışmalarla da desteklenmesi ihtiyacı vardır. Ancak sonuçlarımızın gelecekte yapılacak yeni araştırmalar için umut verici olduğu kanaatindeyiz.

## KAYNAKLAR

1. Richard S. Snell: Klinik Nöroanatomy. Yıldırım M. ( Çeviri Editörü). 1. Baskı, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri. 2000; 491-496.
2. Paksoy K. Plateletten Zengin Plazmanın Deneysel Kraniyal Dura Mater Defektlerinde İyileşme Üzerindeki Etkisinin Histopatolojik İncelenmesi Samsun Uzmanlık Tezi 2014.
3. Sánchez JHS, Zúñiga RR , Anda SL, Dellamary FL, Castañeda RG, Cruz JD, Jaimes R Espinoza GJ: A New Bilayer Chitosan Scaffolding as a Dural Substitute: Experimental Evaluation World Neurosurgery. 2012; 77 (3/4): 577-582
4. Ozisik PA, Inci S, Soylemezoglu F, Orhan H, O.Tuncalp: Comparative dural closure techniques: a safety study in rats Surgical Neurology. 2006; 65: 42–47
5. Neulen A, Gutenberg A, Takács I, Wéber G, Wegman J, Schaeffer WS, Giese A: Evaluation of efficacy and biocompatibility of a novel semisynthetic collagen matrix as a dural onlay graft in a large animal model Acta Neurochir 2011; 153: 2241–2250
6. Kaya A: Yumuşak Doku Greftleri. Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Ağız ve Çene Hastalıkları Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir, Doktora Tezi, 2000; 6-16.
7. Takçı E, Kadioğlu HH, Bahçeci H, Aydın İH: Deneysel kranial dural defektlerin onarımında dehidrate human dura mater greftlerinin kullanımı histopatolojik değerlendirilmesi. Türk Nöroşirürji Dergisi. 2001; 11: 178-184
8. Amir A, Gatot A, Zucker G, Sagi A, Fliss DM.: Harvesting Large Fascia Lata Sheaths: A Rational Approach Skull Base Surgery. 2000; vol.10, no 1
9. Ciro Parlato, Roberto Granata, Aldo Moraci and Marina Accardo Dural Reconstruction in Meningioma Surgery, Meningiomas - Management and Surgery, Monleon D (Ed.) Italy 2012
10. Esposito F, Cappabianca P, Fusco M, Cavallo L, Bani G, Birolı F: Collagen-only biomatrix as a novel dural substitute Examination of the efficacy safety and outcome: Clinical experience on a series of 208 patients. Clinical neurology and neurosurgery. 2008; 110: 343-351.
11. Norotam K, Jose S, Nathoo N, Taylon C, Vora Y: Collagen matrix (duragen) in dural repair: Analysis of a new modified technique. Spine. 2004; 29 (24): 2861-2867.
12. Eppley BLMD, Woodel JE, Higgins JBS. Platelet quantification and growth factor analysis from PRP: Implications for wound healing. Plastic and Reconstructive Surgery. 2004; 114 (6): 1502-1508.

13. Lecovic V, Camargo PM, Weinlaender M, Vasilic N, Alecsic Z, Kenney EB: Effectiveness of a combination of platelet-rich plasma, bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration in the treatment of mandibular grade II molar furcations in humans J.Clin Periodonto. 2003; 30: 746-751
14. Man D, Plosker H, Winland-Brown JE: The use of autologous platelet-rich plasma (platelet gel) and autologous platelet-poor plasma (fibrin glue) in cosmetic surgery. Plast Reconstr Surg. 2001; 107 (1): 229-237.
15. Marck RE, Middelkoop E, Breederveld RS: Considerations on the use of platelet rich plasma, specifically for burn treatment. J Burn Care Res. 2014; 35 (3): 219-227
16. Ulaşlı MA: Kas iskelet sistemi yaralanmalarında plateletten zengin plazma tedavisi. Kocatepe Tıp Dergisi. 2012; 13: 51-59
17. Zhu Y , Yuan M , Meng H.Y , Wang AY , Guo QY. , Wang Y , Peng J: Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review Osteoarthritis and Cartilage. Nov. 2013; Vol. 21, Issue 11: 1627–1637
18. 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. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2008; 37 (8): 748-755.
19. Lichtenfels M, Colomé 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.
20. Dohan D M, Choukroun J, Diss A, Steve L. Dohan,dA J. J. Dohan, 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 2006; 101: 37-44
21. David M. Ehrenfest D, Rasmusson L, Albrektsson T: Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) Trends in Biotechnology 2009 Vol.27, No.3
22. Bohan Yu, Zuolin Wang: Effect of concentrated growth factors on beagle periodontal ligament stem cells in vitro Molecular Medicine Reports 2014; 9: 235-242
23. Turan Y, Erbil H.A, Koç E: Plateletten zengin plazma ve dermatoloji. Dermatoz. 2011; 2(3) 355-360.

24. Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen JA, Creugers NH: Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review Clin. Oral Impl. Res. 2008; (19): 539–545
25. Honda H, Tamai N, Naka N, Yoshikawa H, Myoui A: Bone tissue engineering with bone marrow-derived stromal cells integrated with concentrated growth factor in Rattus norvegicus calvaria defect model Journal of Artificial Organs Sept. 2013; Vol.16, Issue 3: 305-315.
26. Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Byrne PJ: Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in rat model. The Laryngoscope. 2007; 117 (1): 157-165
27. 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. International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery. 2008; 37 (8): 748-755
28. Lichtenfels M, Colomé 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
29. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A: Une opportunité en parodontologie: le PRF. Implantodontie 2000;42:55-62
30. Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, Buffoli B, Labanca M, Scari G, Sacc L, Batani T, Rezzani R: Growth Factors, CD34 Positive Cells, and Fibrin Network Analysis in Concentrated Growth Factors Fraction Microscopy Research and Technique. 2011; (74): 772–777
31. Anitua E: The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. Pract Proced Aesthet Dent. Aug 2001; 13(6):487-93; 487-93