

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ASKORBİK ASİT VE KOLEKALSİFEROL-D3'ÜN
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN İÇERİĞİNDEKİ
BÜYÜME FAKTÖRLERİNE ETKİSİ**

Dt. Bedii Ender TOPÇU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANI

Doç. Dr. Mustafa ÖZCAN

ADANA-2025

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ASKORBİK ASİT VE KOLEKALSİFEROL-D3'ÜN
TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN İÇERİĞİNDEKİ
BÜYÜME FAKTÖRLERİNE ETKİSİ**

Dt. Bedii Ender TOPÇU

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANI

Doç. Dr. Mustafa ÖZCAN

Bu proje, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından TDH
2024-16601 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA-2025

KABUL VE ONAY

Uzmanlık Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan
“ASKORBİK ASİT VE KOLEKALSİFEROL-D3’ÜN TROMBOSİTTEN
ZENGİN FİBRİN İÇERİĞİNDEKİ BÜYÜME FAKTÖRLERİNE
ETKİSİ”

Adlı çalışma, aşğıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 07/ 01/ 2025

TEZ SINAV JÜRİSİ

Çukurova Üniversitesi
Başkan

Çukurova Üniversitesi
Üye

Çukurova Üniversitesi
Üye

Çukurova Üniversitesi
Üye

Biruni Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun 15 / 01 / 2025 tarih ve 3/3 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca benden desteğini ve bilgisini esirgemeyen, her zaman sevgilerini ve desteklerini hissettiğim, insani ve ahlaki değerleri ile kendime örnek edindiğim, öğrencileri olmaktan gurur duyduğum üzerimde büyük emekleri olan değerli hocalarıma,

Tüm uzmanlık süreci boyunca büyük bir keyif, enerji ve mutlulukla birlikte çalıştığım, çok güzel anılar paylaştığım, destek ve sevgileriyle yanımda olan sevgili asistan arkadaşlarıma ve desteğini esirgemeyen çalışma personellerimize,

Beni her koşulda destekleyen, yanımda olan, sonsuz sevgisi ve emeğiyle bugünlere gelmemi sağlayan aileme,

Hayat yolunu beraber yürüyeceğim, her zaman arkamda olan yol arkadaşşıma,
Sevgi, saygı ve tüm içtenliğimle sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER	II
ÇİZELGE LİSTESİ	V
ŞEKİL LİSTESİ.....	VI
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
ÖZET	X
ABSTRACT.....	XI
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	2
2.1. Trombosit Konsantreleri ve Tarihsel Gelişimi	2
2.1.1. Fibrin Yapıştırıcısı	3
2.1.2. Trombositten Zengin Plazma (TZP).....	3
2.1.3. Plazma Açısından Zengin Büyüme Faktörü (PRGF)	4
2.1.4. Trombositten Zengin Fibrin (TZF, L-TZF).....	5
2.1.5. İleri Düzey Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF)	8
2.1.6. Düşük Hız Santrifüj Konsepti ile Üretilen Trombosit Konsantreleri	9
2.1.7. Enjekte Edilebilir TZF (i-TZF).....	11
2.1.8. Konsantre Büyüme Faktörleri (CGF ve LPCGF).....	11
2.1.9. Titanyum-TZF (T-TZF).....	12
2.1.10. Horizontal Santrifüj Yöntemi	12
2.1.11. Bio-Trombositten Zengin Fibrin (BIO-TZF)	13
2.1.12. Konsantre Trombositten Zengin Fibrin (C-TZF)	14
2.1.13. Albümin ile Zenginleştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin (ALB-TZF)	14
2.2. Trombositten Zengin Fibrinin Yapısı ve Etkileri	15
2.2.1. Trombositlerin Yapısı ve Biyolojik Etkileri.....	15
2.2.2. Lökositlerin Yapısı ve Biyolojik Etkileri	17
2.2.3. Fibrin Yapısı ve TZF'nin Terapötik Etkisi	18
2.3. TZF'nin Yara İyileşme Mekanizması Üzerine Biyolojik Etkileri	19
2.4. Trombosit Konsantrelerinin Kullanım Alanları.....	20
2.5. Taşıyıcı Sistem Olarak Trombositten Zengin Fibrin	22

2.5.1. TZF ve İlaç Kombinasyonları.....	23
2.5.1.1. TZF ile Antibiyotiklerin Kombinasyonu	23
2.5.1.2. TZF ile Hyalüronik Asit (HA) Kombinasyonu.....	24
2.5.1.3. TZF ile Mine Matriks proteini (EMD) Kombinasyonu	25
2.5.1.4. TZF ile Steroid Olmayan Anti-İnflamatuvar İlaçların Kombinasyonu	26
2.5.1.5. TZF ile Statinlerin Kombinasyonu	26
2.5.1.6. TZF ile Bifosfonatların Kombinasyonu.....	27
2.5.1.7. TZF ile Biguanidlerin Kombinasyonu	27
2.5.1.8. Greft Malzemeleri ile İlaç-TZF Kombinasyonu	28
2.5.1.9. TZF ile Magnezyum (Mg) Kombinasyonu.....	28
2.5.1.10. TZF ile C Vitamini (Askorbik Asit-AA) Kombinasyonu.....	29
2.6. C Vitamini (L-askorbik asit, AA)	30
2.6.1. C Vitamininin Biyokimyasal Rolü, Emilimi ve Etkileri	30
2.6.2. Periodontal Dokularda C Vitamininin Rolü	32
2.7. D Vitamini (Kolekalsiferol).....	35
2.7.1. D Vitamininin Biyokimyasal Rolü, Emilimi ve Genel Etkileri.....	35
2.7.2. Periodontal Dokularda D vitamininin Rolü	38
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	42
3.1. Hasta Seçimi	42
3.1.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi.....	42
3.2. Çalışma Protokolü.....	43
3.2.1. Vitamin Dozlarının Belirlenmesi.....	44
3.3. TZF Hazırlık Protokolü	44
3.4. Büyüme Faktörlerinin Belirlenmesi.....	46
3.5. SEM Analizi	48
3.6. Çekme ve Uzama Testleri.....	49
3.7. İstatiksel Analiz	49
4. BULGULAR.....	51
4.1. SEM Analizi	51
4.2. TZF Gruplarının Mekanik Özelliklerinin Değerlendirilmesi	52
4.3. TZF Gruplarının Büyüme Faktör Düzeylerinin Belirlenmesi	56

4.4. TZF Gruplarının İnflamatuvar Sitokin Düzeylerinin Belirlenmesi	62
5.TARTIŞMA	66
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	75
KAYNAKÇA.....	77
ÖZGEÇMİŞ	92



ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1. Serum 25-Hidroksivitamin D konsantrasyonları ve sağlık durumu	37
Çizelge 2. D vitamini için önerilen tüketim miktarları	38
Çizelge 3. Uzama miktarı ve çekme dayanımı değerleri.....	55
Çizelge 4. Büyüme faktör düzeylerinin değerlendirilmesi	61
Çizelge 5. İnflamatuar sitokin düzeylerinin değerlendirilmesi	64
Çizelge 6. Biyomolekül düzeyleri ile C vitamini, D vitamini ve trombosit düzeyleri arasındaki korelasyon katsayıları.....	65



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. TZP hazırlık aşamaları	4
Şekil 2. PRGF hazırlık aşamaları.....	5
Şekil 3. TZF hazırlık aşamaları	6
Şekil 4. TZF katmanları	7
Şekil 5. TZF kutusu	7
Şekil 6. L-TZF ile A-TZF'nin karşılaştırılması.....	8
Şekil 7. İ-TZF'nin enjektöre çekilmesi.....	11
Şekil 8. Horizontal santrifüj cihazı	13
Şekil 9. Farklı santrifüj sistemlerinin TZF yapısına etkisi.....	13
Şekil 10. Bio-TZF hazırlık aşamaları	14
Şekil 11. D ve C vitamini	44
Şekil 12. C vitamininin enjektöre çekilmesi.....	45
Şekil 13. C vitamininin kan örneklerine eklenmesi.....	45
Şekil 14. D vitamininin enjektöre çekilmesi.....	45
Şekil 15. D vitamininin kan örneklerine eklenmesi.....	45
Şekil 16. Elde edilen TZF grupları	45
Şekil 17. Orbital shaker ile inkübasyon	47
Şekil 18. TZF efendorf tüplerine aktarılması.....	47
Şekil 19. ELISA protokolü	47
Şekil 20. Numunelerin altın-paladyum ile kaplanması.....	48
Şekil 21. Quanta 650 Field Emission Cihazı	48
Şekil 22. Testometrik cihazı ile TZF örneklerine çekme testi uygulaması.....	49
Şekil 23. 6.000X ve 24.000X büyütme ile SEM görüntüleri.....	52
Şekil 24. Gruplar arası çekme dayanımının karşılaştırılması.....	53
Şekil 25. Gruplar arası uzama miktarının karşılaştırılması.	54
Şekil 26. Gruplar arası FGF-2 düzeyinin karşılaştırılması.	56
Şekil 27. Gruplar arası IGF-1 düzeyinin karşılaştırılması.	57
Şekil 28. Gruplar arası PDGF düzeyinin karşılaştırılması.	58
Şekil 29. Gruplar arası VEGF düzeyinin karşılaştırılması.	59
Şekil 30. Gruplar arası TGF- β düzeyinin karşılaştırılması.....	60
Şekil 31. Gruplar arası IL-1 β düzeyinin karşılaştırılması.....	62
Şekil 32. Gruplar arası TNF- α düzeyinin karşılaştırılması.....	63

KISALTMALAR DİZİNİ

AA	: Askorbik Asit
ADP	: Adenozin Difosfat
ALB-TZF	: Albümin ile Zenginleştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin
ALP	: Alkalen Fosfataz
Ape1/Ref-1	: Apoptotik Endonükleaz 1 / Redoks Faktör 1
AP-1	: Aktivasyon Protein 1
A-TZF	: İleri Trombositten Zengin Fibrin
A-TZF+	: İleri Trombositten Zengin Fibrin +
BIO-TZF	: Bio-Trombositten Zengin Fibrin
BMP	: Kemik Morfojenik Protein
C-TZF	: Konsantre Trombositten Zengin Fibrin
CGF	: Konsantre Büyüme Faktörleri
CHA	: Kombine Hiyalüronik Asit
HA	: Hiyalüronik Asit
CXCL-1	: Kemokin Ligandı 1
DHA	: Dokosaheksaenoik sit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ED-71	: 1 α ,25-Dihidroksivitamin D3 Analogu
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
ELISA	: Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi
EMD	: Mine Matris Türevi
EPA	: Eikosapentaenoik Asit
FGF-2	: Fibroblast Büyüme Faktörü 2
FNB	: Gıda ve Beslenme Kurulu
GSH	: Glutatyon
NFκB	: Nükleer Faktör-Kappa B
Nrf2	: Nükleer Faktör Eritroid 2 İlişkili Faktör 2
Trx	: Tioeredoksin
GLUT	: Glikoz Taşıyıcıları
HA	: Hiyalüronik Asit

HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
LPS	: Lipopolisakkarit
i-TZF	: Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin
EGF	: Epitelyal Büyüme Faktörü
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1
IL-1β	: İnterlökin 1 Beta
INF-γ	: İnterferon Gama
T-TZF	: Titanyumla Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin
TZP	: Trombositten Zengin Fibrin
TZF	: Trombositten Zengin Fibrin
LSCC	: Düşük Hız Santrifüj Konsepti
L-TZP	: Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin
L-TZF	: Lökosit ve Trombosit Açısından Zengin Fibrin
LPCGF	: Sıvı Faz Konsantre Büyüme Faktörü
KOAH	: Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı
UVB	: Ultraviyole B
RDA	: Önerilen Günlük Alım Miktarı
Th1	: T Yardımcı Hücreleri 1
Th2	: T Yardımcı Hücreleri 2
Th17	: T Yardımcı Hücreleri 17
MAPK	: Mitogenle Aktive Olan Protein Kinaz
MiR-210	: MikroRNA 210
mg	: Magnezyum
Mg	: miligram
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MTA	: Mineral Trioksit Agregat
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
NASEM	: Milli Bilimler, Mühendislik ve Tıp Akademisi
NFKB	: Nükleer Faktör Kappa B
Nrf-2	: Çekirdek İlgili Faktör İlişkili Faktör 2
ng/mL	: nanogram/mililitre
nmol/L	: nanomol/litre

ml	: Mililitre
OCN	: Osteokalsin
OFD	: Açık Flep Dekortikasyonu
OPG	: Osteoprotegrin
H-TZF	: Horizontal Santrifüjlenmiş Trombositten Zengin Fibrin
OPN	: Osteopontin
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PDLSC	: Periodontal Ligament Kök Hücresi
P-TZF	: Saf Trombositten Zengin Plazma
P-TZF	: Saf Trombositten Zengin Fibrin
PRGF	: Plazma Açısından Zengin Büyüme Faktörü
TFP-PPP	: Trombositten Fakir Plazma
PTH	: Parathormon
RAAS	: Renin-Anjiyotensin-Aldosteron Yolağı
RBC	: Kırmızı Kan Hücrelerinden Oluşan Katman
RCF	: Göreceli Santrifüj Kuvveti
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RPM	: Devir Hızı (Rotasyon Hızı)
RUNX2	: Runt İlişkili Transkripsiyon Faktör 2
YDR	: Yönlendirilmiş Doku Rejenerasyonu
YKR	: Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu

ÖZET

Askorbik Asit ve Kolekalsiferol D3'ün Trombositten Zengin Fibrin İçeriğindeki Büyüme Faktörlerine Etkisi

Amaç: Bu tez çalışmasının amacı, askorbik asit (Vitamin C) ve kolekalsiferol (Vitamin D3) eklenerek hazırlanan trombositten zengin fibrin (TZF) içeriğindeki büyüme faktörü düzeyleri, sitokin seviyeleri ve mekanik özelliklerinin in vitro olarak değerlendirilmesidir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya, sağlıklı 10 erkek ve 10 kadın birey dahil edildi. Her bir katılımcıdan 7 tüp venöz kan alındı ve bu kan örnekleri; kontrol grubu (TZF), C vitamini eklenen grup (VitC-TZF) ve D vitamini eklenen grup (VitD-TZF) olarak üç çalışma grubuna ayrıldı. TZF örnekleri standart santrifüj protokolü ile hazırlandı ve büyüme faktörleri (IGF-1, PDGF, FGF-2, VEGF, TGF- β 1) ile inflamatuvar sitokin (IL-1 β , TNF- α) seviyeleri ELISA yöntemiyle 24. ve 72. saatte analiz edildi. Mekanik özellikler; SEM analizi, çekme dayanımı ve uzama miktarı ölçümleri ile değerlendirildi.

Bulgular: VitC-TZF grubunun çekme dayanımı ve uzama miktarının kontrol ($p < 0,05$) ve VitD-TZF gruplarına göre yüksek olduğu saptandı. FGF-2 ve PDGF düzeyleri VitD-TZF grubunda yüksek gözlenirken diğer büyüme faktörleri kontrol grubunda daha fazla tespit edildi. VitC-TZF grubunda IL-1 β düzeyi diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulunurken gruplar arası TNF- α seviyelerinde anlamlı bir fark gözlenmedi.

Sonuç: Askorbik asit ve kolekalsiferol D3 eklenerek hazırlanan trombositten zengin fibrinin, mekanik dayanıklılığının arttığı, büyüme faktörleri ve inflamatuvar süreçler üzerinde olumlu biyolojik etkiler gösterdiği gözlemlendi. Bu bulgular, trombositten zengin fibrinin periodontal rejenerasyon süreçlerinde daha etkin bir şekilde kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.

Anahtar kelimeler: Askorbik asit, büyüme faktörleri, inflamatuvar sitokinler, kolekalsiferol D3, trombositten zengin fibrin.

ABSTRACT

Effects of Ascorbic Acid and Cholecalciferol D-3 on Growth Factors in Platelet-Rich Fibrin

Aim: The aim of this study was to evaluate the effects of adding ascorbic acid (vitamin C) and cholecalciferol D3 (vitamin D) to platelet-rich fibrin (PRF) matrices on growth factors, cytokine levels, and mechanical properties in vitro.

Materials and Methods: The study included 10 healthy male and 10 healthy female participants. Seven tubes of venous blood were collected from each participant, and these samples were divided into three groups: the control group (PRF), the vitamin C group (VitC-PRF), and the vitamin D group (VitD-PRF). PRF samples were prepared using a standard centrifugation protocol, and growth factors (IGF-1, PDGF, FGF-2, VEGF, TGF- β 1) as well as inflammatory cytokine levels (IL-1 β , TNF- α) were analyzed using the ELISA method at 24 and 72 hours. Mechanical properties were assessed through SEM analysis, tensile strength, and elongation measurements.

Results: The tensile strength and elongation of the VitC-PRF group were found to be significantly higher compared to the control ($p < 0.05$) and VitD-PRF groups. FGF-2 and PDGF levels were observed to be elevated in the VitD-PRF group, while other growth factors were more abundant in the control group. IL-1 β levels were significantly lower in the VitC-PRF group compared to the other groups, while no significant differences were observed among the groups for TNF- α levels.

Conclusion: The addition of ascorbic acid and cholecalciferol D3 to platelet-rich fibrin increased its mechanical durability and demonstrated positive biological effects on growth factors and inflammatory processes. These findings suggest that platelet-rich fibrin may be used more effectively in periodontal regeneration processes.

Keywords: Ascorbic acid, cholecalciferol D3, growth factors, inflammatory cytokines, platelet-rich fibrin.

1.GİRİŞ

Rejeneratif tıp ve diş hekimliği, hasarlı dokuların tedavisi ve yeniden oluşturulması amacıyla biyolojik süreçleri optimize eden yenilikçi bir alan olarak ön plana çıkmaktadır. Bu disiplin; biyomateriyal, hücre ve biyokimyasal faktörlerin entegrasyonu yoluyla doku iyileşmesi ve rejenerasyon süreçlerini desteklemektedir. Günümüzde, bu alanda otolog trombosit konsantrelerinin kullanımı yaygınlaşmaktadır. Özellikle trombositten zengin fibrin (TZF); büyüme faktörleri ve sitokinlerin salınımını sağlayarak hücrel migrasyon, proliferasyon, farklılaşma ve anjiyogenez gibi temel rejenerasyon mekanizmalarını desteklemektedir.¹ Bu özellikler, periodontal ve dental cerrahi işlemlerde yara iyileşmesini hızlandırmak amacıyla TZF'yi önemli bir biyolojik materyal haline getirmiştir.

TZF'nin rejeneratif etkisi, farklı biyomateriyaller ve farmakolojik ajanlarla kombine edildiğinde daha belirgin hale gelmektedir.²⁻⁵ TZF aynı zamanda ilaç taşıyıcı bir sistem olarak da kullanılmakta ve hedef bölgedeki ilaç konsantrasyonunu artırarak sistemik yan etkileri en aza indirmektedir.⁶ Bu yaklaşım, minimal invaziv bir tedavi seçeneği sunarken, antimikrobiyal etkilerin artırılması için antibiyotiklerin eklenmesinin yanı sıra çeşitli vitaminlerin TZF'ye eklenmesiyle rejeneratif kapasitenin artırılabilceğini göstermektedir.^{2-4,7}

Özellikle kolajen üretimini destekleyen ve güçlü antioksidan özellikler gösteren C vitamini ile kemik metabolizması üzerindeki önemli etkileri ve güçlü anti-inflamatuar özellikleriyle dikkat çeken D vitamini periodontal dokuların rejenerasyonunda önemli katkılar sağlamaktadır.⁸ Diş hekimliği uygulamalarında ve periodontal dokuların onarım süreçlerinde C ve D vitaminlerinin sağladığı faydalar göz önünde bulundurulduğunda, bu vitaminlerin santrifüj öncesi lokal olarak eklenmesi ile elde edilen TZF'nin içerisindeki büyüme faktörlerini, sitokinleri ve mekanik özelliklerini olumlu yönde etkileyebileceği ve TZF'nin rejeneratif kapasitesini artırarak periodontal tedavi süreçlerinde daha başarılı sonuçlar sağlayabileceği düşünülmektedir.

Bu in vitro çalışmanın amacı, askorbik asit ve kolekalsiferol eklenerek elde edilen TZF içeriğindeki büyüme faktörü düzeyleri, sitokin seviyeleri ve mekanik özelliklerinin değerlendirilmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Trombosit Konsantreleri ve Tarihsel Gelişimi

Otolog trombosit konsantreleri, tıp ve diş hekimliğinde yara iyileşmesini hızlandırmak, rejenerasyon kapasitesini artırmak, hemostazı sağlamak ve enfeksiyonu önlemek amacıyla kullanılmaktadır.⁹

İlk kez 1954'te Kingsley tarafından tanımlanan trombositten zengin plazma (TZP), yüksek trombosit konsantrasyonu ile trombositopeni tedavisinde kullanılmıştır.^{10,11} 1970'lerin sonunda Matras'ın çalışmalarıyla cerrahi alanda fibrin yapıştırıcı olarak kullanımı yaygınlaşmıştır.⁹ 1986'da Knighton, trombositlerin yara iyileşmesindeki etkisini raporlamış¹², 1997'de Whitman ise trombosit konsantrelerini "trombosit jeli" olarak adlandırmıştır.¹³ 1998'de Marx, TZP'nin kemik rejenerasyonundaki önemini göstermiştir.¹⁴ 2001'de Choukroun, antikoagülan eklenmeden üretilen trombositten zengin fibrini (TZF) geliştirmiştir.¹⁵ 2006'da ise Sacco konsantre büyüme faktörünü (CGF) tanımlamıştır.¹⁶ 2009'da Ehrenfest, trombosit konsantrelerini; saf trombositten zengin plazma (P-TZP), lökosit ve trombositten zengin plazma (L-TZP), saf trombositten zengin fibrin (P-TZF) ve lökosit ve trombositten zengin fibrin (L-TZF) olacak şekilde dört sınıfa ayırmıştır.¹⁷ 2014'te Choukroun lökosit içeriği yoğun ileri TZF'yi (A-TZF) ve 2017'de enjekte edilebilir TZF'yi (i-TZF) tanıtmıştır.¹⁸

Özellikle i-TZF, sıvı formu sayesinde kolay uygulanabilirliği ve biyomateryallerle kombinasyon yeteneği ile dikkat çekmiştir. Bu gelişmeler, otolog trombosit konsantrelerinin klinik etkinliğini artırmış ve çeşitli terapötik alanlarda (yara iyileşmesi, kemik rejenerasyonu ve immünmodülasyon vb.) kullanımını yaygınlaştırmıştır. Tüm bu otolog ürünler, iyileşme süreçlerini optimize etmek ve hastaların tedavi süreçlerini iyileştirmek amacıyla geliştirilmeye devam etmektedir.¹⁹

Bu yenilikçi yaklaşımlar, otolog trombosit konsantrelerinin yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu alanında önemli bir yer edinmesini sağlamış ve bu biyomateryallerin tıp ve diş hekimliğinde kullanımını artırmıştır. Gelişen teknolojiler ve bilimsel araştırmalar, bu otolog ürünlerin etkinliğini ve güvenliğini daha da artırarak, gelecekte daha geniş uygulama alanlarına yayılmasını sağlamıştır.¹⁹

2.1.1. Fibrin Yapıştırıcısı

Fibrin yapıştırıcısı, 1970 yılında Matras tarafından bulunan trombosit konsantrelerinin öncüsü olup, tıp alanlarında yaklaşık 40 yıldır kullanılmakta olan otolog bir trombosit konsantresidir. İçeriğinde ayrı ayrı liyofilize insan fibrinojeni ve sığır veya insan trombini bulunmaktadır. Bu bileşenlerin etkili bir şekilde işlev görebilmesi için kalsiyum tuzları da gerekmektedir. Bileşenler karıştırıldığında pıhtılaşma taklit edilerek jel benzeri bir fibrin pıhtısı elde edilmektedir. Durdurucu topikal şekilde uygulanıp kanama durdurucu olarak kullanılabilineceği gibi, doku bütünlüğünün bozulduğu durumlarda doku yapıştırıcısı olarak ve kemik grefti parçalarını birleştirmek için de kullanılabilir. Ancak fibrin yapıştırıcıları üretim maliyeti, düşük trombosit içeriği ve düzensiz yapısı sebebiyle trombosit konsantrelerine göre daha az tercih edilir hale gelmiştir.²⁰

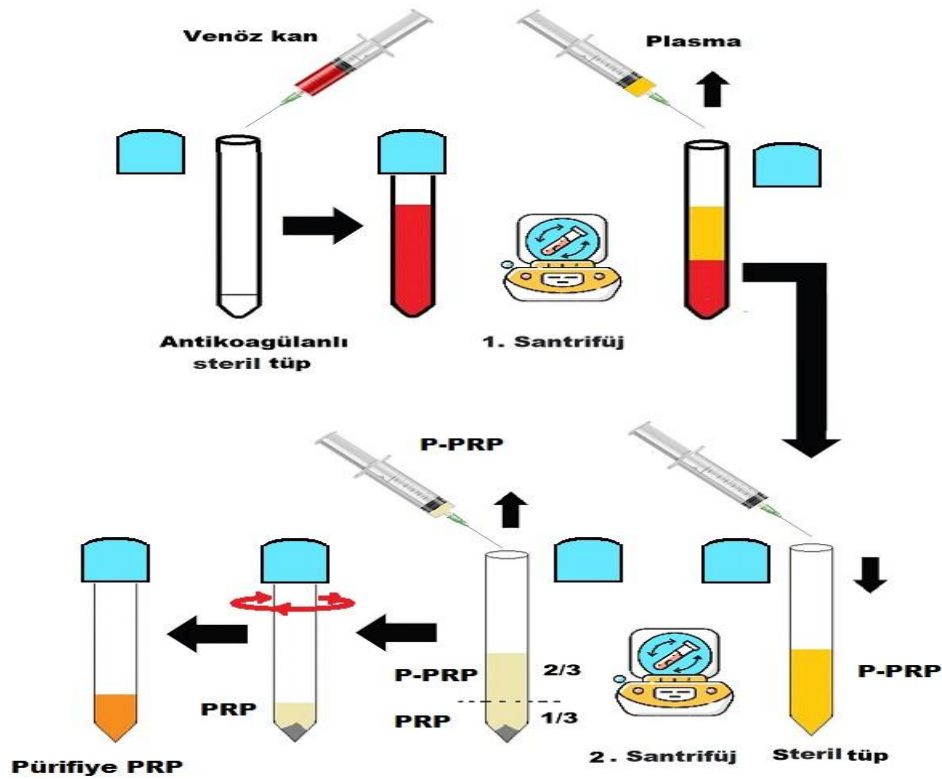
2.1.2. Trombositten Zengin Plazma (TZP)

Trombositten zengin plazma (TZP), 1998 yılında Robert Marx tarafından geliştirilmiş ilk nesil trombosit konsantresidir. TZP, küçük bir plazma hacminde otolog insan trombositlerinin yoğunlaşmış halidir ve her mikrolitresinde yaklaşık 1 milyon trombosit barındırmaktadır. TZP'nin içindeki trombositlerin aktivasyonu, iyileşme sürecini destekleyen çeşitli büyüme faktörlerinin salınmasını sağlamaktadır.¹⁴

TZP'nin hazırlık aşamaları şu şekildedir:

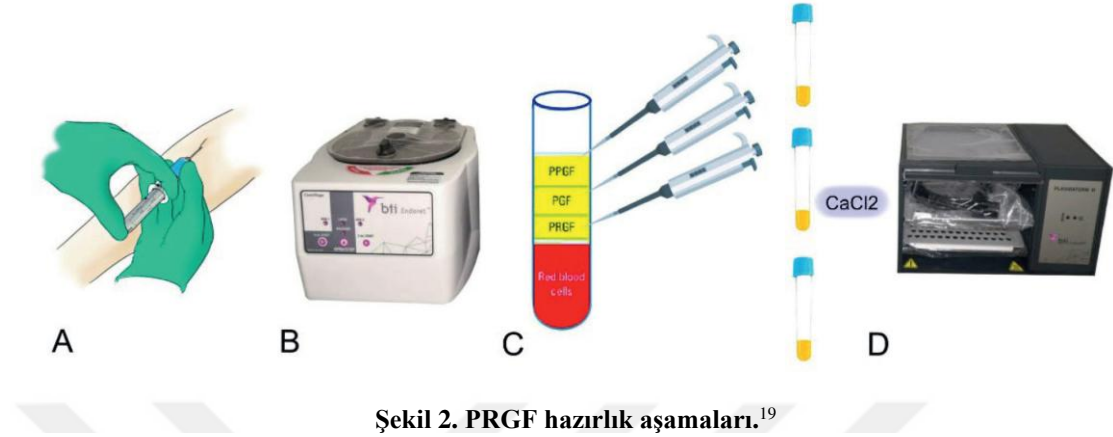
- Antikoagülan (%3,2 sodyum sitrat) içeren vakumlu test tüplerine kan alınması.
- 1300 rpm (dakikadaki devir sayısı) 10 dakika ilk santrifüjleme.
- Santrifüjleme sonrası katı partiküllerin çökertilmesini takiben, üstte kalan berrak sıvı kısmın steril bir tüpe aktarılması ve 2000 rpm 10 dakika ikinci santrifüjleme.
- İkinci santrifüjün ardından, trombositten fakir plazmanın (TFP-PPP) çıkarılması.
- TZP'nin elde edilmesi^{14,21} (Şekil 1).

Kullanım öncesinde sıvı TZP'ye kalsiyum klorür ve sığır trombini eklenerek trombositler aktive edilmekte ve TZP'nin jel haline gelmesi sağlanmaktadır. İşlem sonucunda aktive olan trombositler, büyüme faktörleri ve sitokinlerini serbest bırakarak doku rejenerasyonuna destek olmaktadır.^{22,23}



2.1.3. Plazma Açısından Zengin Büyüme Faktörü (PRGF)

pıhtılaşma süreci başlamakta ve sonuç olarak jelatinimsi bir PRGF elde edilmektedir (Şekil 2).²¹



PRGF diğer trombosit konsantrelerinden farklı olarak lökosit içermemektedir. Lökositlerin antimikrobiyal etkileri için salgıladıkları enzimlerin, sağlıklı çevre dokularda hasara neden olabileceği düşünülmektedir. Bu durumun doku yenilenme süreçlerini olumsuz etkileyebileceği göz önünde bulundurularak, PRGF'nin hazırlanması sırasında lökositler seçici bir şekilde ayrıştırılmaktadır.¹⁹ Karmaşık hazırlık süreçleri, antikoagülan kullanımı, düşük büyüme faktörü içeriği gibi olumsuz özellikleri bulunmaktadır.²¹

2.1.4. Trombositten Zengin Fibrin (TZF, L-TZF)

Trombositten zengin fibrin (TZF), 2000 yılında Joseph Choukroun tarafından geliştirilen ikinci nesil trombosit konsantresi olarak tanıtılmıştır.¹⁵ TZF'nin hazırlanması için antikoagülan veya sığır trombini gerekmemektedir. Hazırlanması için vakumlu test tüpleri ve sabit açılı santrifüj cihazı yeterlidir. TZF'nin hazırlık aşamaları şu şekildedir:

- Antikoagülanlı vakumlu tüplere kan alınması.
- 2700 rpm 12 dakika santrifüj.
- Fibrin pıhtısı, test tüpünün ortasında (üstte sarı, altta kırmızı) oluşur.
- Santrifüjden sonra test tüpleri açık bırakılır ve fibrin pıhtı olgunlaşır.

- Olgunlaşmış fibrin pıhtı, TZF kutusunda membran veya tıkaç olarak şekillendirilir (Şekil 3).¹⁵

Antikoagülan kullanılmayan cam tüplerde kanın silika ile teması, trombosit aktivasyonunu ve fibrin polimerizasyonunu başlatmaktadır. Bu nedenle, pıhtılaşma aşamaları hemen başlayacağı için santrifüj işleminin kan alındıktan hemen sonra yapılması önerilmektedir. Santrifüj sonrası tüpte eritrositler, trombositten fakir plazma ve ortada trombosit, lökosit, büyüme faktörleri ve sitokinlerden zengin fibrin matriks bulunmaktadır.^{17,25} Santrifüj işlemi sonrası fibrin matrikste büyüme faktörleri ve sitokinler bulunmaktadır ve TZF, kan tüpündeki trombositlerin %90'ını ve lökositlerin %50'sini içermektedir.^{26,27}



Şekil 3. TZF hazırlık aşamaları

Santrifüj işlemi sonunda tüpte üç katman oluşmaktadır:

- **Alt tabaka:** Eritrositlerden oluşan kırmızı katman (RBC)
- **Orta tabaka:** Trombosit, lökosit, büyüme faktörleri ve sitokinlerden zengin fibrin ağı (TZF pıhtısı)
- **Üst tabaka:** Hücresiz ve trombositten fakir plazma (TFP)¹⁷ (Şekil 4).



Şekil 4. TZF katmanları.²⁸

TZF hazırlandıktan sonra, kırmızı kan hücreleri ve TFP'de neredeyse hiç trombosit bulunmamaktadır. Histolojik analizler, trombositlerin fibrin pıhtısının alt kısmında yoğunlaştığını göstermektedir.²⁹

Dr. Joseph Choukroun, 2007 yılında TZF pıhtı ve membranlarının hazırlanması için TZF kutusu adlı metal bir kompresyon kabı geliştirmiştir.³⁰ Lökosit ve trombosit açısından zengin fibrin (L-TZF), steril pensetle tüpten çıkartıldıktan sonra, kırmızı kan hücresi tabakasından ayrılarak TZF kutusuna yerleştirilmektedir (Şekil 5).^{30,31} TZF kutusu kullanıldığında, büyüme faktörlerinin daha yüksek miktarda salınımı gösterilmiştir.³⁰ Klinik şartlarda ise gazlı bezler arasında sıkıştırıldığında da güçlü bir membran yapısına dönüşen TZF etkili bir şekilde kullanılabilir.¹⁷



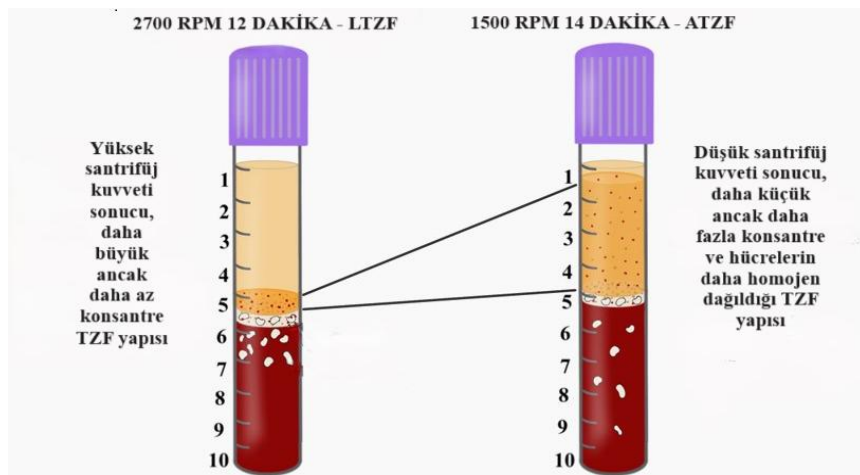
Şekil 5. TZF kutusu

TZF'nin biyolojik etkisinde trombositler ve lökositler kritik rol oynamaktadır ancak fibrin matriks de iyileşme sürecine katkıda bulunmaktadır.^{25,32} Yoğun fibrin matriks, büyüme faktörlerinin yavaş salınımını sağlayarak iyileşmeyi desteklemektedir.³²

TZF'nin özelliklerini iyileştirmek amacıyla kan örneğinin toplandığı tüpün özelliklerini, santrifüj hızını ve süresini değiştirerek birçok ürün tanıtılmıştır. Bu ürünler arasında konsantre büyüme faktörü (CGF), ileri trombositten zengin fibrin (A-TZF) ve enjekte edilebilir trombositten zengin fibrin (i-TZF) bulunmaktadır. Tamamen otolog olan bu kan ürünleri, ikinci nesil trombosit konsantrelerinin özelliklerine sahiptir ve herhangi bir ilave ajana ihtiyaç duymamaktadır.³³

2.1.5. İleri Düzey Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF)

İleri düzey trombositten zengin fibrin (A-TZF) 2014 yılında Choukroun tarafından tanıtılmıştır.¹⁸ A-TZF, hücre kaybını önlemeyi ve canlı hücre sayısını artırmayı hedefleyen düşük hızla santrifüjleme konsepti (low-speed centrifugation concept/LSCC) sonucunda geliştirilmiştir ve yapısının ilk nesil otolog trombosit konsantrelerine göre daha fazla lökosit, trombosit, nötrofil, lenfosit içerdiği ve uzun süreli büyüme faktörü salınımı sağladığı öne sürülmüştür. 1500 rpm hızla 14 dakika santrifüj işlemi ile elde edilen yapının L-TZF membranına kıyasla daha kısa olduğu ancak daha fazla hücre içerdiği ve daha fazla büyüme faktörü salınımı yaptığı gözlenmiştir (Şekil 6).^{23,32,34}



Şekil 6. L-TZF ile A-TZF'nin karşılaştırılması.

2.1.6. Düşük Hız Santrifüj Konsepti ile Üretilen Trombosit Konsantreleri

Matrikslerininrifüj konsepti (LSCC, low speed centrifugation concept), TZF matrikslerinin hazırlanmasında kullanılan santrifüj hızının optimize edilmesiyle trombosit, lökosit ve büyüme faktörlerinin daha etkin bir şekilde zenginleştirilmesini sağlayan bir yöntemdir. LSCC bu trombosit konsantrelerinin etkinliğini artırarak yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunu desteklemektedir.³⁵

LSCC, TZF matrikslerinin hazırlanmasında uygulanan santrifüj hızının ve kuvvetinin azaltılması prensibine dayanmaktadır. Geleneksel yüksek hız santrifüj yöntemlerinde, trombosit ve lökositler hızla ayrışmakta ve tüpün alt kısmında toplanmaktadır. Ancak LSCC, daha düşük hızlarda ve kuvvetlerde santrifüj yaparak bu hücrelerin ve büyüme faktörlerinin daha homojen bir şekilde TZF konsantresi içinde dağılmasını sağlamaktadır.³⁵

Düşük hız santrifüj konseptinin temel prensipleri:

- **Santrifüj hızı ve kuvvetinin azaltılması:** Yüksek hız santrifüj yöntemlerinde (örneğin, 2400 rpm) hücreler ve büyüme faktörleri hızlı bir şekilde ayrılmaktadır. Ancak düşük hız santrifüj yöntemlerinde (örneğin 600 rpm), hücreler ve büyüme faktörleri daha yavaş ayrılarak TZF konsantresi içinde daha homojen dağılmaktadır.³⁵
- **Homojen dağılım:** Düşük hızda santrifüj edilen TZF konsantreleri, trombositler ve lökositler fibrin ağı içinde daha eşit bir şekilde dağılmaktadır. Bu, hücreler arası iletişimi ve sinerjiyi artırarak iyileşme sürecini hızlandırmaktadır.³⁵
- **Büyüme faktörü salınımı:** LSCC ile elde edilen TZF matriksleri, VEGF (vasküler endotelial büyüme faktörü) ve TGF- β 1 (transforme edici büyüme faktörü beta 1) gibi büyüme faktörlerinin salınımında artış göstermektedir.³⁵
- **Santrifüj hızı (rpm-dakikadaki devir sayısı):** Düşük hız santrifüj konseptinde geleneksel yöntemlerde kullanılan yüksek hızların aksine, daha düşük devir hızları kullanılmaktadır. Örneğin, geleneksel bir protokolda 2400 rpm hız kullanılırken, LSCC ile bu hız 600 rpm olabilmektedir.³⁵
- **Santrifüj kuvveti (g-gram):** Düşük hız santrifüj konseptinde, yüksek santrifüj kuvvetlerinin (örneğin 710 g) yerine, daha düşük kuvvetler (örneğin

44 g) kullanılmaktadır. Bu düşük kuvvetler, hücrelerin ayrılma hızını azaltarak daha homojen bir dağılım ve daha iyi bir hücrel korunma sağlamaktadır.³⁵

Örnek Protokoller:

1. Protokol I (Yüksek Hız):

- 710 g; 2400 rpm; 8 dakika
- Bu protokol, yüksek hız ve kuvvet kullanarak TZF matrikslerinin hızlı bir şekilde ayrılmasını sağlamaktadır. Ancak hücrelerin ve büyüme faktörlerinin eşit olmayan dağılımına neden olabilmektedir.³⁵

2. Protokol II (Orta Hız):

- 177 g; 1200 rpm; 8 dakika
- Bu protokol, orta hız ve kuvvet kullanarak daha homojen bir hücrel dağılım sağlamaktadır. Trombosit ve lökosit sayısında artış gözlenmekte ancak büyüme faktörü salınımı henüz yüksek seviyede olmamaktadır.³⁵

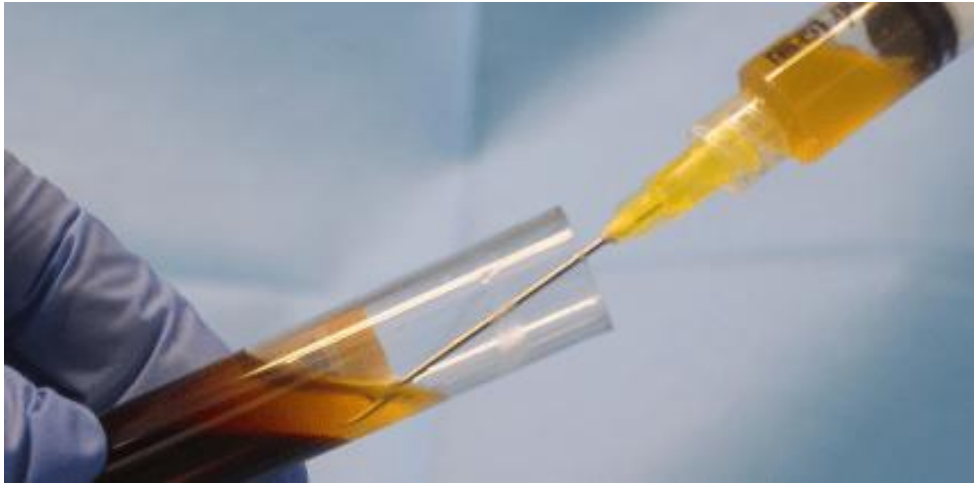
3. Protokol III (Düşük Hız):

- 44 g; 600 rpm; 8 dakika
- Bu protokol, düşük hız ve kuvvet kullanarak trombosit ve lökositlerin TZF matriksi içinde en homojen şekilde dağılmasını sağlamaktadır. Büyüme faktörleri olan VEGF ve TGF- β 1'in salınımında maksimum artış gözlenmektedir.³⁵

A-TZF+, A-TZF'nin bir varyantıdır ve 208 gram sabit santrifüj kuvvetiyle 14 dakika yerine 8 dakika santrifüj ile elde edilmektedir. LSCC prensipleri uygulanarak üretilen bu yapı 2016 yılında Kobayashi ve arkadaşları tarafından tanıtılmıştır. Sürenin ve hücrelerin maruz kalacağı kuvvetin azalmasına bağlı olarak TZF matriksindeki hücrelerin daha fazla olacağını öne sürmüşlerdir. Yapılan bir çalışmada A-TZF+, A-TZF ve L-TZF ile karşılaştırıldığında, salınan büyüme faktörlerinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir.³⁶

2.1.7. Enjekte Edilebilir TZF (İ-TZF)

Enjekte edilebilir TZF; çeşitli tedaviler için sıvı formda kullanılması için geliştirilen düşük hız santrifüj konsepti ile üretilmiş bir TZF türüdür. Elde edilmesi için kan örneğinin 700 rpm'de 3 dakika santrifüjü gerekmektedir. Bu protokolde kullanılan plastik tüpler hidrofobik özellikte olduğundan pıhtılaşma süreci etkin bir şekilde gerçekleşmemektedir. Bu nedenle, ilk birkaç dakikada kan bileşenlerin ayrılmasına izin vererek tüpün en üst kısmındaki tabakanın toplanmasına olanak sağlamaktadır (Şekil 7). İ-TZF'nin akışkan fibrin yapısı, başka biyomateryallerle beraber kullanılmasına olanak sağlamaktadır. Greftlerle karıştırılarak yapışkan kemik grefti (sticky bone) elde edilmesi, diş eti, yüz bölgesinde cilt enjeksiyonları, eklem enjeksiyonları, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu (YDR) ve yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu (YKR) için membran hazırlığı gibi çok çeşitli kullanım alanları bulunmaktadır.^{36,37}



Şekil 7. İ-TZF'nin enjektöre çekilmesi

2.1.8. Konsantre Büyüme Faktörleri (CGF ve LPCGF)

CGF, 2006 yılında Sacco tarafından tanımlanmış trombosit, lökosit ve büyüme faktörleri açısından zengin içeriği olan bir biyomateryaldir.¹⁶

Sacco'nun CGF protokolü üç ana adımdan oluşur. İlk adımda, örnekler 0'dan 2700 rpm'e 30 saniye boyunca hızlandırılmaktadır ve bu işlemi dört protokolün kombinasyonu izlemektedir (2 dakika 2700 rpm, 4 dakika 2400 rpm, 4 dakika 2700 rpm ve 3 dakika 3000 rpm) ve son olarak, örnekler 36 saniye boyunca 3000 rpm'den 0'a doğru yavaşlatılmaktadır³⁸. CGF ve LPCGF (Liquid Phase Concentrated Growth Factor/Sıvı Faz Konsantre Büyüme Faktörü) arasındaki fark tüp içeriğinden kaynaklanmaktadır, CGF

katı ve visköz bir form gösterirken LPCGF tüp içeriğinde heparin veya sodyum nitrat eklenmesinden dolayı jelimsi likit formda oluşmaktadır.³⁹

2.1.9. Titanyum-TZF (T-TZF)

T-TZF yeni bir trombosit konsantresidir. Hazırlama yöntemi, Choukroun'un yönteminde kullanılan cam veya silika kaplı plastik tüplerin yerine titanyum tüplerin trombositleri daha etkili bir şekilde aktive edebileceği düşüncesine dayanmaktadır. Titanyum tüpler kullanılarak hazırlanan bu ürün; Titanyum tüpler kullanılarak 2700 rpm'de 15 dakika boyunca kan örneklerinin santrifüjlenmesiyle elde edilen bu ürünün yüksek mekanik dayanıklılığa ve büyüme faktörü konsantrasyonuna sahip olduğu gösterilmiştir.⁴⁰

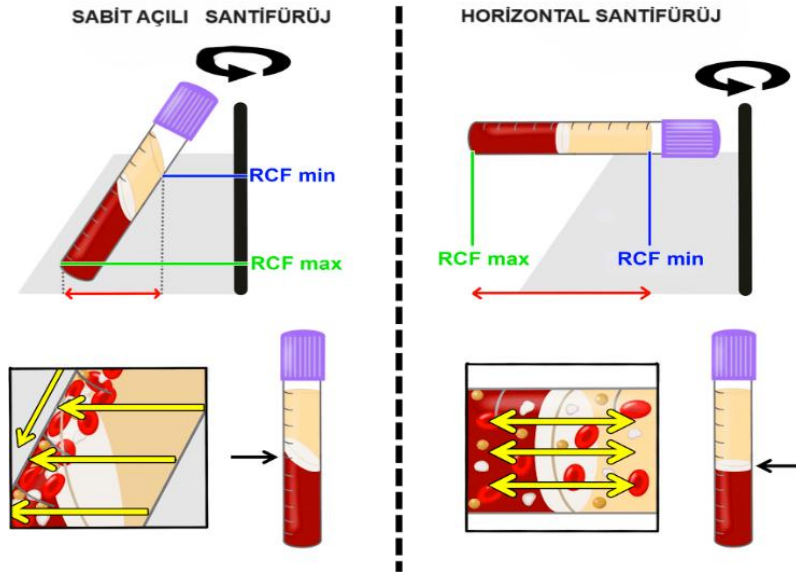
2.1.10. Horizontal Santrifüj Yöntemi

Sabit açılı santrifüj işleminin dezavantajlarından dolayı Miron ve ark., kan örneklerinin yatay düzlemde santrifüj edilmesiyle elde edilen yeni nesil bir trombosit konsantresi olan H-TZF'yi (horizontal santrifüjlenmiş TZF) tanıtmışlardır.⁴¹

Yatay santrifüj yöntemiyle üretilen TZF pıhtılarında daha yüksek trombosit ve lökosit konsantrasyonları elde edilmiş ve bu hücreler, TZF pıhtısı boyunca daha eşit dağılım göstermiştir. Salınan büyüme faktörlerinin konsantrasyonu daha yüksek gözlenmiş, hücresel hasar daha az olmuştur ve test tüplerinin yan duvarlarında eritrosit birikimi daha nadir gerçekleşmiştir.⁴¹ Yatay santrifüjleme yöntemiyle üretilmiş sıvı TZF (300 g, 5 dakika) ve katı TZF (700 g, 8 dakika), sabit açılı santrifüj yöntemiyle üretilmiş i-TZF, L-TZF ve A-TZF muadillerine göre horizontal santrifüj yönteminin avantajlarından dolayı daha üstün bulunmuştur.^{19,41}



Şekil 8. Horizontal santrifüj cihazı



Şekil 9. Farklı santrifüj sistemlerinin TZF yapısına etkisi.⁴²

2.1.11. Bio-Trombositten Zengin Fibrin (BIO-TZF)

BIO-TZF, Richard J. Miron tarafından tanıtılmıştır ve Choukroun'un sabit açılı santrifüj konseptinden farklı olarak yatay santrifüj prosedürü kullanımı üzerine kuruludur. BIO-TZF protokolünde etkin ve güvenilir TZF üretimi için yatay santrifüj cihazı kullanılması gerekmektedir. Yatay santrifüjün sağladığı avantajlar arasında, daha homojen bir hücresel dağılım ve yüksek kaliteli fibrin matriks oluşumu yer almaktadır.⁴¹



Şekil 10. Bio-TZF hazırlık aşamaları

2.1.12. Konsantre Trombositten Zengin Fibrin (C-TZF)

Konsantre TZF, 2000 g'lık güçlü bir santrifüj kuvveti ile 8 dakikada hazırlanmaktadır. Bu süreç sonucunda hacmi 0.3 ile 0.5 mL aralığında olan trombosit, lökosit ve monositlerden zengin sıvı yapıdaki C-TZF bu yapıdan enjeksiyon yöntemiyle ayrılarak elde edilir. C-TZF ve i-TZF arasındaki fark, trombosit konsantrasyonundan kaynaklanmaktadır. C-TZF'nin trombosit konsantrasyonunun, i-TZF'ye kıyasla 15 kat daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde, lökosit konsantrasyonlarının da 5 kat kadar daha yüksek olabileceği gösterilmiştir.⁴³

2.1.13. Albümin ile Zenginleştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin (ALB-TZF)

ALB-TZF, klasik TZF konsantresinin rejeneratif potansiyelini uzatmak için geliştirilmiştir. ALB-TZF membranının 4-6 ay içinde rezorbe olarak yönlendirilmiş doku rejenerasyonu için uygun bir seçenek olduğunu gösteren çalışmaların bulunmasına rağmen, bu membranın büyüme faktörlerini uzun süreli salınım sağlayabildiği henüz kanıtlanamamıştır.^{44,45}

ALB-TZF Membranının Modernize Edilmiş Protokolü:

- **Kan Alımı:** Antikoagülan ve diğer katkı maddeleri içermeyen plastik test tüplerine 9 ml kan alınması.
- **Yatay Santrifüj:** Bio-TZF santrifüj cihazı ile 700 gram kuvvet altında 8 dakika boyunca yatay santrifüjleme. Bu şekilde, üst sarı katman ikiye ayrılır:

üstte trombositten fakir plazma (TFP-PPP) ve altta trombosit ve büyüme faktörleri açısından zengin katman.

- **TFP'nin Toplanması:** 18 gauge iğne kullanarak üstteki 2 mL TFP'nin enjektörle çekilmesi.
- **Isıtma:** Alınan TFP'nin cihaza yerleştirilerek 75°C'de 10 dakika ısıtılması.
- **Soğutma:** Sıvı TZF içeren test tüpleri soğutma cihazında pıhtılaşmayı önlemek için saklanması.
- **Albümin Jelinin Soğutulması:** Enjektördeki albümin jelinin 1-2 dakika soğutulması.
- **Şekillendirme:** Soğutulmuş albümin jelinin bir kaba dökülerek şekillendirilmesi.
- **C-TZF'nin Toplanması:** Kalan 1-2 ml C-TZF'nin (buffy coat) enjektörle çekilerek albümin jelinin üzerine dökülmesi. Kullanımdan önce 15 dakika beklenmektedir.⁴⁴

2.2. Trombositten Zengin Fibrinin Yapısı ve Etkileri

2.2.1. Trombositlerin Yapısı ve Biyolojik Etkileri

Kan; vücutta oksijen, besin maddeleri, hormonlar ve atık ürünlerin taşınmasını sağlayan, hücreler ve plazmadan oluşan, homeostazın sürdürülmesinde kritik rol oynayan sıvı bir bağ dokusudur. Kanın bileşimi, plazma (%55), kırmızı kan hücreleri (eritrositler, %45), trombositler ve beyaz kan hücrelerinden (lökositler, %1'den daha az) oluşmaktadır⁴⁶. Trombositler, kemik iliğindeki megakaryositlerden köken alan, diskoid şekilli, ortalama ömrü 8-12 gün olan hücrelerdir. Bu hücreler, hemostazda, inflamatuvar reaksiyonlarda, konak savunmasında ve hücrel rejenerasyonda önemli rol üstlenmektedir.⁴⁷

Trombositler; fizyolojik etkilerini, çapları 200 ila 500 nm arasında değişen granüllerinden salgıladıkları moleküller aracılığıyla göstermektedir. Bu granüllerin salınımı, trombosit aktivasyonu ile mümkün hale gelmektedir. Aktivasyon süreci; kolajen, trombin, tromboksan A2 ve adenosin difosfat (ADP) gibi trombosit aktivatörleri tarafından başlatılmaktadır. Bu süreç trombositlerin hasarlı endotele yapışması, granül

salınımı ve trombosit agregasyonu olmak üzere üç aşamada gerçekleşen trombosit aktivasyonunu tetiklemektedir.⁴⁷

Kan damarı yaralandığında, trombositler kolajen gibi moleküller tarafından aktive edilmekte ve yaralı bölgeye yapışarak granüllerini salgılamaktadır. Bu granül salınımı, trombosit agregasyonunu tetiklemekte ve beyaz trombosit pıhtısının oluşumunu sağlamaktadır. Aynı zamanda kan damarı hasarı pıhtılaşmayı başlatmakta ve bu süreç fibrinojenin fibrine dönüşümüyle sona ermektedir. Fibrin lifleri, trombozu sağlayarak hemostaz sürecini tamamlamaktadır.⁴⁷⁻⁴⁹

Trombositlerin sitoplazmalarında üç tip granül bulunmaktadır:

- **Alfa granüller:** Hemostaz, koagülasyon ve endotel hücre onarımı için gerekli proteinleri (fibrinojen, laminin, von Willebrand faktörü, platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α), transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β)) taşımaktadır.^{50,51}
- **Yoğun granüller:** Serotonin, adenosin difosfat (ADP), eikosanoidler, tromboksan A2 (TXA2), kalsiyum ve fosfat gibi vasküler tonusu sağlayan molekülleri içermektedir.⁵⁰
- **Lizozomal granüller:** Asit hidrolazlar, katepsinler ve elastaz gibi enzimler taşımaktadır.⁵²

Bu granüller arasında en bol bulunan alfa granüller, rejeneratif ve yara iyileşme süreçlerinde kritik rol oynamaktadır. Alfa granüller; yapışkan proteinler, büyüme faktörleri ve pıhtı oluşturuvcu faktörler içermektedir. Bu büyüme faktörleri arasında vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) yer almaktadır.^{20,48,49}

Büyüme faktörlerinin fizyolojik etkileri:

- **PDGF:** Osteoblast göçü ve çoğalmasını teşvik ederek, kolajen ve kemik matriks sentezini artırmaktadır.⁵³
- **TGF- β :** Anjiyogenetik etkisiyle osteoblast kemotaksisini artırmakta ve osteoklast formasyonunu inhibe etmektedir.⁵⁴

- **VEGF:** Anjiyogenezi başlatmakta ve endotel hücre proliferasyonunu düzenlemektedir.⁵⁵
- **IGF:** Hücre çoğalmasını ve farklılaşmasını teşvik etmekte, kemik matriksinde depo edilip kemik rezorpsiyonu sırasında aktive olarak kemik yapımını artırmaktadır.⁵⁶
- **FGF:** Osteoblastların gelişimi, büyümesi ve tamirinde rol oynamakta, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını teşvik etmektedir.⁵⁷

Trombositler, yalnızca hemostazda değil, aynı zamanda antimikrobiyal savunma ve doku onarımında da kritik bir rol üstlenmektedir. Trombositler, vasküler travma veya enfeksiyonla ilişkili uyarıcılara hızla yanıt verip, hasarlı bölgelere birikerek patojenleri kan dolaşımından temizlemekte ve mikrobiyal patojenlere karşı antikora bağımlı hücre sitotoksitesine katılmaktadır.⁵¹

Doku onarımı ve rejenerasyonu sürecinde ise trombositler, yaralanma sonrası kolajen ile temas ettiklerinde aktive olmakta ve tromboplastin üretmektedir. Bu süreç, fibrinojeni fibrin ağına dönüştürerek ilk tıkaçı oluşturmaktadır. Aynı zamanda PDGF, TGF- β , VEGF, IGF ve FGF gibi büyüme faktörleri salgılayarak, yumuşak ve sert dokuların rejenerasyonunu uyarmaktadır.⁵⁸ Genel olarak trombositlerin etkileri değerlendirildiğinde; koagülasyon, inflamasyon, antimikrobiyal savunma, anjiyogenezis ve yara iyileşmesi gibi süreçlerde önemli bir rol oynadığı görülmektedir.⁵⁰

2.2.2. Lökositlerin Yapısı ve Biyolojik Etkileri

TZF yapısı, hastadan alınan kandaki lökositlerin yaklaşık %75'ini içermektedir. Lökositler, hemostatik ve inflamatuvar süreçlere yanıt olarak çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri salgılayarak iyileşme süreçlerini başlatmaktadır.⁵⁹ Bu yapılar, fibrin ağında hapsolmakta ve yavaşça salınarak, inflamasyonun yönetimi, yara iyileşmesi, hücre çoğalması, farklılaşması ve neoanjiyogenezi desteklemektedir.^{31,59} Ayrıca, lökositler, iyileşme bölgesinde fagositik özellikleriyle yara alanını bakterilerden ve ölü hücrelerden temizlemekte, anti-enfeksiyöz ve immün modülatör özellikler sergileyerek rejenerasyon sürecinde hücreler arası iletişimi sağlamaktadır.^{26,32,60}

Lökositlerin salgıladığı başlıca inflamatuvar sitokinler interlökin 1 β (IL-1 β), IL-6, IL-8 ve tümör nekroz faktör- α 'dır (TNF- α). TNF- α , sinyal moleküllerinin üretimini, hücre sağ kalımını ve proliferasyonunu teşvik etmekte, aynı zamanda epitelyal yara iyileşmesini etkilemektedir. Lökositlerin salgıladığı anti-inflamatuvar sitokinler arasında ise IL-4, IL-10 ve IL-13 bulunmaktadır. Özellikle IL-4, inflamatuvar sinyal yollarını nötralize eden önemli bir sitokin olarak işlev görmektedir.²⁷

Dohan ve ekibi, TZF'nin serum ve trombositten fakir plazmaya kıyasla daha yüksek seviyelerde interlökin (IL-1 β , IL-4, IL-6), TNF- α ve VEGF içerdiğini göstermiştir. Bu artış, TZF'deki lökosit degranülasyonunun bir sonucu olarak ortaya çıkmakta ve TZF'nin savunma kapasitesini artırmaktadır.²⁶ Lökositler ayrıca TGF- β 1, PDGF, VEGF, IGF ve FGF gibi büyüme faktörlerini de salgılamaktadır. Bu faktörler, kemotaksisi teşvik ederek, özellikle VEGF aracılığıyla neoanjiyogenezi desteklemekte ve yara iyileşmesini hızlandırmaktadır.⁶¹ Ehrenfest, lökositlerin TGF- β ve VEGF'nin yavaş salınımında önemli bir rol oynadığını belirtmiştir.⁶²

2.2.3. Fibrin Yapısı ve TZF'nin Terapötik Etkisi

İyileşme ve doku rejenerasyonu süreçlerinde önemli rol oynayan TZF'nin etkisinin merkezinde, trombin tarafından aktive edilen fibrinojenin polimerizasyonu ile oluşan fibrin matriksi yer almaktadır. Fibrinojen, plazmada çözünür bir protein olarak bulunmakta ve trombin etkisiyle fibrin monomerlerine dönüşmektedir. Bu monomerler daha sonra polimerize olarak çözünmeyen fibrin iplikçiklerini oluşturmaktadır. Oluşan bu iplikçikler, çapraz bağlanarak stabil bir ağ yapısı meydana getirmektedir. Bu ağ, kanın pıhtılaşması, yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu gibi süreçlerde kritik bir işlev üstlenmektedir. Fibrin hem plazmada hem de trombositlerin alfa granüllerinde yaygın olarak bulunmakta ve damar hasarı sonrasında trombosit kümelenmesini destekleyerek endotelde koruyucu bir bariyer oluşturmaktadır.^{63,64}

Trombositten zengin kan ürünleri, doğal fibrin matriksini taklit eden bir yapı oluşturmaktadır. Bu yapılar, büyüme faktörleri içeren ve dokuların rejenerasyonuna yardımcı olan kompleks bir ağ yapısı sunmaktadır. Fibrin ağının özellikleri, fibrinojen konsantrasyonu ve polimerizasyon derecesine bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Bu değişiklikler, fibrin ağının hücre bağlanması, hücre çoğalması ve hücre göçü gibi

süreçlerde iskelet görevi görmesine olanak tanımaktadır.^{17,65-67} Fibrin, kolajen liflerin aksine, diğer proteinlere ihtiyaç duymadan kendi lifleriyle ağ yapısı oluşturma kapasitesine sahiptir. Bu da fibrinin biyomekanik dayanıklılığını artırmakta ve doku rejenerasyonunda önemli bir rol oynamasını sağlamaktadır.^{63,68} Bu üç boyutlu matriks yapı içeriğindeki VEGF, PDGF ve FGF aracılığıyla endotel hücrelerinin çoğalmasını ve fenotipik değişikliklerini desteklemektedir. Fibrin ağının yapısal özellikleri anjiyogenezi de doğrudan etkilemektedir.^{31,69}

Fibrin ağının polimerizasyonu sırasında iki tür bağlantı oluşmaktadır: bilateral (tetramoleküler) ve equilateral (trimoleküler) bağlantılar. Bilateral bağlantılar, yüksek trombosit konsantrasyonlarında daha kalın fibrin polimerlerin oluşmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla hücresel göçü ve sitokinlerin ağ yapısına tutunmasını olumsuz etkileyebilmektedir. Equilateral bağlantılar ise daha ince ve esnek fibrin ağlarının oluşmasını sağlarken hücre göçü ve sitokinlerin ağı tutunmasını desteklemektedir. Bu yapısal farklılıklar, fibrin ağının biyolojik ve mekanik dayanıklılığını doğrudan etkileyerek, hücre migrasyonu ve yara iyileşmesinde değişimlere neden olabilmektedir.⁷⁰

Fibrin ağının yavaş polimerizasyon süreci, esnek ve dayanıklı bir yapı oluşturmaya izin vermektedir. Bu süreç, fibrin iplikçiklerinin üç boyutlu bir ağ oluşturarak stabilizasyonunu sağlamaktadır. Bu stabil ağ yapısı, içeriğindeki büyüme faktörleri ve sitokinlerin yara bölgesinde kontrollü ve uzun süreli bir salınımını mümkün kılmaktadır. Bu kontrollü salınım, özellikle yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunda büyük önem taşımaktadır. Fibrin matriks, endotel hücrelerinin çoğalması ve fenotipik değişim göstermesi için gerekli bir ortam sağlayarak anjiyogeneze rehberlik etmekte ve iyileşmeyi hızlandırmaktadır.⁷¹ Fibrin ağı, trombositler ve lökositlerle birlikte çalışarak büyüme faktörleri ve sitokinlerin depolandığı bir matriks oluşturmaktadır. Trombositler, alfa granüllerinde bulunan PDGF, TGF- β gibi büyüme faktörlerini serbest bırakmakta ve bu faktörler, fibrin matriks içinde depolanıp yara iyileşmesini desteklemektedir.²⁷

2.3. TZF'nin Yara İyileşme Mekanizması Üzerine Biyolojik Etkileri

İyileşme ve doku rejenerasyonu süreçlerinde önemli biyolojik rol oynayan TZF, içeriğindeki esnek fibrin ağı sayesinde trombositlerin, lökositlerin, büyüme faktörlerinin

ve sitokinlerin kontrollü ve uzun süreli salınımını sağlayarak doku yenilenmesi için ideal bir mikroçevre oluşturmaktadır.³¹

TZF'nin anjiyogenezisi teşvik etme yeteneği, özellikle endotel hücrelerinin bölünerek çoğalmasını desteklemesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu süreç, fibrin matriksinin içinde yer alan VEGF, PDGF ve FGF gibi büyüme faktörleri tarafından yönlendirilmektedir. Ayrıca, integrin $\alpha\beta3$ genini uyararak endotel hücrelerinin vitronektin ve fibronektine bağlanmasını sağlamaktadır. Bu bağlanma, yeni kan damarı oluşumunda kritik bir rol oynamaktadır.^{31,69,72}

İmmün yanıtı düzenleyerek yara iyileşme sürecine katkıda bulunan TZF, lökositlerin aktivitesini artırarak enfeksiyon riskini azaltmaktadır. TZF, PDGF ve TGF- β gibi büyüme faktörlerinin sürekli salınımını destekleyerek pıhtı stabilizasyonunu ve makrofaj aktivasyonunu sağlamaktadır.^{26,73} Ayrıca TZF'nin osteojenik etkileri de bulunmaktadır. Geçici bir ekstraselüler matriks gibi davranarak osteoblastik aktiviteyi artırmaktadır. PDGF, TGF- β , IGF ve FGF gibi büyüme faktörleri, osteoblastların çoğalmasını teşvik ederken osteoklast aktivitesini baskılayıcı etki göstermektedir. Bu faktörler, alkalen fosfataz (ALP) ve osteoprotegrin (OPG) üretimini artırarak kemik yapımını destekleyici etki göstermektedir.^{59,62,74,75}

TZF'nin fibrin matriksi, mezenşimal kök hücrelerin farklılaşmasını ve hasarlı dokuya göçünü teşvik ederek iyileşme sürecini hızlandırmaktadır. Bu yapı, kök hücreler için uygun bir ortam oluşturarak hücrelerin yara bölgesine göçünü sağlamaktadır.⁷⁶

Sonuç olarak TZF, koagülasyon, inflamasyon, antimikrobiyal savunma, anjiyogenezis, yara iyileşmesi ve kemik rejenerasyonu gibi süreçlerde kilit bir rol oynamaktadır ve bu özellikleriyle klinik uygulamalarda geniş bir kullanım potansiyeline sahiptir.^{59,62,74,75}

2.4. Trombosit Konsantrelerinin Kullanım Alanları

Otolog trombosit konsantreleri ilk başlarda fibrin yapıştırıcıların bulunmasıyla kanama durdurucu ve yapıştırıcı özelliklerinden dolayı kardiyovasküler, beyin ve göz cerrahisinde etkili bir şekilde kullanılmaya başlamıştır.^{31,77} Daha sonra yeni nesil otolog trombosit konsantrelerinin keşfedilmesiyle kullanımları tıp ve diş hekimliği alanlarında genişlemiş ve başarılı bir şekilde kullanılmaya devam etmiştir.⁷⁸ Diş hekimliği alanında;

maksiller sinüs tabanı yükseltilmesi işlemlerinde TZP, TZF ve CGF'nin kullanımı, kemik miktarında ve vertikal kemik yüksekliğinde anlamlı bir artışa yol açtığı gözlenmiştir.⁷⁹⁻⁸¹ Alveolar kemik rejenerasyonunda; TZP inflamasyonu azaltmış ve yumuşak doku iyileşmesini desteklemiştir.⁸² Ayrıca TZF yumuşak ve sert dokuların doğal iyileşme sürecine kıyasla iyileşme hızını artırmış ve bu süreçte ağrıyı azaltmıştır.^{83,84} CGF ise kemik rezorpsiyonunu azaltmış ve yeni kemik oluşumunu teşvik etmiştir.⁸⁵

Yönlendirilmiş kemik rejenerasyonunda TZP, erken yumuşak doku iyileşmesi için faydalı bulunmuş, ancak kemik yüksekliğinde anlamlı bir değişiklik sağlamamıştır. Buna karşılık TZF, implant stabilitesini, implant sağkalım oranında ve marjinal kemik seviyesinde olumlu etkiler göstermiştir.⁸⁶ Ayrıca CGF, yatay ve dikey kemik rejenerasyonunu teşvik etmiştir.⁸⁷

Periodontal tedavilerde TZP ve TZF'nin kullanımı, periodontal kemik içi defekt onarımı, diş eti çekilme tedavisi ve yumuşak doku rejenerasyonunda etkili olmuştur.⁸⁸⁻⁹¹ Furkasyon defektlerinde TZF kullanımı anlamlı periodontal iyileşme sağlamıştır.⁹² Palatal verici sahanın örtülmesinde TZF kullanımı, operasyon sonrası ağrı skorlarını azaltmış ve hasta konforunu artırmıştır.⁹³ İmplant çevresindeki yumuşak doku artırımını için kullanılan TZP ve TZF, yumuşak doku kalınlığını ve keratinize doku genişliğini artırarak iyileşmeyi desteklemiştir.^{94,95}

TZP, PRGF ve i-TZF yapılarının ksenojen kemik greftleriyle karıştırılarak elde edilen sticky bone yapısında trombosit konsantrlerinin kullanımı greftin bölgeye uygulanmasına, manipülasyonuna ve kemik oluşumuna katkıda bulunmuştur.⁹⁶

Endodontik tedavilerde TZF, özellikle diş çürükleri, pulpitis ve dental travma gibi durumlarda iyileşmeyi hızlandırmak için kullanılmaktadır. Özellikle çocuk hastaların olgunlaşmamış dişlerinde dental travmaya bağlı gerçekleşen pulpal doku hasarının revaskülarizasyon tedavisinde olumlu sonuçlar elde edilmektedir.⁹⁷ İatrojenik perforasyonların onarımında TZF ve mineral trioksit agregat (MTA) kombinasyonu başarılı sonuçlar vermiştir.⁹⁸ TZF, immatür kalıcı dişlerde revaskülarizasyon için ideal bir iskele oluşturarak, dentin duvarların kalınlaşması, kök uzunluğunun artması, periapikal lezyonun gerilemesi ve kök ucu kapanması gibi olumlu etkiler sağlamıştır.⁹⁹ MTA ile apikal bariyer olarak kullanıldığında başarılı iyileşme ve apeksifikasyon gözlenmiştir.¹⁰⁰ TZF, pulpal hücre proliferasyonunu artırmış ve genç daimi dişlerde pulpotomi prosedürlerinde olumlu sonuçlar vermiştir.¹⁰¹

2.5. Taşıyıcı Sistem Olarak Trombositten Zengin Fibrin

Geleneksel ilaç uygulama yöntemlerinin, tedavi ve iyileşme süreçlerinde çeşitli sınırlamalara sahip olması nedeniyle alternatif yaklaşımlar geliştirilmektedir. Özellikle ağız yoluyla alınan ilaçların gastrointestinal sistemde karşılaştığı biyoyararlanım sorunları ve bu ilaçların sistemik toksisiteye yol açma riski nedeniyle kontrollü ilaç salım sistemlerine olan ilgiyi artmaktadır. TZF gibi biyolojik materyaller hem lokal hem de sistemik tedavilerde taşıyıcı sistem olarak kullanılabilir. TZF'nin otolog yapısı ve biyoyumluluğu, çeşitli ilaçların etkin bir şekilde salınmasına ve böylece terapötik etkinin artırılmasına olanak tanımaktadır.⁶ Bu nedenle TZF'nin taşıyıcı sistem olarak kullanılması, tedavi edici ajanların etkinliğini artırma potansiyeline sahiptir. Örneğin, intravenöz veya oral yolla uygulanan analjezikler, antineoplastik ilaçlar, doku rejenerasyonunu teşvik eden vitaminler ve diğer rejeneratif ajanlar TZF ile kombine edilebilmektedir. Bu kombinasyonlar, ilaçların hedeflenen bölgede doğrudan ve kontrollü bir şekilde salınımını sağlayarak tedavi sürecini optimize edebilmektedir.^{5,7}

TZF ilaç taşıyıcı olarak kullanıldığında; biyoyumluluk, biyobozunurluk, mekanik dayanıklılık ve şekil koruma özellikleri gibi çeşitli faktörler önem kazanmaktadır. Bu özelliklerin korunması, TZF'nin klinik etkinliğini ve güvenliğini sağlamak açısından kritik öneme sahiptir. Dolayısıyla, TZF'nin ilaç taşıyıcı sistem olarak optimize edilmesi, hem tedavi edici etkinin artırılmasını hem de sistemik toksisite riskinin azaltılmasını hedefleyen multidisipliner bir yaklaşım gerektirmektedir.⁵

Literatürde, TZF'nin çeşitli antibakteriyel ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılarak enfeksiyon kontrolünde ve iyileşme sürecinin hızlandırılmasında önemli faydalar sağladığı gösterilmektedir. Özellikle metronidazol, klindamisin, penisilin, vankomisin, teikoplanin, gentamisin ve amikasin gibi antibiyotiklerle birlikte kullanımı, TZF'nin bakteriyel yükün daha etkili bir şekilde eliminasyonunu sağladığı belirtilmektedir. Bu kombinasyonlar, enfeksiyon riskini azaltarak postoperatif komplikasyonları en aza indirme potansiyeline sahiptir.^{2,3}

2.5.1. TZF ve İlaç Kombinasyonları

2.5.1.1. TZF ile Antibiyotiklerin Kombinasyonu

Antibiyotikler, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin neden olduğu çeşitli enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak yanlış ve gereksiz kullanımı, antibiyotik direncine yol açabilmektedir.¹⁰² Yara iyileşmesi doğal bir biyolojik süreç olmasına rağmen, postoperatif dönemde bu süreci olumsuz etkileyebilecek birçok faktör bulunmaktadır. Bu nedenle, iyileşme sürecinin düzgün ilerlemesi ve enfeksiyon riskinin azaltılması büyük önem taşımaktadır.¹⁰³

TZF, yalnızca doğal yara iyileşmesini desteklemekle kalmamakta, aynı zamanda bir ilaç taşıyıcı sistem olarak da kullanılabilir. Bu sayede, antibiyotiklerin hedef bölgeye daha etkin dozlarda ulaşması ve toksik etkilerin azaltılması mümkün hale gelmektedir.^{2,3} Bir çalışmada, TZF'nin amikasin, teikoplanin ve poliheksanid gibi antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanılarak antimikrobiyal etkinliği incelenmiştir. TZF, üretildikten sonra her TZF parçası, amikasin (250 mg/ml), teikoplanin (125 mg/ml) veya polihekzanid ile 1:1 oranında karıştırılarak birleştirilmiştir. Bu çalışmada, amikasinin 120 saat, teikoplaninin ise 168 saat boyunca antimikrobiyal aktivite gösterdiği, poliheksanidin etkisinin ise sadece 24 saat sürdüğü tespit edilmiştir.³

Başka bir çalışmada, klindamisin A-TZF'ye eklenmesiyle ilacın 4 güne kadar salınımının sağlandığı gösterilmiştir. Çalışmada, kan örneği tüplere alındıktan sonra antibiyotik eklenmiş ve ardından santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, ampul tipi linkomisin TZF'de daha çok antibakteriyel aktivite sağladığı gözlemlenmiştir.^{104,105} TZF; sadece tek bir ilaçla değil, aynı zamanda birden fazla ilaçla da kombine edilebilmektedir. Örneğin, i-TZF'nin metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin gibi antibiyotiklerle kombine edilmesiyle salınım 28 gün boyunca gözlemlenmiş, ancak en fazla salınımın ilk 24 saatte gerçekleştiği bildirilmiştir. Antibiyotikler, TZF'ye ya elde edildikten sonra ya da hazırlık sırasında kan örneğine eklenerek entegre edilmiştir. Yüksek konsantrasyonda ilacın i-TZF'ye dahil edilmesi durumunda, ilk 24 saat içinde toksik seviyelerde ilaç salınımı olabileceği ve bunun kontrollü ilaç salınımını zorlaştırabileceği belirtilmiştir. Çalışma ayrıca, bu üç ilacın eşzamanlı salınımının 14 gün sürdüğünü ve ardından yalnızca metronidazol ve minosiklin'nin salınımının devam ettiğini ortaya koymuştur.¹⁰⁶

Bir diğerk çalışmada ise, T-TZF ve kolajen yapılara doksisisiklin eklenmiş ve antibakteriyel etkileri incelenmiştir. T-TZF, otolog kan örneklerinden elde edilip titanyum tüpler içinde santrifüj edilmiştir. Doksisisiklin eklenmesi, T-TZF yapısına enjeksiyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Çalışmanın sonuçları, T-TZF'nin doksisisiklin gibi antibiyotikler için yüksek kapasiteli bir taşıyıcı olduğunu ve uzun süreli antibakteriyel etkiler sağladığını göstermiştir.¹⁰⁷

Bu bulgular, belirli ilaçların kontrollü bir şekilde salınmasını sağlayarak etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilebileceğini göstermektedir. TZF'nin bu tür uygulamalarda kullanılması, yara iyileşmesini hızlandırmak ve enfeksiyon riskini azaltmak için etkili bir yöntem olarak değerlendirilmektedir.⁵ İlaçların TZF'ye eklenme şekli ve miktarı, TZF'nin etkinliğini ve yapısını doğrudan etkilemektedir.^{4,108} Bir çalışmada, antibiyotiğın TZF elde edildikten sonra lokal olarak eklenmesiyle elde edilen grubun, ilacın 1 saat önce oral yolla alınmasıyla elde edilen kandan hazırlanan gruba göre daha yüksek antimikrobiyal etkinlik sağladığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, TZF'nin yapısını bozmayacak en düşük etkili antibiyotik dozunun belirlenmesi için pilot bir çalışma yapılmış ve 10 ml'lik kan için 0,2 ml penisilin ile ideal TZF oluşumu sağlanmıştır.⁴

Ayrıca, ilacın önce ağızdan alındığı bir çalışmada, tek doz oral antibiyotik kullanımının 24 saat boyunca L-TZF'de inhibisyona neden olduğu, ancak 48 saat ve sonrasında bu etkinin kaybolduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, tek doz oral antibiyotiğın 48 saatlik antimikrobiyal aktivite sağlamak için yetersiz olduğunu göstermektedir. Çalışmanın verileri, çoğu antibiyotiğın plazmada yoğunlaştığını ve bunların yalnızca küçük bir kısmının TZF'ye geçtiğini ortaya koymaktadır.¹⁰⁸

Bu veriler ışığında, TZF'nin yara iyileşmesi ve enfeksiyon kontrolü için güçlü bir araç olma potansiyeli taşıdığı, ancak bu potansiyelin doğru doz ve uygulama yöntemleriyle optimize edilmesi gerektiği anlaşılmaktadır.⁴

2.5.1.2. TZF ile Hyalüronik Asit (HA) Kombinasyonu

Hyalüronik asidin yumuşak dokulardaki iyileştirici özelliklerinden yararlanıp bunu TZF'nin rejeneratif ve iskele özellikleriyle birleştirmeyi amaçlayan bir çalışmada, bileşik hyaluronik asit (CHA) ve H-TZF kombinasyonunun yumuşak doku rejenerasyonu üzerindeki etkilerini incelemiştir. H-TZF elde edildikten sonra, hyaluronik asit ile 1:1

oranında karıştırılarak bir CHA-TZF jeli oluşturulmuştur. CHA-TZF kombinasyonu, hücre proliferasyonunu artırmış, kolajen sentezini teşvik etmiş ve hücre göçünü hızlandırmıştır. Bu kombinasyon, inflamasyonu azaltarak anjiyogenez sürecini desteklemiştir.¹⁰⁹

Ayrıca diyabetik ayak ülseri olan hastaların tedavisinde HA+TZF kombinasyonu doku rejenerasyonunu artırmak için kullanılmıştır. Çalışmada; TZF, santrifüj işlemiyle elde edildikten sonra HA ile homojen bir şekilde karıştırılmış ve HA+TZF hazırlanmıştır. Bu kombinasyonun, inflamasyonun azalttığı, büyüme faktörlerinin salınımının artırıp, hücre proliferasyonu ile migrasyonu teşvik ederek yara iyileşmesini hızlandırdığı gözlemlenmiştir. Bu bulgular, TZF ve HA kombinasyonunun klinik uygulamalarda kullanılabilirliğini desteklemekte ve yumuşak doku rejenerasyonu için yeni ve etkili bir tedavi seçeneği sunmaktadır. Bu yaklaşımın, gelecekte periodontal veya peri-implant yumuşak doku rejenerasyonu için de umut vaat ettiği bildirilmiştir.¹¹⁰

2.5.1.3. TZF ile Mine Matriks proteini (EMD) Kombinasyonu

Periodontal rejenerasyonda etkili bir protein olan mine matriks proteini (EMD) ve TZF'nin kullanıldığı bir çalışmada, periodontitis kaynaklı intraosseöz defektlerin tedavisinde önce EMD uygulanıp sonra defektler TZF kullanılarak primer kapatılmış, sadece EMD ve EMD+TZF kullanımının klinik iyileşmelere yol açtığını gösterilmiştir. Altı aylık takip süresince, her iki tedavi grubu da klinik ataşman seviyesi ve sondlama derinliği değerleri açısından anlamlı iyileşme görülmüştür. Ancak çalışmanın başında ve altı ay sonrasında yapılan klinik ve radyografik ölçümlerde, EMD ve EMD+TZF grupları arasında anlamlı bir fark olmadığı ortaya konmuştur. Her iki grupta da defekt dolumu benzer sonuçlar göstermiştir. TZF'nin eklenmesi, diş eti çekilmesi ve radyografik intraosseöz defekt dolumu üzerinde anlamlı bir iyileşme sağlamamıştır.¹¹¹

Bu bulgular, TZF'nin EMD ile kombine kullanımının intraosseöz defektlerin tedavisinde ek bir avantaj sağlamadığını göstermektedir. Ancak daha uzun takip süreleri ve daha büyük örneklem büyüklüğüne sahip ek çalışmalar, bu kombinasyonun periodontal rejeneratif potansiyelini daha iyi anlamak için gereklidir.¹¹¹

2.5.1.4. TZF ile Steroid Olmayan Anti-İnflamatuvar İlaçların Kombinasyonu

TZF'ye eklenen ilaçlar sadece kanla karıştırılarak veya i-TZF ile karıştırılarak değil, aynı zamanda santrifüj sonrasında elde edilen A-TZF pıhtısına enjekte edilerek de uygulanabilmektedir. Bu yöntem, yapılan bir çalışmada, TZF'nin ilaçları lokal olarak taşıma kapasitesini değerlendirmek amacıyla diklofenak kullanılarak uygulanmıştır. Çalışma, klinik parametreler (postoperatif ağrı, şişlik, yumuşak doku iyileşmesi ve enfeksiyon riski vb.) temelinde saf TZF ile TZF+diklofenak kombinasyonunun karşılaştırmasına dayanmaktadır. Elde edilen sonuçlar, TZF+diklofenak yapısının klinik parametreleri iyileştirdiğini ve bu tür bir ilaç uygulama yönteminin yara iyileşme sürecini iyileştirip kemik rejenerasyonunu teşvik edebileceğini doğrulamıştır.¹¹²

2.5.1.5. TZF ile Statinlerin Kombinasyonu

Statinler, kolesterol seviyelerini düşürerek kardiyovasküler morbidite ve mortalite riskini azaltmak için yaygın olarak kullanılan ilaçlardır.¹¹³ Bu ilaç sınıfının, sadece kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde değil, aynı zamanda kemik içi defektlerin tedavisinde de potansiyel faydalar sunduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, bir çalışmada atorvastatin içeren TZF ile açık flap debridmanı prosedürü (OFD) kombinasyonu, kemik içi defektlerin tedavisinde kullanılmıştır. TZF+atorvastatin grubunda, defekt içerisine TZF ile %1,2 atorvastatin jelin bir kombinasyonu uygulanmıştır. TZF materyali defekte yerleştirilmiş ve ardından %1,2 atorvastatin jelin belirli bir miktarı eklenmiştir. Bu iki madde defekte ardışık veya eş zamanlı şekilde uygulanmış ve periodontitisli hastaların tedavisinde olumlu sonuçlar elde edilmiştir ¹¹⁴.

Benzer şekilde, rosuvastatin ile TZF'nin kombinasyonu da periodontal sağlık üzerinde faydalı etkiler göstermiştir.¹¹⁵ Bu bulgular, statinlerin sadece antihiperlipidemik etkiye sahip olmadığını, periodontal hastalıkların tedavisinde de potansiyel bir rol oynayabileceğini ortaya koymaktadır. Ayrıca, statinlerin kullanım alanlarının genişletilebileceğini ve TZF'nin, hem ilaçları etkin bir şekilde taşıyan hem de tedavi süreçlerini iyileştiren bir biyomateryal olarak önemli bir potansiyele sahip olduğunu gösterilmektedir. Bu doğrultuda, TZF'nin statinler ve diğer ilaçlarla birlikte kullanımı, dental ve periodontal tedavilerde yeni ve etkili bir yaklaşım sunmaktadır.⁵

2.5.1.6. TZF ile Bifosfonatların Kombinasyonu

Bifosfonatlar, osteoporoz ve kemik metabolizması bozulduğunda kullanılan bir ilaç grubudur ¹¹⁶. Periodontitis ise periodontal dokuların inflamatuvar bir hastalığı olup, kemik dokusunun rezorpsiyonuna neden olabilmektedir ¹¹⁷. Son yıllarda yapılan araştırmalar, TZF ile bifosfonat ilaçlarının kombinasyonunun, kemik içi defektlerin tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir.

TZF'nin elde edildikten sonra alendronat ile eşit miktarlarda (1:1) karıştırılarak oluşturulduğu çalışmada, TZF+%1 alendronat jel kombinasyonunun, sadece TZF kullanımına kıyasla daha yüksek oranda kemik defekti rejenerasyonu sağladığı bulunmuştur.¹¹⁸ TZF'nin, alendronat gibi bifosfonatlarla birlikte kullanıldığında, kemik iyileşmesini hızlandırabileceği ve periodontal hastalıkların tedavisinde daha etkili bir yaklaşım sunabileceği görülmüştür.⁵

Bir diğer çalışmada ise TZF+%1 alendronat kombinasyonunun, kronik periodontitisteki kemik içi defektlerin tedavisinde iyileşmeyi arttırdığı gözlenmiştir ¹¹⁹. Her iki çalışma da, TZF'nin bifosfonat ilaçları ile kombinasyonunun güvenilir ve etkili sonuçlar verdiğini, kemik defektlerinin boyutunu azaltmada başarılı olduğunu ortaya koymaktadır.⁵

Bu bulgular, TZF'nin, ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmasının, sadece periodontal tedavilerde değil, aynı zamanda genel kemik rejenerasyonu uygulamalarında da önemli bir potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. TZF'nin bifosfonatlarla birlikte kullanımı, kemik dokusunun yeniden oluşumunu teşvik edebileceği, böylece hastaların iyileşme sürecini hızlandırabileceği ve tedavi sonuçlarını iyileştirebileceği gösterilmiştir.

5

2.5.1.7. TZF ile Biguanidlerin Kombinasyonu

Biguanidler, insülin direncine karşı doğrudan etkili olan non-sülfonilüre sınıfına ait bitkisel ilaçlardır.¹²⁰ Bir çalışmada, metformin ilacını TZF ve OFD ile kombinasyon halinde kullanılmıştır ve TZF+%1 metformin grubu, kronik periodontitisli hastalarda kemik içi defektlerin tedavisinde, yalnızca metformin, TZF veya OFD'ye kıyasla klinik parametrelerde daha büyük iyileşmeler ve radyografik defekt derinliğinde daha fazla azalma göstermiştir.¹²¹ Başka bir çalışmada da, derece II furkasyon defektlerinin

tedavisinde OFD/TZF/metformin kombinasyonunun kullanımı incelenmiştir, metforminin osteoblast farklılaşmasını artırarak alveolar kemik üzerinde yararlı bir etki gösterebileceğini ve TZF ile kombine kullanıldığında derece II furkasyon defektlerinde anlamlı derecede iyileşmeyi arttırdığı bulunmuştur.¹²² Bu çalışmalar, TZF'nin biguanid ilaçlarla kombinasyonunun periodontal tedavide kullanılabileceğini ve TZF'nin bir ilaç taşıma aracı olma yeteneği gösterdiğini ortaya koymaktadır.⁵

2.5.1.8. Greft Malzemeleri ile İlaç-TZF Kombinasyonu

Greftler, kemik defektlerinin doldurulmasında yaygın olarak kullanılan otojen, allojen, heterojen veya kimyasal kaynaklı dolgu malzemeleridir. Ancak, greftlenen dokunun türüne bağlı olarak adaptasyon zorlukları, iyileşme süresi ve miktarında çeşitli sorunlara yol açabilmektedir. Trombosit konsantreleri, bu entegrasyon sürecini iyileştirmek, sert ve yumuşak doku iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanılmaktadır. Örneğin, bir çalışmada kemik greftini anaerobik bakteriyel enfeksiyonlardan korumak amacıyla, TZF membranına metronidazol eklenmiş ve dondurularak kurutulmuş kemik allogrefti ile kombinasyonu yapılmıştır. Bu kombinasyonun, greftteki kemik dokusunun histolojik kalitesini artırdığı bulunmuştur.¹²³

2.5.1.9. TZF ile Magnezyum (Mg) Kombinasyonu

Magnezyum, insan vücudunda en çok bulunan dördüncü mineral ve hücresel düzeyde yüzlerce biyokimyasal reaksiyonda kofaktör olarak işlev gören hayati bir elementtir. Kas ve sinir fonksiyonlarının düzenlenmesi, kan şekeri kontrolü, kan basıncı regülasyonu, protein sentezi ve kemik metabolizması gibi birçok biyolojik süreçte merkezi bir rol oynamaktadır.¹²⁴

Magnezyumun özellikle kemik metabolizmasındaki destekleyici etkilerinden dolayı TZF 'ye eklendiği bir çalışmada, TZF'nin yüzey özelliklerini iyileştirdiği, bunun da hücre tutunmasını ve proliferasyonunu artırarak kemik oluşumunu destekleyebileceği gösterilmiştir. Mineralize TZF örneklerinin hücre canlılığı üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı ve Mg eklenmiş TZF örneklerinde hücre proliferasyonunun artabileceği ortaya konmuştur.¹²⁵ Başka bir çalışmada; Mg ile zenginleştirilmiş geniş gözenekli TZF

kullanılarak kemik defektlerinin onarımı için bir biyomühendislik yaklaşımı incelenmiştir. Çalışmada, TZF'nin yineleyen dondurarak kurutma işlemi ile gözenek boyutlarının büyütülmesi ve Mg ile birleştirilmesi ile kemik onarımı için biyolojik olarak aktif bir iskelet oluşturulması sağlanmış ve biyolojik olarak parçalanabilen Mg, kemik defektlerine mekanik destek sağlamasının yanı sıra, rezorpsiyon sürecinde serbestleşerek kalsiyum birikimini ve osteojenik farklılaşmayı arttırdığı bulunmuştur.¹²⁶

2.5.1.10. TZF ile C Vitamini (Askorbik Asit-AA) Kombinasyonu

TZF yapısına periodontal rejenerasyonu desteklemek adına birçok malzeme eklenebilmektedir. Bu amaçla yapılan bir çalışmada, askorbik asit (AA) ile TZF ve yalnızca TZF'nin, evre III periodontitisli hastaların intraosseöz defektlerinin açık flap debridman (OFD) ile tedavisinde klinik ve radyografik olarak önemli iyileşmeler sağladığı gösterilmiştir. Altı ay süren takip sonrasında, hem OFD+AA+TZF hem de OFD+TZF gruplarında klinik ataşman seviyesi kazancı ve periodontal cep derinliğinde anlamlı derecede olumlu sonuçlar görülmüş, diş eti çekilmesinde ve radyografik defekt dolumunda belirgin iyileşme sağlanmıştır.⁷

AA'nın alınan kana direkt enjeksiyon yoluyla eklenerek AA+TZF elde edilmesi, kemik defektlerinde, hücrel proliferatif ve rejeneratif özellikleri artırmış ve periodontal ligament, diş eti, sement ve alveolar kemik biyosentezini iyileştirmiştir. Ayrıca AA, ekstraselüler matriks üretimini artırarak, alkalen fosfataz ve osteokalsin ekspresyonunu teşvik ederek diş eti fenotipini iyileştirmiştir. Bu bulgular, TZF'nin AA ile kombinasyonunun periodontitis tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir.⁷

TZF'ye eklenen ürünler ve kombinasyonlarının olumlu etkileri birçok çalışma ile doğrulanmış, TZF'nin etkili bir taşıyıcı ve yapı iskelesi olarak işlev gördüğü gösterilmiştir. Çeşitli farmakolojik ajanların TZF'ye eklenmesi, doğal büyüme faktörleri ve sitokinlerle birlikte ilaçların lokal etkilerini artırarak yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonunda sinerjistik bir etki sağlamaktadır. Ayrıca, TZF büyüme faktörleri, sitokinler ve farmakolojik ajanların kontrollü salınımını sağlayarak doku mühendisliği ve rejeneratif tedavilerde hücrel iyileşmeyi hızlandırmaktadır. Bu özellikler, TZF'yi çok yönlü bir terapötik biyomateryal haline getirmektedir.⁵ Sistemik ve periodontal dokulara olumlu etkileri olan vitaminlerin TZF'ye eklenmesi ile bu biyomateryalin rejeneratif ve

terapötik potansiyelinin daha da artırabileceği düşüncesi ile bu tez çalışmasında C ve D vitamini kullanılmıştır.

2.6. C Vitamini (L-askorbik asit, AA)

C vitamini, Nobel ödüllü bilim insanı Albert Szent-Györgyi tarafından 1920'lerde tanımlanmış ve skorbüt hastalığının tedavisinde önemli bir rolü olan, suda çözülebilen, molekül ağırlığı yaklaşık 176,12 g/mol olan esansiyel bir vitamindir. Bu vitamin, güçlü antioksidan ve anti-inflamatuar özelliklere sahip olup, hücrel ve moleküler mekanizmalarda kritik işlevler üstlenmektedir. C vitamini, kolajen sentezi, yara iyileşmesi ve bağışıklık sistemi fonksiyonları gibi biyolojik süreçlerde aktif rol oynayarak periodontal rejenerasyona katkı sağlamaktadır.^{127,128}

2.6.1. C Vitamininin Biyokimyasal Rolü, Emilimi ve Etkileri

C vitamini, kimyasal olarak L-treo-hekzo-2-enono-1,4-lakton olarak bilinen bir ketolakton olup belirgin antioksidan özellikler taşımaktadır. İnsanlar, L-gulonolakton oksidaz enzimi eksikliği nedeniyle C vitamini sentezleyemezler; bu nedenle, insanlar için bu vitaminin diyet yoluyla alınması zorunludur. C vitamini, bağırsaklardan emildikten sonra kan dolaşımı aracılığıyla hücrelere taşınmaktadır. Hücrelere, glikoza olan benzerliği nedeniyle dehidroaskorbik asit formunda, glikoz taşıyıcıları (GLUT) aracılığıyla taşınmakta ve belirli organlarda SVCT-1 ve SVCT-2 (sodyuma bağımlı C vitamini taşıyıcıları) aracılığıyla askorbik asit olarak taşınmaktadır. Hücre içinde dehidroaskorbik asit (DHA), askorbik aside indirgenmekte ve bu form, enerji metabolizması, gen transkripsiyonu ve hormonal yolların düzenlenmesi gibi birçok hayati süreçte rol oynamaktadır.¹²⁸

Genel etkilerini incelenecek olunursa; askorbik asit (C vitamini), vücutta birçok biyokimyasal ve fizyolojik süreçte merkezi bir rol oynamakta ve güçlü antioksidan özellikleriyle öne çıkmaktadır. Reaktif oksijen türlerini (ROS) etkisiz hale getirerek oksidatif stresi azaltan askorbik asit, hücrel düzeyde oksidatif hasarı önlemektedir. Mitokondriyal solunum zinciri ve NADPH oksidazlar (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz) gibi ROS üreten sistemleri modifiye etmekte ve böylece hücre zarları,

proteinler ve DNA (deoksiribonükleik asit) üzerinde oluşabilecek hasarları engellemektedir. C vitamini ayrıca glutatyon (GSH), tioredoksin (Trx) ve koenzim Q gibi düşük moleküllü antioksidanlarla etkileşime girerek, hücre zarlarını serbest radikallerden korumakta ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak oksidatif stresle mücadele etmektedir.⁸

C vitamini aynı zamanda, nükleer faktör eritroid 2 ile ilişkili faktör-2 (Nrf2), apurinik/apirimidinik endonükleaz 1 (Ape1 ya da Ref-1) ve aktivatör protein 1 (AP-1) gibi transkripsiyon faktörlerini aktive ederek, hücrel antioksidan savunma mekanizmalarının güçlenmesine katkıda bulunmakta ve inflamatuvar yanıtları azaltan genlerin ekspresyonunu artırmaktadır. Bu süreçler, inflamasyonun kontrol altında tutulmasına yardımcı olmakta ve hücrel hasarı önlemektedir. Askorbik asit, nükleer faktör-Kappa B/TNF- α (NF κ B/TNF- α) yolu gibi pro-inflamatuvar sinyal yolları üzerinde de etkili olup, ROS üretimini azaltarak NF κ B seviyelerini düşürmekte ve böylece pro-inflamatuvar genlerin transkripsiyonunu baskılamaktadır. Bu antioksidan ve anti-inflamatuvar özellikleri, C vitamininin neoplazi, kalp hastalıkları ve diğer dejeneratif hastalıkların gelişimini engellemede önemli bir rol oynadığını ortaya koymaktadır.⁸

Ayrıca, C vitamini, kolajen sentezinde kritik bir rol oynamaktadır. Kolajen, cilt, kan damarları, bağ dokusu, kemikler ve kıkırdak gibi birçok yapının temel bileşeni olan bir proteindir. C vitamini, prolin ve lizinin hidroksilasyon reaksiyonlarında kofaktör olarak işlev görmekte ve bu süreçte kolajen moleküllerinin stabilize edilmesini ve çapraz bağlanmasını sağlamaktadır. Bu fonksiyon, cilt elastikiyetinin korunmasına, yara iyileşmesinin hızlanmasına ve genel doku bütünlüğünün sürdürülmesine katkıda bulunmaktadır.¹²⁹

Bağışıklık sisteminin işleyişini destekleyen C vitamini, fagositik hücrelerin aktivitelerini artırarak patojenlere karşı savunma mekanizmalarını güçlendirmektedir. Aynı zamanda lenfosit proliferasyonunu ve farklılaşmasını teşvik ederek adaptif bağışıklık reaksiyonlarını da düzenlemektedir. C vitamini eksikliği durumunda immün sistem zayıflayarak enfeksiyonlara karşı daha duyarlı gelebilmektedir. Bu nedenle, yeterli C vitamini alımı enfeksiyonların süresini ve şiddetini azaltmada etkili olmaktadır.¹³⁰

C vitamini, demirin bağırsaklardan emilimini artırarak, demir eksikliği anemisinin önlenmesine yardımcı olmaktadır. Demir, hemoglobin yapısında bulunan ve oksijen taşıma kapasitesini belirleyen kritik bir elementtir. C vitamini, non-hem demirin (bitkisel

kaynaklardan elde edilen demir) ferrik formunu, daha kolay emilen ferröz forma indirgemekte ve böylece demir biyoyararlanımını artırmaktadır.¹³¹

Kardiyovasküler sağlığı koruma konusunda da C vitamini etkili rol oynamaktadır. Yüksek C vitamini alımının düşük tansiyon ve azalan kalp hastalığı riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Antioksidan özellikleri, lipid peroksidasyonunu önleyerek ve damar sağlığını koruyarak, ateroskleroz gelişimini engellemektedir.¹³²

C vitamini beyin sağlığı ve nörolojik fonksiyonlar üzerinde de önemli etkilere sahiptir. Sinir hücrelerinde yüksek konsantrasyonlarda bulunmakta ve nörotransmitterlerin (örn. dopamin, serotonin) sentezinde rol oynamaktadır. Antioksidan etkileri sayesinde, oksidatif stresin ve inflamasyonun azaltılmasına katkıda bulunarak nörodejeneratif hastalıkların (örn. Alzheimer, Parkinson) gelişimini yavaşlatmaktadır.¹³³

Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Bilimler Akademisi Gıda ve Beslenme Kurulu, yetişkinler için günlük en az 60 mg AA alımını önermektedir.¹³⁴ Ancak, vücudun düzgün işleyebilmesi için ideal olarak yetişkinlerin gıda yoluyla günlük 200 mg'dan fazla AA alması tavsiye edilmektedir.¹³⁵ Bu bağlamda, günlük 150 mg'dan fazla AA alımı, yüksek miktarlarda meyve ve sebze, β -karoten, C vitamini, α -tokoferol, eikosapentaenoik asit (EPA) ve dokosaheksaenoik asit (DHA) tüketimi, cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrasında sigara içmeyenlerde periodontal iyileşme ile pozitif ilişki gösterirken, sigara içenlerde bu ilişki gözlenmemektedir.¹³⁶

2.6.2. Periodontal Dokularda C Vitamininin Rolü

Periodontal dokularda inflamasyon ve enfeksiyon varlığında, reaktif oksijen türleri ve serbest radikallerin üretimi artmaktadır. Bu serbest radikaller, hücre zarlarına, DNA ve proteinlere zarar vererek periodontal hastalıkların ilerlemesine neden olmaktadır. C vitamini, güçlü antioksidan özellikleriyle bu serbest radikalleri nötralize etmekte ve oksidatif stresi azaltarak periodontal dokuların hasar görmesini önlemektedir. Antioksidan etkileri sayesinde, periodontal bağ dokusunda oluşabilecek oksidatif hasarı sınırlandırarak, hücrelerin ve dokuların yapısal bütünlüğünü korumakta ve hastalıkların ilerlemesini yavaşlatmaktadır.¹³⁷

C vitamini, periodontal dokuların yapısal bütünlüğünü sağlayan temel bir protein olan kolajen sentezinde kilit bir rol oynamaktadır. C vitamini, kolajen moleküllerinin

stabilizasyonunu ve çapraz bağlanmasını destekleyen prolin ve lizinin hidroksilasyonunu sağlayarak bağ dokusunun esnekliğini ve dayanıklılığını artırmaktadır ve kolajen molekülleri arasındaki bağların güçlenmesine katkıda bulunarak tropokolajen molekülleri arasındaki kovalent bağları pekiştirmektedir.¹²⁹ Bu süreç, diş eti ve periodontal bağ dokularının yenilenmesi ve onarımı için gereklidir. Hidroksilasyonun yeterince sağlanamaması durumunda, prokolajen üretimi azalmaktadır ve oluşan yapının hızlı yıkım ihtimali artmaktadır. C vitamini, kolajen stabilizasyonunda önemli bir unsur olduğu için eksikliği bu proteinin yapısal bütünlüğünün bozulmasına ve periodontal bağ dokusunun zayıflamasına, diş etlerinde kanamalara ve diş kayıplarına yol açabilmektedir. Bundan dolayı kolajen üretiminin yeterli düzeyde olması, periodontal rejenerasyon ve yara iyileşmesi için kritik öneme sahiptir.^{129,138}

Periodontal hastalıkların tedavisinde ve cerrahi müdahaleler sonrası iyileşme sürecinde C vitamini, yara iyileşmesi ve dokuların yeniden yapılandırılması için gerekli bir faktördür. C vitamini, fibroblast proliferasyonunu ve kolajen sentezini artırarak yara iyileşmesini hızlandırmakta ve dokuların yenilenmesini sağlamaktadır.¹³⁹ Ayrıca, C vitamini, yeni kan damarlarının oluşumunu (anjyogenezis) destekleyerek periodontal dokulara oksijen ve besin maddelerinin taşınmasını kolaylaştırmaktadır. Bu süreçler, cerrahi işlemler sonrası iyileşme süresini kısaltmakta ve periodontal dokuların rejenerasyonunu teşvik etmektedir.⁸

C vitamini, immün sistemi güçlendirici etkileriyle periodontal hastalıklara karşı savunma mekanizmalarını da desteklemektedir. Periodontal enfeksiyonlar, immün sistemin inflamatuvar yanıtlarını tetiklemekte ve bu da periodontal dokularda kronik inflamasyona neden olmaktadır. C vitamini, inflamatuvar sitokinlerin (TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi) üretimini azaltarak, anti-inflamatuvar sitokinlerin (örneğin IL-10) üretimini teşvik ederek inflamasyonu kontrol altında tutmaktadır. Bu etki sonucunda C vitamini, periodontal dokuların iyileşme sürecine katkı sağlamak ve kronik inflamasyonun neden olduğu doku hasarını azaltmaktadır.^{8,140}

C vitamini nötrofil ve makrofaj gibi fagositik hücrelerin işlevlerini destekleyerek enfekte periodontal dokularda patojenlerin temizlenmesine de yardımcı olmaktadır. Bu etkisi, immün sistemin işlevselliğini artırarak periodontal hastalıklara karşı daha etkili bir savunma sağlamaktadır. Yeterli C vitamini seviyesi, immün cevabı düzenler ve periodontal dokuların patojenlere karşı direncini artırır.⁸

Yapılan çalışmalar, askorbik asidin insan periodontal ligament kök hücreleri (PDLSC) üzerindeki immünomodülatör koruyucu etkilerini göstermiştir. Askorbik asit, *Porphyromonas gingivalis* lipopolisakkaritleri (*P. gingivalis*-LPS) tarafından indüklenen periodontal dokuların yıkımına öncü olan gen ifadelerini tersine çevirmektedir ve MicroRNA 210 (MiR-210) gen ifadesi gibi periodontal dokuların yıkımına karşı baskılayıcı etki gösterirken, osteogenezis, anjiyogenezis ve hücre sağkalımında önemli bir rol oynayan gen ifadelerini artırmaktadır.¹⁴¹ Ayrıca, IL-11 ve askorbik asidin periodontal ligament hücrelerinin osteoblastik diferansiyasyon potansiyeli üzerinde sinerjik bir etki gösterdiği bulunmuştur. Bu bileşenlerin bir haftalık uygulaması, daha yüksek tip I kolajen, Runt ilişkili transkripsiyon faktörü 2 (RUNX2), ALP, osteokalsin (OCN) ve matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) üretimini tetiklemiştir; bu süreçler, periodontal dokuların rejenerasyonunda ve sert doku formasyonunda kritik bir rol oynamaktadır.¹⁴²

Askorbik asit, çeşitli mezenkimal kök hücre türlerinin biyosentezinde önemli yararlar sağlamaktadır. PDLSC, askorbik asit ile indüklenerek osteojenik belirteçlerin miktarını artırmaktadır. Bu kök hücre yapıları, periodontal dokuların rejeneratif tedavilerinde büyük potansiyele sahiptir ve başarılı doku iyileşmesini teşvik etmektedir. Askorbik asidin hücre proliferasyonu ve diferansiyasyonunu artırıcı etkileri, periodontal ligament fibroblastları ve osteoblastlar üzerinde gözlemlenmiştir.⁸ Askorbik asit, ekstraselüler matriks üretimini ve mineralizasyonu teşvik ederken, periodontal doku rejenerasyonunda ve sert doku formasyonunda görev alan VEGF, TGF- α ve β , IGF-1, FGF, EGF, kemik morfojenik protein-2 (BMP-2), parathormon (PTH) gibi çeşitli büyüme faktörlerinin ve metabolik yapıların salgılanmasını artırmıştır.¹⁴³

C vitamininin periodontal dokular üzerindeki etkileri incelendiğinde, yeterli C vitamini alımının periodontal doku rejenerasyonunu desteklediği, yara iyileşme sürecini hızlandırdığı ve bağışıklık fonksiyonlarını güçlendirdiği görülmektedir.^{129,138} Özellikle periodontitis gibi kronik inflamatuvar hastalıkların tedavisinde, C vitamini takviyesi hem hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak hem de tedavi başarısını artırmak açısından potansiyel bir strateji olarak değerlendirilmektedir. Bu nedenle, C vitamini takviyesinin standardize tedavi protokollerine entegre edilmesi gerektiği düşünülmektedir.

2.7. D Vitamini (Kolekalsiferol)

D vitamini, yağda çözünen ve çekirdekli hücrelerde steroid nükleer reseptör süper ailesinin bir üyesi olan D vitamini reseptörleri (VDR) aracılığıyla yaygın olarak işlev gören steroid yapılı bir vitamindir. Endokrin işlevlerinin yanı sıra bağırsaklardan kalsiyum emilimini ve osteoklastik aktiviteyi kolaylaştıran D vitamini; immün sisteme ait olan ve olmayan birçok hücrede bulunan VDR aracılığıyla gen ifadelerinin düzenlenmesini, hormon ve protein sentezini, immün ve inflamatuvar yanıtları ile hücresel dönüşümü kontrol etmektedir. Bu bağlamda, D vitamini eksikliği, otoimmün hastalıklar, kanser, diyabet, miyopatiler, metabolik sendromlar, osteoporoz, enfeksiyonlar, kardiyovasküler hastalıklar, çocuklarda raşitizm ve kronik obstrüktif pulmoner hastalık (KOAH) gibi çok sayıda hastalıkla ilişkilendirilmiştir.⁸

2.7.1. D Vitamininin Biyokimyasal Rolü, Emilimi ve Genel Etkileri

D vitamininin biyolojik olarak %90'ı deri altı dokuda bulunan ve kolesterol öncüsü olan 7-dehidrokolesterolün güneşin UVB ışınlarına maruz kalmasıyla üretilmektedir. Bu maruziyet, öncü yapıyı pre-D vitaminine dönüştürür ve bu da izomerizasyonla kolekalsiferol (D3 vitamini) haline getirmektedir. Geri kalan D3 vitamini, diyet kaynaklarından (örneğin balık yağları, yumurta sarısı ve süt ürünleri) elde edilebilmektedir. D2 vitamini ise bitkisel kaynaklardan alınabilmektedir ve her iki form da biyolojik olarak inaktif olup, karaciğerde 25-hidroksilasyona uğrayıp 25(OH)D3 (kalsidiol, yarılanma ömrü 2-3 hafta) haline gelerek böbrekler, alveoler makrofajlar, osteoblastlar, lenf nodülleri, plasenta, kolon, meme dokularında tekrardan bir hidroksilasyon işlemine uğramaktadır. Sonrasında en aktif formu olan 1,25(OH)D3'e (kalsitriol, yarılanma ömrü 4-6 saat) dönüştürülmektedir.⁸ Ayrıca periodontal hücrelerin kendi kendilerine D vitamini üretme kabiliyeti in vitro olarak gösterilmiştir. İnsan dişeti fibroblastları ve periodontal ligament hücrelerinin birincil kültürlerinin D3 vitamini ile inkübasyonunu takiben, 25(OH)D3 tespit edilebilmiş ve bunu 1,25(OH)D3 üretimi izlemiştir.¹⁴⁴

Serum 25(OH)D3, D vitamini alımının bir biyobelirteci olarak işlev görmektedir ancak vücuttaki etkilerle (örneğin sağlık durumu veya sonuçları) ne ölçüde ilişkili olduğu

net değildir. Araştırmacılar, 25(OH)D3'ün eksikliğinin, kemik sağlığı ve genel sağlık için yeterliliği ile ilişkili serum konsantrasyonlarını kesin olarak tanımlayamamışlardır.¹⁴⁵

D vitaminin genel fizyolojik özellikleri incelenecek olunursa; özellikle kalsiyum ve fosforun bağırsaklardan emilimini artırarak kemik matriksinin mineralizasyonunu sağlamaktadır. Böylece kemik yapısının sağlam ve dayanıklı olmasına katkıda bulunmaktadır. Reseptörleri aracılığıyla osteoblast aktivitesi artırılmakta ve osteoklastik rezorpsiyon dengelenmektedir. Bu mekanizmalar, kemik yoğunluğunu koruyarak osteoporoz gibi kemik hastalıklarının önlenmesine yardımcı olmaktadır.¹⁴⁶

D vitamini aynı zamanda doğuştan gelen ve adaptif immün cevabı da modüle etmektedir. VDR'lerin makrofajlar ve T hücrelerinde bulunması, bu vitaminin antimikrobiyal peptitlerin üretimini artırarak enfeksiyonlara karşı koruma sağladığını ve otoimmün hastalıkların gelişimini önlediğini göstermektedir. Bu etkiler, bağışıklık sistemi hücrelerindeki gen ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla gerçekleşmektedir.¹⁴⁷

D vitamininin anti-inflamatuar etkileri, mitogenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal yolağının inhibisyonu yoluyla gerçekleşmekte ve IL-6, IL-17 ve TNF- α gibi birçok inflammatuar sitokinin üretiminin azaltılmasına yardımcı olmaktadır. Ayrıca, D vitamini, makrofajların fenotipini M1 fenotipinden (pro-inflamatuar) M2 fenotipine (anti-inflamatuar) değiştirme yeteneğine sahip olduğu gösterilmiştir.¹⁴⁸

D vitamininin kardiyovasküler sistem üzerindeki etkisi, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemi (RAAS) üzerinden kan basıncını düzenlemesi ile de bağlantılıdır. Düşük D vitamini seviyeleri, renin ekspresyonunun artmasına ve bu nedenle hipertansiyonun gelişmesine yol açabilmektedir. Ayrıca, D vitamininin endotel fonksiyonunu iyileştirici etkileri, aterosklerozun önlenmesine katkıda bulunmakta ve kardiyovasküler hastalık riskini azaltmaktadır.¹⁴⁹

Metabolik fonksiyonlar açısından D vitamini, insülin duyarlılığı ve glukoz metabolizması üzerinde de etkili olmaktadır. Bu vitamin, pankreasın beta hücrelerinde insülin üretimini desteklemekte ve özellikle tip 2 diyabet riskini azaltmada kritik bir rol oynamaktadır. D vitamini eksikliği, insülin direnci ve hiperinsülinemi ile ilişkilendirilmiştir; bu da glisemik kontrolün bozulmasına yol açabilmektedir.¹⁵⁰

Nörolojik sağlık üzerinde de D vitamininin belirgin etkileri bulunmaktadır. Beyindeki nöronlar ve glial hücreler, D vitamini reseptörlerini eksprese etmekte; bu da vitaminin nöroprotektif etkilerini ve nöroinflamasyonun düzenlenmesindeki rolünü

ortaya koymaktadır. Düşük D vitamini seviyeleri, nörodejeneratif hastalıklar ve bilişsel bozukluklarla ilişkilendirilmiştir. Bu etkiler, sinir hücrelerindeki kalsiyum homeostazını ve inflamatuvar tepkilerin modülasyonunu içermektedir.¹⁵¹

Ulusal Bilimler, Mühendislik ve Tıp Akademileri (NASEM) ve Gıda ve Beslenme Kurulu uzman komitesi (FNB), D vitamini gereksinimleri hakkındaki verileri inceledikten sonra, serum 25(OH)D3 konsantrasyonları 30 nmol/L'nin (12 ng/mL) altında olan kişilerin D vitamini eksikliği riski taşıdığını belirlemişlerdir. Ayrıca, 30-50 nmol/L (12-20 ng/mL) arasındaki seviyeler, bazı kişilerde yetersizlik riski taşıyabilir. Çoğu kişi için 50 nmol/L (20 ng/mL) veya üzeri seviyeler yeterli bulunmaktadır. Buna karşılık, Endokrin Derneği, klinik uygulamada kalsiyum, kemik ve kas metabolizmasını en üst düzeye çıkarmak için serum 25(OH)D3 konsantrasyonunun 75 nmol/L'nin (30 ng/mL) üzerinde olması gerektiğini belirtmiştir.¹⁴⁶ FNB komitesi ayrıca, serum konsantrasyonlarının 125 nmol/L'nin (50 ng/mL) üzerinde olmasının olumsuz etkilerle ilişkili olabileceğini belirtmiştir.¹⁴⁵ (Çizelge 1)

Çizelge 1. Serum 25-Hidroksivitamin D konsantrasyonları ve sağlık durumu

nmol/L	ng/mL	Sağlık Durumu
<30	<12	D vitamini eksikliği ile ilişkilidir; bebeklerde ve çocuklarda raşitizm, yetişkinlerde osteomalaziye yol açabilir.
30-50	12-20	Sağlıklı bireylerde kemik ve genel sağlık için genellikle yetersiz kabul edilir.
≥50	≥20	Sağlıklı bireylerde kemik ve genel sağlık için genellikle yeterli kabul edilir.
>125	>50	Özellikle >150 nmol/L (>60 ng/mL) üzerinde olduğunda, potansiyel olumsuz etkilerle ilişkilidir.

FNB komitesi, sağlıklı bireylerde kemik sağlığını ve normal kalsiyum metabolizmasını sürdürmek için yeterli günlük D vitamini alımlarını belirtmek amacıyla RDA'lar (önerilen günlük alım miktarı) belirlemiştir. D vitamini RDA'ları mikrogram (µg) ve Uluslararası Birimler (IU) olarak listelenmiştir; 1 µg D vitamini, 40 IU'ya eşittir.

Güneş ışığı insanlar için önemli bir D vitamini kaynağı olmasına rağmen FNB, insanlar minimal güneş ışığına maruz kaldığı varsayımıyla D vitamini RDA'larını belirlemiştir. Bebekler için, FNB komitesi, serum 25(OH)D3 seviyelerini 20 ng/mL (50 nmol/L) üzerinde tutan ve kemik gelişimini destekleyen miktarda D vitamini baz alarak alım değerleri belirlenmiştir.¹⁴⁵ (Çizelge 2)

Çizelge 2. D vitamini için önerilen tüketim miktarları

Yaş Grubu	Erkek	Kadın	Gebelik	Emzirme
0-12 ay*	10 µg (400 IU)	10 µg (400 IU)		
1-13 yıl	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)		
14-18 yıl	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)
19-50 yıl	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)
51-70 yıl	15 µg (600 IU)	15 µg (600 IU)		
>70 yıl	20 µg (800 IU)	20 µg (800 IU)		

Dünya genelindeki birçok ülke ve bazı profesyonel kuruluşlar, D vitamini alımları için farklı yönergeler sunmaktadır. Bu farklılıklar; D vitamininin biyolojisi ve klinik etkileri hakkındaki eksik bilgiler, yönergelerin farklı amaçlar için (örneğin, sağlıklı bir popülasyonda halk sağlığı veya klinik uygulama için) geliştirilmesi ve bazı yönergelerde önerilerin belirlenmesi için gözlemsel çalışmaların yanı sıra randomize klinik deneylerin kullanılması gibi nedenlerle ortaya çıkmaktadır.¹⁵²

2.7.2. Periodontal Dokularda D vitamininin Rolü

İdeal periodontal sağlık için D vitamini düzeyi kanda 90–100 nmol/L civarında olmalıdır. Daha düşük konsantrasyonlar, periodontal hastalık ilerlemesi ve diş kaybı ile ilişkilendirilmiştir.¹⁵³

Birçok klinik çalışma, D vitamininin periodontal hastalıklara karşı koruyucu rolünü ve serum 25(OH)D3 seviyeleri ile periodontal sağlık arasındaki doğrudan ilişkiyi açıkça ortaya koymuştur. Düşük serum D vitamini seviyelerinin periodontal hastalık riskini artırdığı ve gingival inflamasyon ile korele olduğu belirlenmiştir.^{8,154} Çalışmalar, özellikle 50 yaş ve üzeri bireylerde serum 25(OH)D3 seviyeleri ile gingivitis ve

periodontitis arasında ters bir ilişki olduğunu göstermiştir.^{155,156} Ayrıca, D vitamini eksikliği olan postmenopozal kadınlar ve hamile kadınlarda periodontal hastalık riski daha yüksek bulunmuştur.¹⁵⁷ Bununla birlikte, genç ve periodontitis riski düşük bireylerde bu ilişki belirgin olmamıştır.¹⁵⁸

D vitamini serum seviyelerinin periodontal cerrahi sonrası iyileşme üzerindeki etkilerini değerlendirmeyi amaçlayan bir çalışmada; D vitamini eksikliği olan bireylerde, cerrahiden sonra klinik ataşman kazancı ve sondlama derinliğinde azalma gibi iyileşme göstergeleri, D vitamini yeterli olan bireylere kıyasla anlamlı derecede daha düşük bulunmuştur. D vitamini yeterli olan hastalarda daha fazla klinik ataşman kazancı ve sondlama derinliğinde azalma gözlenirken, D vitamini eksikliği olan bireylerde cerrahi sonrası klinik ataşman kaybı ve sınırlı iyileşme gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar, D vitamini eksikliğunun periodontal cerrahi sonrası iyileşme sürecini olumsuz etkileyebileceğini göstermektedir.¹⁵⁹

Yapılan başka çalışmalarda da cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası alınan D vitamini takviyesinin klinik sonuçlar üzerindeki etkilerini değerlendirmiştir.^{160,161} Çalışmalardan biri, D vitamini takviyesinin klinik sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı bulunduğunu fakat sınırlı bir iyileşme sağladığını belirtirken¹⁶⁰, diğer çalışma 6 aylık D vitamini takviyesinin anlamlı bir farklılık sağlamadığını bildirmiştir.¹⁶¹

Yapılan başka bir çalışmada D vitaminin T-helper (Th1) hücrelerinden sitokin üretimini inhibe ettiği, Th2 sitokinlerini seçici olarak desteklediği gözlenmiştir.^{162,163} Th1 hücrelerinin lokal inflamatuvar reaksiyonu tetikleyen ve doku hasarına neden olan sitokinleri serbest bıraktığı düşünülmektedir, ayrıca Th2 hücreleri de onarıcı yanıtları teşvik eden ve periodontal onarımı kolaylaştıran sitokinler salgılamaktadır.¹⁶⁴ Treg (regülatör T hücresi) ve Th17 gibi diğer Th alt kümeleri de kemik hastalıkları ve onarımında antagonistik roller oynamaktadır.¹⁶⁵ D vitamininin, Th hücreleri tarafından salınan IL-17 gibi artan periodontitis insidansı ile ilişkilendirilen sitokinlerin üretimini azaltabileceği gösterilmiştir.¹⁶⁶

Fare modelleri üzerinde yapılan bir çalışmada, D vitamininin kemik kaybını anlamlı şekilde azalttığı gösterilmiştir. Histolojik incelemelerde, osteoklast sayısı ve inflamatuvar hücre infiltrasyonu, D vitamini uygulanan grupta önemli ölçüde azalmıştır. Sitokin analizleri, D vitamininin inflamatuvar bir sitokin olan IL-17 seviyelerini azalttığını, güçlü anti-inflamatuvar sitokinler IL-4 ve IL-10 seviyelerini ise artırdığını göstermiştir. Th

hücre analizlerinde, Th2 ve Treg hücrelerinin arttığı, Th1 ve Th17 hücrelerinin ise azaldığı tespit edilmiş ve bu inflamatuvar değişikliklerin D vitamininden kaynaklandığı gösterilmiştir.¹⁶⁷

KOAH'lı ve periodontitisli fare modelleri üzerinde yapılan başka bir çalışmada; D vitamini takviyesi alan fare deneklerinde, inflamasyonu teşvik eden pro-inflamatuvar sitokinlerin seviyelerini düşürdüğü ve anti-inflamatuvar sitokin olan IL-10 seviyesini artırdığı gösterilmiştir. Bu sonuçlar doğrultusunda D vitamini güçlü anti-inflamatuvar etkilerinin yanı sıra KOAH modellerinde kısmi akciğer iyileşmesini sağlamıştır.¹⁶⁸

Yine periodontitis oluşturulmuş fare modellerinde yapılan bir çalışmada D vitamini takviyesinin; çeşitli inflamasyon yolları üzerinden etki ederek alveolar kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca, D vitamini tedavisi inflamatuvar sitokinlerin (IL-1 β , IL-6) üretimini de azaltarak inflamasyonu hafifletmiştir.¹⁶⁹

Ek olarak; D vitamini, makrofajların fagositoz ve kemotaktik yanıtlarını artırmakta ve D vitamini üretiminden sorumlu olan monositlerdeki 1-alfa-hidroksilazı kontrol ederek immün yanıtı hızlandırmaktadır. Böylece disbiyotik bakteriyel enfeksiyona karşı periodontal dokunun tepkisinin kritik bir parçası olmaktadır.¹⁵⁴

Bir çalışmada, matriks metalloproteinaz (MMP) enzimlerinin D vitamini takviyesi sonucunda değerleri incelenmiş ve MMP-9 (jelatinaz) enzim konsantrasyonunun anlamlı derecede azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca serum 25(OH)D3 konsantrasyonunun dolaşımdaki MMP-9 seviyesinin tek belirleyicisi olduğunu ortaya konmuştur.¹⁷⁰

Ayrıca, 1,25(OH)D3'ün insan periodontal ligament kök hücreleri (PDLSC) üzerindeki etkileri incelendiğinde RUNX2, TGF- β 1, BMP-2, tip I kolajen, ALP ve osteopontin (OPN) gibi rejeneratif faktörlerin genlerinin ekspresyonunu artırdığı ve daha fazla mineralize nodül oluşumuna katkı sağladığı gözlemlenmiştir.¹⁷¹ 1,25(OH)D3'ün insan periodontal ligament hücrelerinde OPN ve OCN mRNA ifadelerini ve ALP aktivitesini artırdığı; Escherichia coli-LPS tarafından indüklenen IL-6 ve CXCL1 (kemokin ligandı 1) inflamatuvar etkili transkriptleri azalttığı tespit edilmiştir.¹⁷² Ayrıca D vitamininin immünomodülatör etkileri, insan periodontal ligament hücreleri üzerinde yapılan bir in vitro çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada hücreler 1,25(OH)D3, P. gingivalis veya her ikisine maruz bırakılmıştır. P. gingivalis, IL-6 ve IL-8 seviyelerini artırırken, 1,25(OH)D3 özellikle P. gingivalis ile kullanıldığında IL-8 salınımını inhibe etmiştir. Ancak, IL-6 ifadesi üzerinde bir etkisi olmamıştır.¹⁷³ Bu bilgiler doğrultusunda

D vitamininin periodontal ligament hücrelerinin proliferasyonunu ve farklılaşmasını teşvik ederek periodontal rejenerasyon sürecine anlamlı katkılar sağladığı ve osteoblastik belirteçlerin ifadesini artırarak mineralizasyonu desteklediğini gösterilmiştir. Bu etkinin, özellikle inflamasyon varlığında bile korunduğu ve periodontal dokuların iyileşmesini desteklediği tespit edilmiştir.⁸

Yeni bir D vitamini analogu olan eldecalcitol (ED-71) üzerine yapılan araştırma, bu bileşiğin periodontitis tedavisinde potansiyel bir terapötik ajan olduğunu göstermiştir. ED-71, insan gingival fibroblastlarında P. gingivalis-LPS tarafından indüklenen inflamatuvar hücre ölümünü (piroptoz) engellemiştir. 25(OH)D3 tedavisi, serumdaki inflamatuvar sitokin seviyelerini (TNF- α , INF- γ (interferon- γ) ve IL-6) ve alveolar kemik kaybını azaltmıştır. Ayrıca, bu tedavi sonucunda periodontal inflamasyonun yaşla ilişkili artışının önüne geçildiği gözlenmiştir.¹⁷⁴

D vitamini reseptörü (VDR) gen polimorfizmlerinin periodontal sağlığa etkileri incelenecek olunursa, bu yapılar D vitamininin vücuttaki biyolojik etkilerini düzenleyen genetik varyasyonlardır ve bu varyasyonlar, bireylerin D vitaminine verdiği yanıtı etkileyebilmektedir.¹⁷⁵ VDR genindeki bu polimorfizmlerin, periodontitis gibi inflamatuvar hastalıkların şiddetini ve ilerlemesini etkilediği gösterilmiştir. Çalışmalarda, VDR gen polimorfizmlerinin, özellikle belirli alellerin, periodontitisin daha şiddetli formlarına yol açabilecek pro-inflamatuvar yanıtları artırarak osteoklastogenezisi uyardığı ve alveolar kemik kaybını hızlandırdığı bulunmuştur.^{175,176} Bu sonuçlara dayanarak, VDR genindeki polimorfizmlerin varlığının, D vitamininin periodontal sağlık üzerindeki rolünü etkileyebileceği söylenebilmektedir.

Özellikle kolajen üretimini destekleyen ve güçlü antioksidan özellikler gösteren C vitamini ile kemik metabolizması üzerindeki önemli etkileri ve güçlü anti-inflamatuvar özellikleriyle dikkat çeken D vitamini, periodontal dokuların rejenerasyonunda önemli katkılar sağlamaktadır.⁸ Diş hekimliği uygulamalarında ve periodontal dokuların onarım süreçlerinde C ve D vitaminlerinin sağladığı faydalar göz önünde bulundurulduğunda, bu vitaminlerin TZF'nin taşıyıcı özelliklerinden yararlanılarak içeriğine dahil edilmesinin, TZF'nin büyüme faktörleri konsantrasyonunu ve mekanik özelliklerini olumlu yönde etkileyebileceği ve TZF'nin rejeneratif kapasitesini artırarak periodontal tedavi süreçlerinde daha başarılı sonuçlar elde edilmesini sağlayabileceği düşünülmektedir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda, 10 erkek 10 kadın gönüllü katılımcı ile gerçekleştirildi. Tüm bireylere çalışma öncesinde araştırmanın amacı, yöntemi ve uygulanacak işlem hakkında detaylı bilgi verildikten sonra katılım için aydınlatılmış onam formu imzalatıldı. Çalışmanın etik uygunluğu, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (04.02.2023 tarih ve 130/90 sayılı) tarafından onaylandı.

3.1. Hasta Seçimi

Aşağıda belirtilen kriterlere sahip olan bireyler çalışmaya dahil edildi:

1. Sistemik hastalığının bulunmaması,
2. Kooperasyonunun iyi olması.

Aşağıda belirtilen kriterlere sahip bireyler çalışma dışı bırakılmıştır:

1. Sistemik hastalığı olan,
2. C ve D vitaminine karşı alerjisi olan,
3. Hamilelik/emzirme
4. Kanama bozukluğuna yol açan ilaç kullanımı,
5. Son 6 ayda C ve veya D vitamini eksikliğinden dolayı tedavisi görmüş bireyler.

3.1.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Sağlıklı 10 erkek, 10 kadın katılımcıdan toplam 7 tüp (her tüp için yaklaşık 10 ml) kan toplandı.

1. Tüp: Tam kan sayımı ve kandaki C ile D vitamini seviyelerini belirlemek için kullanıldı,

2. Tüp: Büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan TZF,
3. Tüp: Mekanik testlerde ve SEM analizinde kullanılan TZF,
4. Tüp: Alınan venöz kana 1 ml C vitamini eklenerek oluşturulan, büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan TZF,
5. Tüp: Alınan venöz kana 1 ml C vitamini eklenerek oluşturulan, mekanik testlerde ve SEM analizinde kullanılan TZF,
6. Tüp: Alınan venöz kana 0,25ml D vitamini eklenerek oluşturulan, büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan TZF,
7. Tüp: Alınan venöz kana 0,25ml D vitamini eklenerek oluşturulan, mekanik testlerde ve SEM analizinde kullanılan TZF.

Sonuç olarak 3 çalışma grubu oluşturuldu:

1. **Grup:** Trombositten zengin Fibrin (Kontrol Grubu): TZF
2. **Grup:** C vitamini (1 mL) eklenerek hazırlanmış trombositten zengin fibrin (Çalışma Grubu): (VitC-TZF)
3. **Grup:** D vitamini (0,25 mL) eklenerek hazırlanmış trombositten zengin fibrin (Çalışma Grubu): (VitD-TZF)

3.2. Çalışma Protokolü

Sağlıklı 10 erkek, 10 kadın katılımcıdan 7'er tüp (her tüp için yaklaşık 10 ml) kan toplandı. 1.tüp tam kan sayımı ve hastaların C ile D vitamin konsantrasyonlarını belirlemek için kullanıldı. 2. Ve 3. tüplere herhangi bir vitamin solüsyonu eklenmeden 2700 rpm'de 12 dk santrifüj edildi. 4. ve 5 tüplere santrifüj öncesi 1 ml/100mg C solüsyonu(Redox-C® 500 mg/5 ml ampul I.V., Bayer Türk Kimya San. Ltd Şti.) (Şekil 11) eklenerek elde edilen kan 2700 rpm'de 12 dk boyunca santrifüj edildi (Şekil 12,13). 6. Ve 7. tüplere santrifüj öncesi 0,25ml D vitamini solüsyonu (Devit-3® 300.000 I.U./1 ml, 7,5 mg, ampul I.M., DEVA Holding A.Ş) (Şekil 11) eklenerek elde edilen kan 2700 rpm'de 12 dk boyunca santrifüj edildi (Şekil 14,15). Elde edilen TZF'lerin hassas terazide ölçümü yapıp kaydedildi (Şekil 16). Her gruptan elde edilen

TZF'lerden bir tanesi büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin tespit edilmesi için kullanıldı. Elde edilen diğer TZF'ler SEM analizi ve mekanik testler için kullanıldı.



Şekil 11. D ve C vitamini

3.2.1. Vitamin Dozlarının Belirlenmesi

Çalışma öncesi C ve D vitamin dozunun belirlenmesi amacıyla bir pilot çalışma yapıldı. 3 gönüllüden ikişer örnek kan alınıp santrifüj öncesi ayrı ayrı C ve D vitamini dozunun belirlenmesi için sırasıyla 0,25-0,5-1 ml vitamin solüsyonu eklendi. Elde edilen kan örnekleri 2700 rpm' de 12 dk boyunca santrifüj edildikten sonra oluşan TZF'lerin makroskobik fiziksel özellikleri gözlemlendi. 0,5 ve 1 ml D vitamini eklenen gruplarda santrifüj sonunda TZF'nin oluşmadığı gözlemlendi. 0,25 ml eklenen gruplarda gözle görülür bir fiziksel değişiklik tespit edilmedi. C vitaminin de bütün dozlarında gözle görülür bir fiziksel değişiklik tespit edilmedi. Bu nedenle çalışmamızda D vitamin dozu 0,25 ml, C vitamin dozu ise 1 ml olarak belirlendi.

3.3. TZF Hazırlık Protokolü

TZF membranları, 12 dakika boyunca 2700 RPM'lik standart protokol ile (Bağıl Santrifüj Kuvveti-RCF-ortalama 708 g). 10 mL cam tüplerde Duo santrifüj cihazı (88 mm ve maksimumda 110 mm yarıçaplı 40° rotor açısına sahip) (Nice, Fransa) kullanılarak üretildi.



Şekil 12. C vitamininin enjektöre çekilmesi



Şekil 13. C vitamininin kan örneklerine eklenmesi



Şekil 14. D vitamininin enjektöre çekilmesi



Şekil 15. D vitamininin kan örneklerine eklenmesi



Şekil 16. Elde edilen TZF grupları

3.4. Büyüme Faktörlerinin Belirlenmesi

20 gönüllü katılımcıdan elde edilen TZF'ler RBC tabakasından steril makasla ayrılıp hassas terazide tartıldı. Her TZF' ye miktarına oranla hücre kültür besiyeri ortamı (HyClone™, RPMI-1640 MEDIUM) ilave edildi. Her bir zaman periyodu sonunda (24 ve 72 saat sonra) TZF örnekleri ELISA testinde kullanılmak için ayrı efendorf tüplerine aktarıldı. Tüm inkübasyon süreci orbital shakerda yavaş programda 72 saat boyunca gerçekleştirildi (Şekil 17-18). Tüm işlem süreleri sonunda büyüme faktörleri (IGF-1, PDGF, FGF-2, TGF β -1, VEGF) ve sitokin (IL-1 β , TNF- α) düzeylerinin belirlenmesi için örnekler ELISA yöntemi ile değerlendirildi [Reed Biotech®, Reed Biotech., Ltd.]. Tüm ELISA testleri, üreticinin yönergelerine uygun şekilde gerçekleştirildi.

Büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için ELISA protokolü:

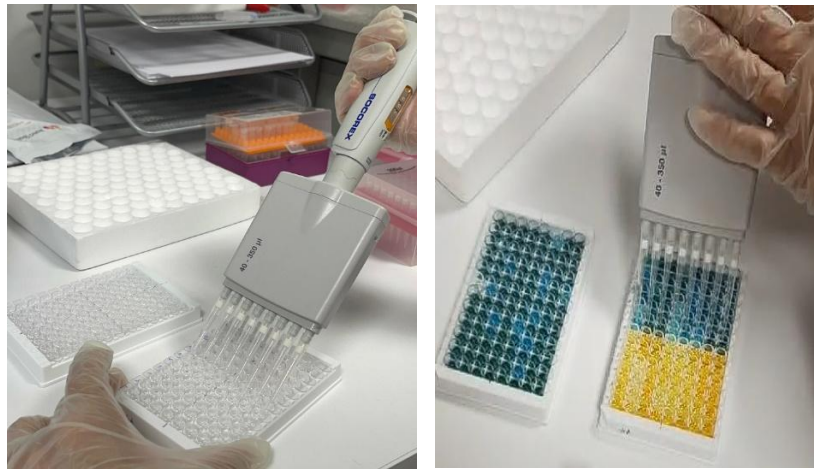
1. Standart ve örnekler kuyulara 100'er mikrolitre eklenerek, 37 derecede 90 dakika inkübe edildi.
2. Üç kez wash buffer ile yıkama yapıldı.
3. 100 mikrolitre biotin işaretli antikor tüm kuyulara eklendi, 60 dakika 37 derecede inkübe edildi.
4. Üç kez yıkama tamponu ile yıkama yapıldı.
5. 100'er mikrolitre HRP tüm kuyulara eklendi ve 30 dakika 37 derecede inkübe edildi
6. Üç kez yıkama tamponu ile yıkama yapıldı.
7. 100 mikrolitre substrat reagent tüm kuyucuklara eklendi, 15 dakika inkübasyon sonrası tüm kuyulara 50'şer mikrolitre stop solüsyonu eklendi.
8. Spektrofotometre ile 450 nm dalga boyunda okuma gerçekleştirildi ve elde edilen değerler pg/ml ve ng/ml cinsinden kaydedildi (Şekil 19).



Şekil 17. Orbital shaker ile inkübasyon



Şekil 18. TZF efendorf tüplerine aktarılması



Şekil 19. ELISA protokolü

3.5. SEM Analizi

Mikroyapıyı belirlemek için numuneler, 0,1 mPa'nın altında 8 saat boyunca dondurularak kurutuldu (ilShin BioBase FD8512). Numuneler, iletkenliği artırmak amacıyla altın-paladyum ile kaplandı. 15 nm'ye kadar altınla kaplama işleminden (Quorum, Q150R ES, İngiltere) sonra, numuneler yüksek vakumlu Quanta 650 Field Emission SEM'de 10.000 kV altında incelenerek 6.000X ve 24.000X büyütme ile mikrograflar çekildi.



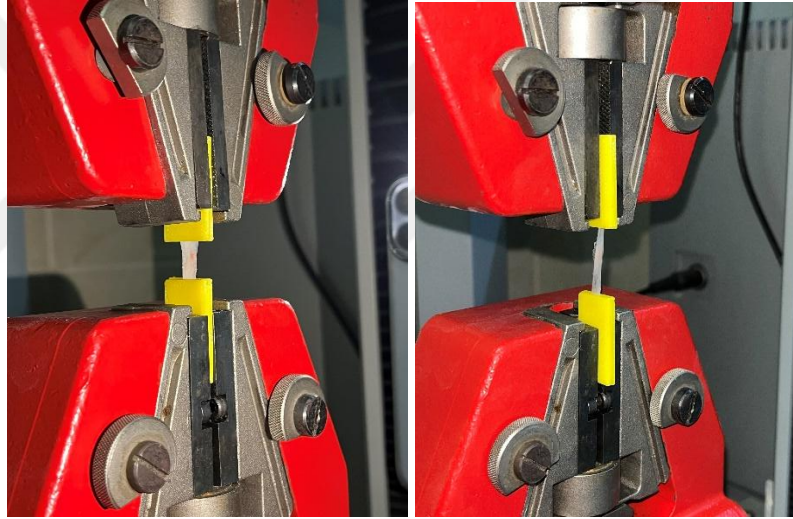
Şekil 20. Numunelerin altın-paladyum ile kaplanması



Şekil 21. Quanta 650 Field Emission Cihazı

3.6. Çekme ve Uzama Testleri

Çekme testi, Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Araştırma Laboratuvarı'nda testometrik M500-25kN cihazı kullanılarak gerçekleştirildi. TZF örnekleri, cihaza herhangi bir gerilim uygulanmadan klipslerle sabitlendi. Çekme yüklemesi, 1 mm/dakika kafa hızıyla; numunenin kopma anındaki maksimum yük kaydedilerek ve çekme mukavemeti şu formül kullanılarak hesaplandı: $S=F/A$, burada F maksimum kuvveti (N) ve A ise birim alanı (m²) ifade etmektedir. Gerilim-gerinim eğrisi aynı anda cihazın dahili yazılımı ile değerlendirildi. Numunenin sertliği (elastikiyet modülü) gerilme/gerinim oranı ile elde edilmiş ve eğri altındaki toplam alan, numunelerin tokluğu olarak belirlendi. Ayrıca kopma anındaki maksimum uzamalar mm cinsinden kaydedildi.



Şekil 22. Testometrik cihazı ile TZF örneklerine çekme testi uygulaması

3.7. İstatiksel Analiz

Sayısal ölçümler ortalama±standart sapma ve medyan (minimum- maksimum) olarak özetlendi. Sayısal ölçümlerin normal dağılım varsayımını sağlayıp sağlamadığı Shapiro Wilk testi ile test edildi. Bağımlı sayısal ölçümlerin karşılaştırılmasında varsayımların sağlanması durumunda Bağımlı Gruplarda T testi, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Wilcoxon Signed Rank testi kullanıldı. Sayısal ölçümler arasındaki etkileşimi incelemeye varsayımların sağlanması durumunda Pearson korelasyonu, varsayımların sağlanmaması durumunda ise Spearman korelasyonu

kullanıldı. Üç t p kan aynı bireylerden alındığından bağımlı yapı gözetilerek her bir zaman için grup karşılaştırmaları (TZF, VitC-TZF, VitD-TZF) için normal dağılım göstermeyen sayısal ölçümleri karşılaştırmada Friedman testi kullanıldı. Grupların ikili karşılaştırmalarında Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon Signed Rank testleri kullanıldı. Grupların zaman (24. saat ve 72. Saat) içindeki değişiminin ilgili faktörler açısından incelenmesinde ise; zamanın (rastgele, random), grup değişkeninin (sabit, fixed) içinde iç içe yerleştirildiği Nested ANOVA uygulandı. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0,05 olarak alındı.



4. BULGULAR

Çalışmaya 20 gönüllü birey dahil edildi. Her bir katılımcıdan 7 tüp venöz kan toplandı. Bir tüp tam kan sayımı için kullanıldı. Tam kan sayımı ölçümlerinde; trombosit seviyelerinin ve kan parametrelerinin tüm katılımcılarda normal referans değerler içerisinde olduğu tespit edildi.

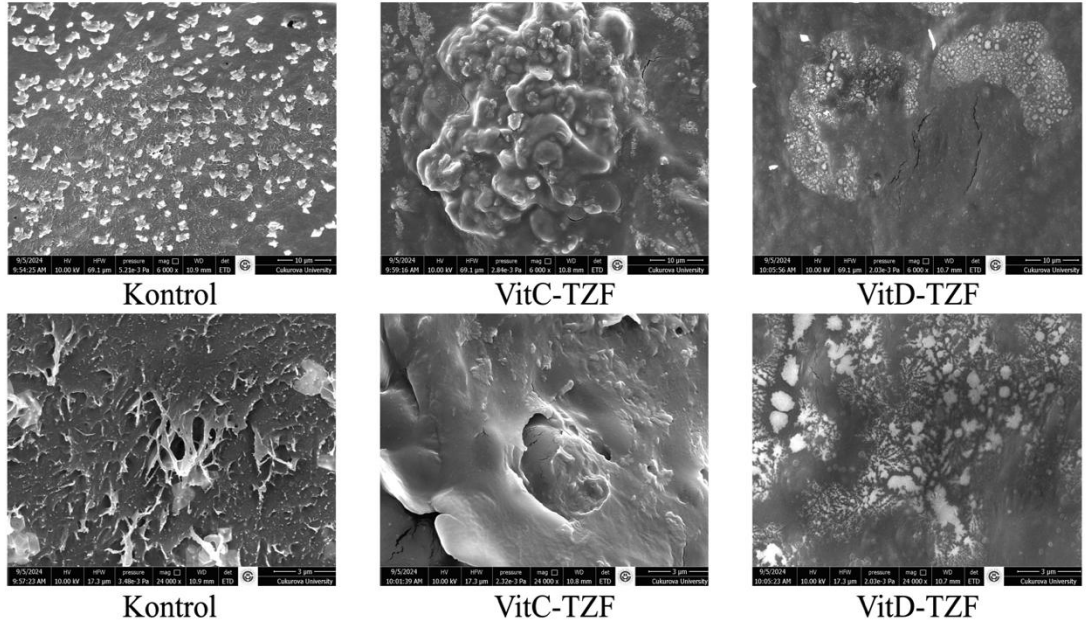
4.1. SEM Analizi

Elektron mikroskobu (SEM) ile 6.000X ve 24.000X büyütme altında elde edilen görüntülerde farklı grupların yüzey morfolojisi incelendi. Görüntülerde yer alan kontrol, VitC-TZF ve VitD-TZF grupları arasındaki morfolojik farklılıklar net bir şekilde gözlemlendi (Şekil 23).

Kontrol Grubu: 6.000X büyütmede, kontrol grubunun yüzeyinde granüler bir yapı ve düzenli dağılmış partiküllerle birlikte yüzey bütünlüğü tespit edildi. 24.000X büyütmede ise mikro gözenekler ve pürüzlü yüzey detayları, kontrol grubunun yüzeyinde belirgin bir heterojenliği ortaya koyduğu görüldü.

VitC-TZF Grubu: 6.000X büyütmede, VitC-TZF grubunda yüzeyin daha yoğun bir yapıya sahip olduğu görüldü. Yüzeyde kümelenmiş ve kompakt bir yapı gösteren partiküller tespit edildi. 24.000X büyütmede ise yüzey daha detaylı incelendiğinde amorf yapılar ve düzensiz boşluklar gözlemlendi.

VitD-TZF Grubu: 6.000X büyütmede, VitD-TZF grubunda yüzeyde granüler yapının daha belirgin olduğu ve partiküllerin kümelenme eğilimi gösterdiği görüldü. 24.000X büyütmede ise yüzeyde dendritik yapılara benzeyen kristalize yapılar gözlemlendi.

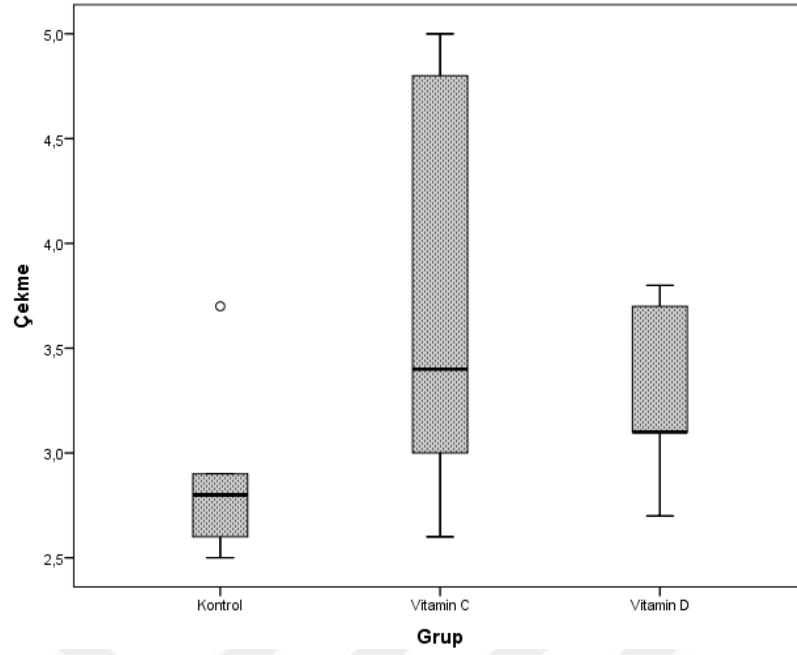


Şekil 23. 6.000X ve 24.000X büyütme ile SEM görüntüleri

4.2. TZF Gruplarının Mekanik Özelliklerinin Değerlendirilmesi

a. Çekme Dayanımı

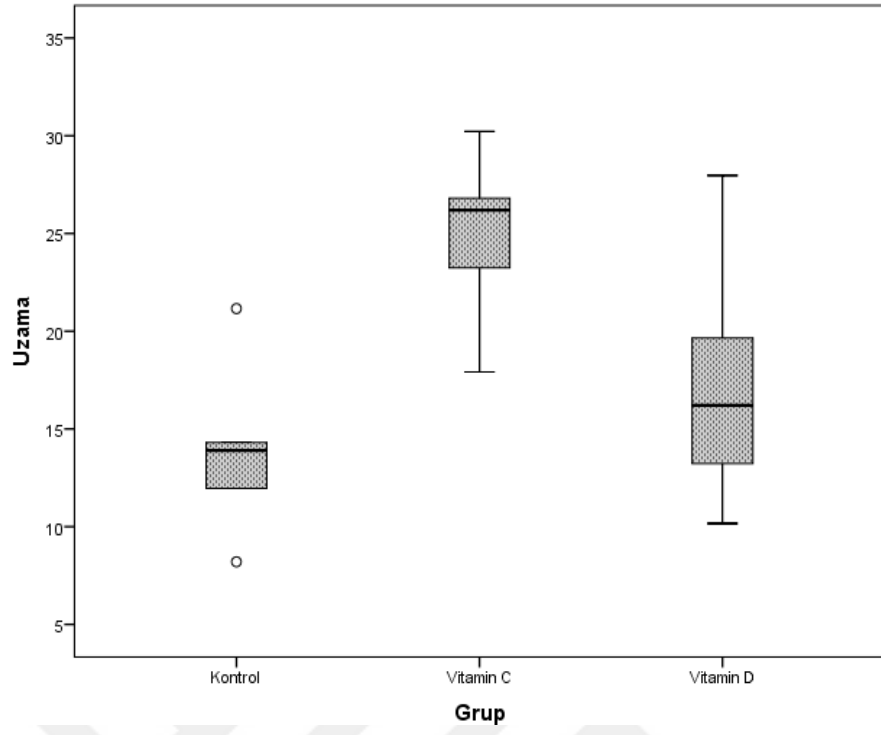
Çekme dayanımı (N/m^2) açısından gruplar arası değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p<0,05$) (Şekil 24). İkili gruplar arası karşılaştırmalarda; VitC-TZF grubunun çekme dayanımı; kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulundu ($p<0,05$). Kontrol ile VitD-TZF ve VitC-TZF ile VitD-TZF grupları arasında istatistiksel bir fark gözlenmedi ($p>0,05$) (Çizelge 3).



Şekil 24. Gruplar arası çekme dayanımının karşılaştırılması

b. Uzama Miktarı

Uzama miktarı (mm) açısından gruplar arası değerlendirmede istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edildi ($p < 0,05$) (Şekil 25). İkili gruplar arası karşılaştırmalarda; VitC-TZF grubunun uzama miktarı; kontrol ve VitD-TZF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı seviyede yüksek bulundu ($p < 0,05$). Ayrıca kontrol ve VitD-TZF grupları arasında istatistiksel bir fark gözlemlendi ($p < 0,05$) (Çizelge 3).



Şekil 25. Gruplar arası uzama miktarının karşılaştırılması.

Çizelge 3. Uzama miktarı ve çekme dayanımı değerleri

	Grup			<i>p</i>	İkili Karşılaştırmalar (<i>p</i>)		
	TZF(Kontrol)	VitC-TZF	VitD-TZF		TZF/VitC-TZF	TZF/VitD-TZF	VitD-TZF/VitC-TZF
Çekme	2,9±0,5	3,8±1,1	3,3±0,5	0,001	0,0115	0,1105	0,6199
	2,8 (2,5-3,7)	3,4 (2,6-5)	3,1 (2,7-3,8)				
Uzama	13,9±4,7	24,9±4,6	17,4±6,9	0,001	0,001	0,0252	0,001
	13,9 (8,2-21,2)	26,2 (17,9-30,2)	16,2 (10,2-28)				

Veriler ortalama ± standart sapma ve medyan(minimum-maksimum) olarak özetlendi.

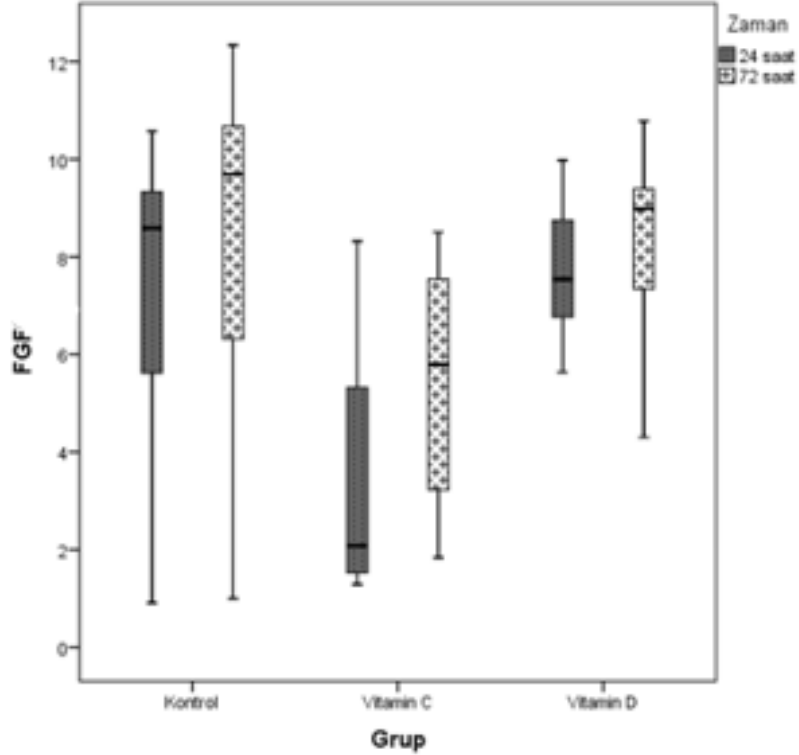
4.3. TZF Gruplarının Büyüme Faktör Düzeylerinin Belirlenmesi

a. FGF-2 düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde FGF değerleri (ng/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$), değerlerin zamansal değişiminde ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4).

Grup içi karşılaştırmalarda; TZF ve VitC-TZF gruplarında 72. saatte ölçülen FGF değeri, 24.saatte göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi ($p<0,05$). Buna karşılık VitD-TZF grubunda 24. ve 72. saatlerde FGF düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. Saatte FGF değerlerinin VitD-TZF grubunda en yüksek olduğu görüldü. 24. ve 72. saatteki VitD-TZF grubu değerleri VitC-TZF grubu değerlerine göre istatistiksel olarak fazla bulundu ($p<0,05$). 24. saatte ve 72. saatte TZF grubu FGF düzeyleri VitC-TZF grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek tespit edildi ($p<0,05$). Diğer gruplar arası karşılaştırmalarda zaman periyotlarındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 26).



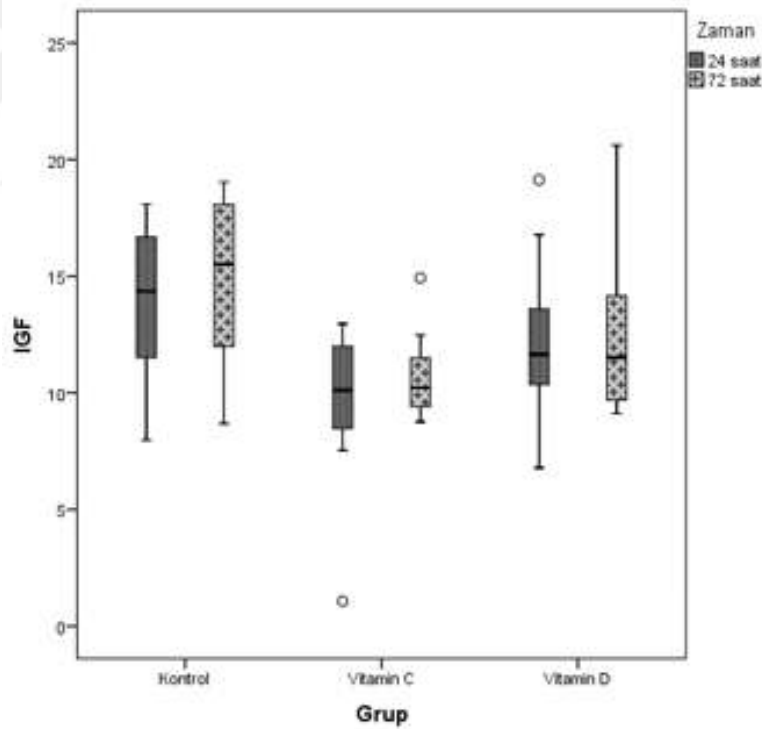
Şekil 26. Gruplar arası FGF-2 düzeyinin karşılaştırılması.

b. IGF-1 düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde IGF-1 değerleri (ng/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görüldü ($p < 0,001$), değerlerin zamansal değişiminde ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p > 0,05/p = 0.593$) (Çizelge 4).

Grup içi karşılaştırmalarda; TZF grubunda 72. saatte ölçülen IGF değeri, 24. saate göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi ($p < 0,001$). Buna karşılık, VitC-TZF ve VitD-TZF gruplarında 24. ve 72. saatler arasında IGF-1 düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Çizelge 4).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. saatte ve 72. saatte TZF grubu IGF düzeyleri VitC-TZF grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,001$). 24. saatteki VitD-TZF grubu değerleri VitC-TZF grubu değerlerine göre istatistiksel olarak fazla tespit edildi ($p < 0,05$) ancak diğer gruplar arası karşılaştırmalarda zaman periyotlarındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0,05$) (Şekil 27).



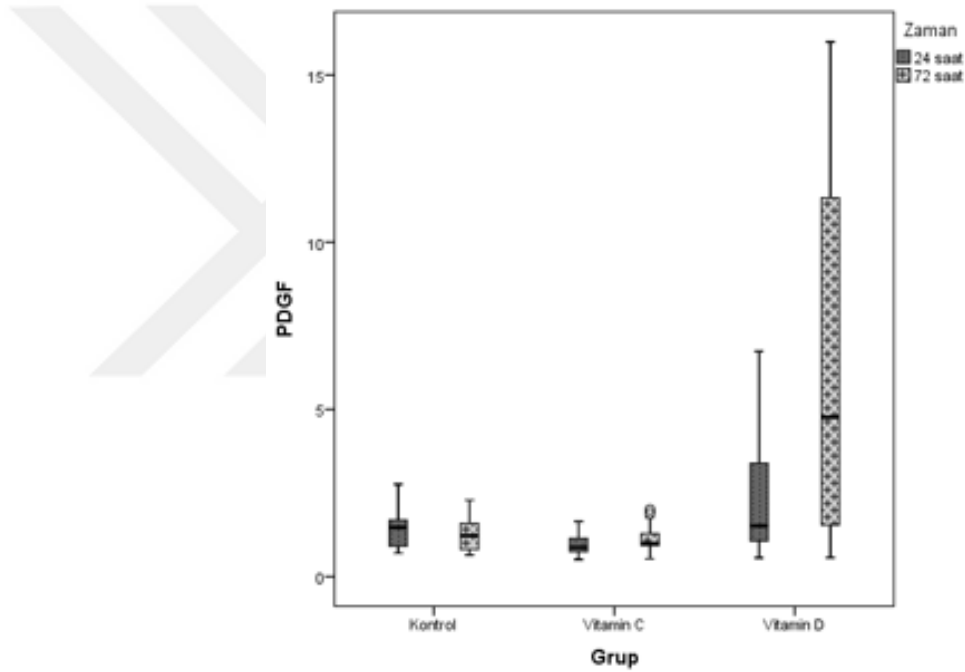
Şekil 27. Gruplar arası IGF-1 düzeyinin karşılaştırılması.

c. PDGF düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde PDGF değerleri (ng/ml) arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0,05$) (Çizelge 4).

Grup içi karşılaştırmalarda; TZF grubunda 72. saatte ölçülen PDGF değeri, 24.saatte göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi ($p<0,001$). VitD-TZF grubunda; 72. saatte ölçülen PDGF değerinde, 24.saatte göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,05$). VitC-TZF grubunda 24. ve 72. saatlerde PDGF düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. ve 72. saatte PDGF değerlerinin VitD-TZF grubunda en yüksek olduğu tespit edildi. Bu fark, VitC-TZF grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Diğer gruplarda zaman periyotlarındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 28).



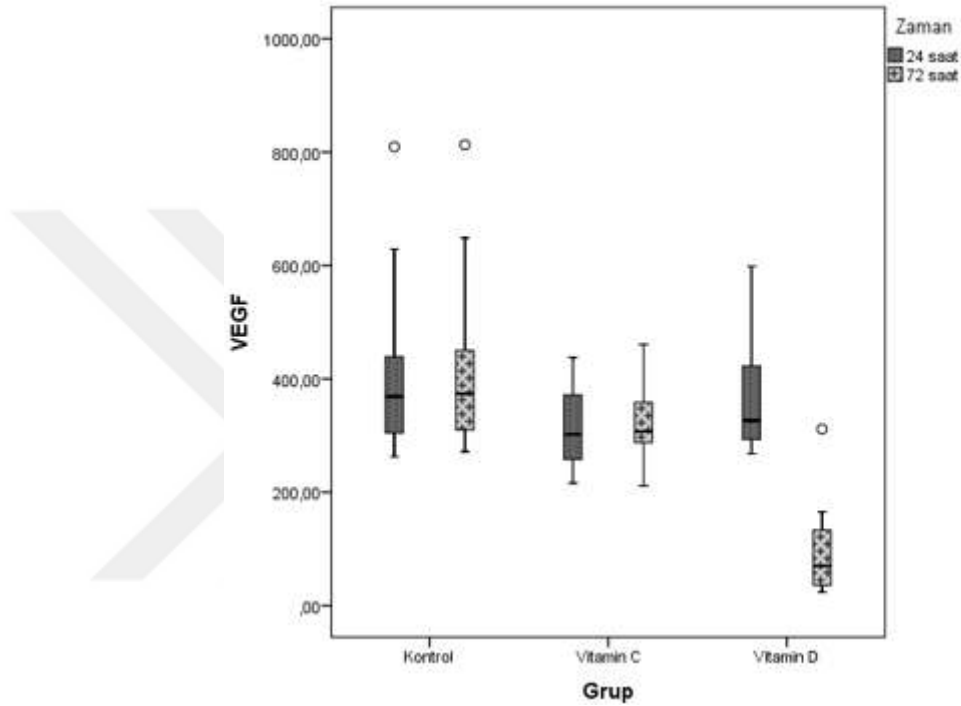
Şekil 28. Gruplar arası PDGF düzeyinin karşılaştırılması.

d. VEGF düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24., 72. saatlerde VEGF faktörü değerleri (pg/ml) arasında fark (24.saatte: $p<0,05$) ve değerlerin zamansal değişimi arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$) (Çizelge 4).

Grup içi karşılaştırmalarda; TZF grubunda 72.saatte, 24.saatte göre VEGF düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış, VitD-TZF grubunda ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi ($p<0,05$). VitC-TZF grubunda 24. ve 72. saatlerde VEGF düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 72. saatteki TZF grubu VEGF değerleri VitD-TZF grubu değerlerine göre istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). 72. saatteki VitC-TZF grubunun VEGF değerleri, VitD-TZF grubundaki değerlere göre istatistiksel olarak yüksek bulundu ($p<0,05$) diğer gruplar arası karşılaştırmalarda ise zaman periyotlarındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 29).



Şekil 29. Gruplar arası VEGF düzeyinin karşılaştırılması.

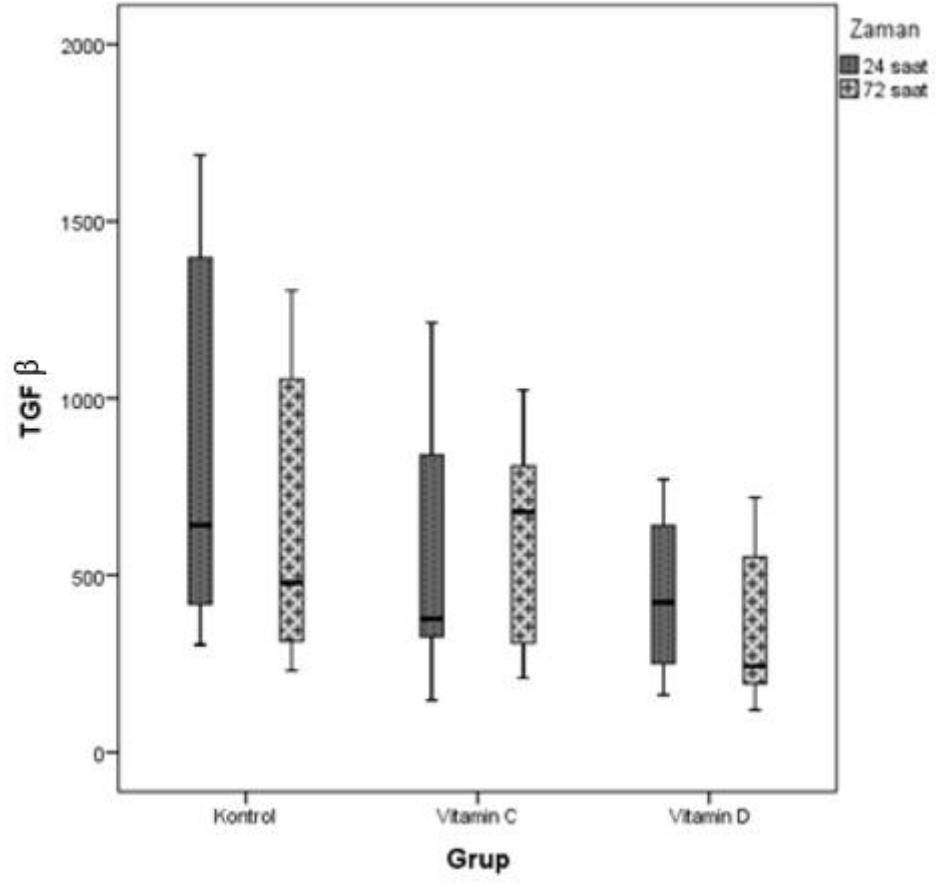
e.TGF- β 1 düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. saatteki büyüme faktörü (pg/ml) değerlerindeki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunurken ($p<0,05$), 72. saatteki büyüme faktörü değerleri ($p>0,05$) ve değerlerin zamansal değişimi arasındaki farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4).

Grup içi karşılaştırmalarda; TZF grubunda 72. saatte ölçülen TGF- β değeri, 24.saatte göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdi ($p<0,001$). VitC-TZF ve VitD-TZF gruplarında 24. ve 72. saatler arasında TGF- β düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 4).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; sadece 24. saatte TZF grubu TGF- β ölçümleri VitD-TZF grubu ölçümlerine göre istatistiksel anlamda fazla bulundu ($p<0,05$) diğer

gruplar arası karşılaştırmalarda ise zaman periyotlarındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 30).



Şekil 30. Gruplar arası TGF- β düzeyinin karşılaştırılması.

Çizelge 4. Büyüme faktör düzeylerinin değerlendirilmesi

	Zaman	Grup			p	İkili Karşılaştırmalar			Grup (Zaman) [†]
		TZF(Kontrol) (n=20)	VitC-TZF (n=20)	VitD-TZF (n=20)		TZF/VitC- TZF	TZF/VitD- TZF	VitD-TZF/VitC- TZF	p
FGF-2	24. Saat	7,4±3,1 8,6(0,9-10,6)	3,4±2,5 2,1(1,3-8,3)	7,7±1,3 7,5(5,6-10,0)	0,001	0,002	>0,999	0,005	0,067
	72. Saat	8,3±3,5 9,7(1,0-12,3)	5,3±2,2 5,8(1,8-8,5)	8,2±2,3 9,0(0,9-10,8)	<0,001	<0,001	>0,999	0,013	
	p	<0,001	0,017	0,225					
IGF-1	24. Saat	14,0±3,0 14,4(8,0-18,1)	9,8±2,7 10,1(1,1-13)	12,2±2,8 11,6(6,8-19,1)	<0,001	<0,001	0,246	0,022	0,593
	72. Saat	14,9±3,3 15,5(8,7-19)	10,5±1,6 10,2(8,8-14,9)	12,6±3,6 11,5(9,1-20,6)	<0,001	<0,001	0,053	0,173	
	p	<0,001 [†]	0,360	0,809					
PDGF	24. Saat	1,9±1,8 1,5(0,7-7,3)	1,0±0,3 0,9(0,5-1,6)	2,7±2,7 1,5(0,6-12)	0,003	0,053	>0,999	0,003	<0,001
	72. Saat	1,7±1,6 1,2(0,6-6,9)	1,1±0,4 1,0(0,5-2,0)	6,6±5,6 4,8(0,6-16,0)	0,003	>0,999	0,053	0,003	
	p	<0,001	0,191	0,002					
VEGF	24. Saat	403,0±134,5 368,8(262,7-809,4)	314,3±64,7 302,0 (215,9-437,8)	363,8±92,6 326,4(267,6-598,4)	0,043	0,053	>0,999	0,173	<0,001
	72. Saat	410,0±137,0 373,6(271,7-813)	317,6±63,9 307,1(211,3-460,8)	148,5±205,0 70,1(23,4-735)	<0,001	>0,999	<0,001	0,003	
	p	0,002	0,861	0,002					
TGF- β1	24. Saat	879,5±494,7 641,8(303,9-1686,4)	549,5±329,8 376,7(147,1-1213,3)	443,1±223,0 423,2(162,3-770,7)	0,002	0,246	0,002	0,246	0,161
	72. Saat	660,6±371,1 479,5(230,2-1303,8)	601,4±264,6 678,1(209,5-1023,2)	363,8±200,9 243,1(118,9-719,4)	0,116	>0,050	>0,050	>0,050	
	p	<0,001	0,627	0,502					

Veriler ortalama±standart sapma ve medyan(minimum-maksimum) olarak özetlendi.

[†]Nested ANOVA

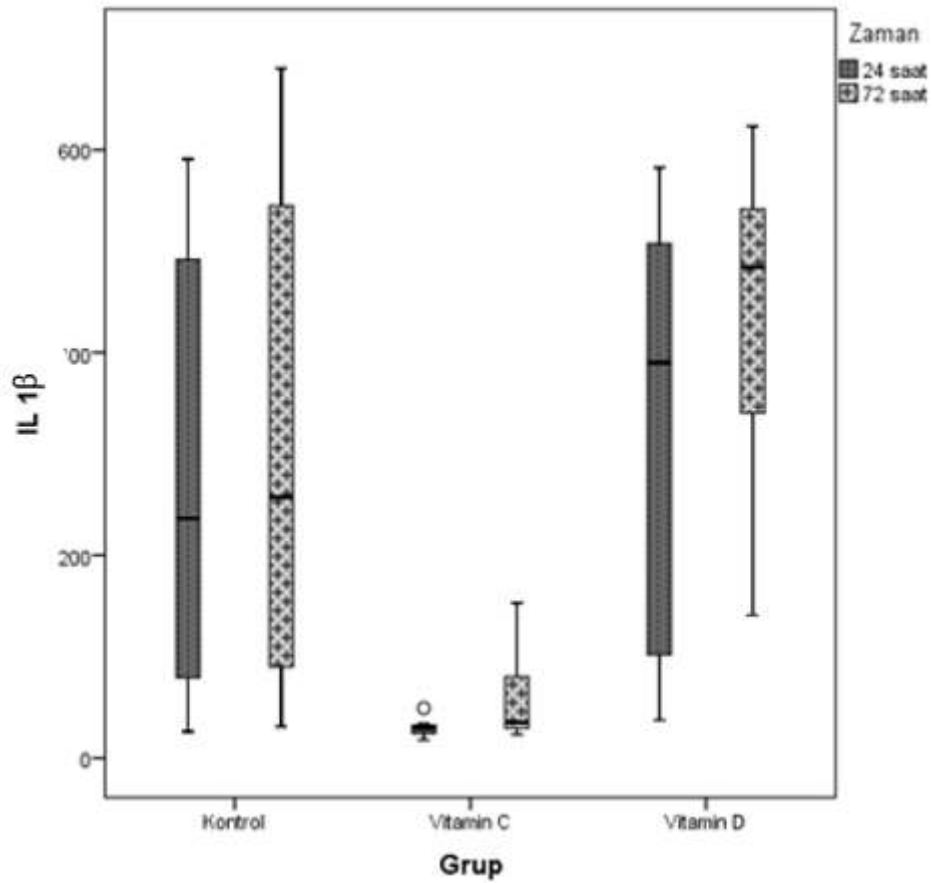
4.4. TZF Gruplarının İnflamatuvar Sitokin Düzeylerinin Belirlenmesi

a. IL-1 β düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24., 72. saatlerde IL-1 β (pg/ml) değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$), değerlerin zamansal değişimi arasındaki fark ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 5).

Grup içi karşılaştırmalarda; bütün gruplarda 72. saatte IL-1 β düzeyleri istatistiksel olarak daha fazla bulundu ($p<0,05$) (Çizelge 5).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. saatte ve 72. saatte IL-1 β değerleri, Vit C-TZF grubunda diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi ($p<0,001$). Diğer gruplar arası karşılaştırmalarda zaman periyotlarındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 31).



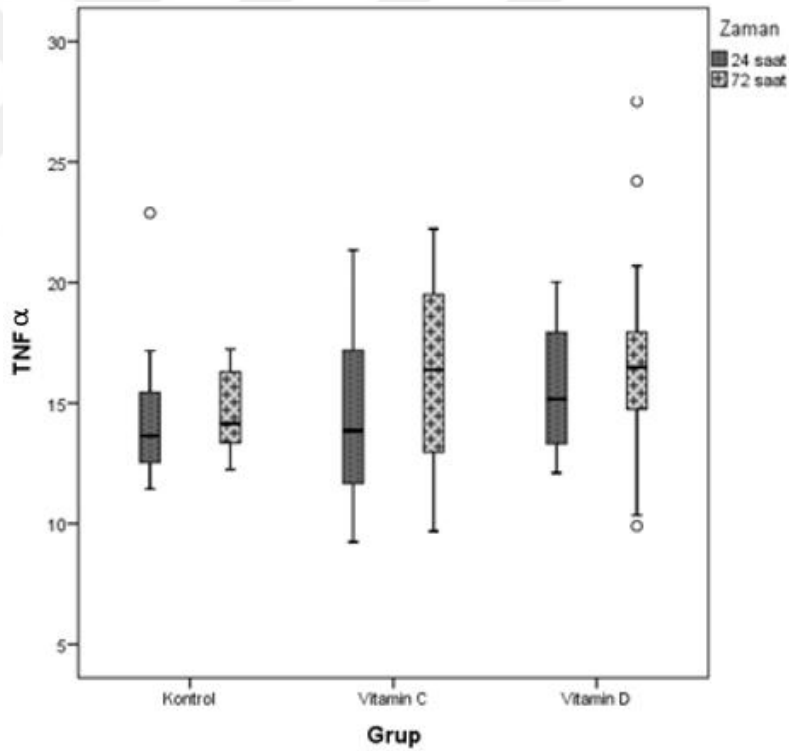
Şekil 31. Gruplar arası IL-1 β düzeyinin karşılaştırılması.

b. TNF- α düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24., 72. saatlerde saatlerde TNF- α düzeyleri (pg/ml) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$). Değerlerin zamansal değişimi de istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p>0,05/p=0.166$) (Çizelge 5).

Grup içi karşılaştırmalarda; TZF grubunda 72. saatte TNF- α düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulundu ($p<0,001$), buna karşılık VitC-TZF ve VitD-TZF gruplarında 24. ve 72. saatler arasında TNF- α düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$) (Çizelge 5).

Gruplar arası karşılaştırmalarda TNF- α değerleri için zaman periyotlarındaki değerler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Şekil 32).



Şekil 32. Gruplar arası TNF- α düzeyinin karşılaştırılması

Çizelge 5. İnflamatuvar sitokin düzeylerinin değerlendirilmesi

	Zaman	Grup			p	İkili Karşılaştırmalar			Grup (Zaman) [†]
		TZF(Kontrol) (n=20)	VitC-TZF (n=20)	VitD-TZF (n=20)		TZF/VitC- TZF	TZF/VitD- TZF	VitD-TZF/VitC- TZF	p
TNF- α	24. Saat	14,3 $\pm$ 2,6 13,6(11,4-22,9)	14,4 $\pm$ 3,4 13,9(9,2-21,3)	15,5 $\pm$ 2,6 15,2(12,1-20)	0,428	>0,050	>0,050	>0,050	0,166
	72. Saat	15,1 $\pm$ 3,1 14,2(12,2-26,2)	16,1 $\pm$ 3,7 16,4(9,7-22,2)	17,1 $\pm$ 4,8 16,5(9,9-27,7)	0,486	>0,050	>0,050	>0,050	
	p	<0,001	0,228	0,232					
	24. Saat	278,5 $\pm$ 206,3 236,4(26-591)	28,7 $\pm$ 6,8 29,4(17,8-49,1)	314 $\pm$ 210,8 389,9(37,4-582,4)	<0,001	<0,001	>0,999	<0,001	0,114
IL-1β	72. Saat	311,8 $\pm$ 235,6 257,3(30,9-680,6)	60,4 $\pm$ 57,1 35,1(23,1-252,3)	435,9 $\pm$ 146,2 484,5(141-623,5)	<0,001	<0,001	0,342	<0,001	
	p	<0,001	0,008	0,008					

Veriler ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan(minimum-maksimum) olarak özetlendi.

[†]Nested ANOVA

4.5 Korelasyonların Değerlendirilmesi

FGF-2 ve IL-1 β değerleri ile serum C vitamini düzeyi arasında pozitif bir korelasyon tespit edildi. Ayrıca PDGF değerleri ile serum D vitamini düzeyleri arasında anlamlı pozitif bir korelasyon bulundu. (Çizelge 6).

Çizelge 6. Biyomolekül düzeyleri ile C vitamini, D vitamini ve trombosit düzeyleri arasındaki korelasyon katsayıları

Değişken	Zaman	C vitamin düzeyi	D vitamin düzeyi	Trombosit
FGF-2	24. Saat	0,463 [†]	0,092	0,268
	72. Saat	0,474 [†]	0,114	0,248
IGF-1	24. Saat	-0,042	0,250	0,230
	72. Saat	-0,128	0,204	0,119
PDGF	24. Saat	0,368	0,540 [†]	0,008
	72. Saat	0,325	0,557 [†]	-0,027
VEGF	24. Saat	0,069	0,222	0,069
	72. Saat	0,030	0,225	0,065
TGF- β 1	24. Saat	-0,233	-0,056	0,187
	72. Saat	-0,259	-0,069	0,145
TNF- α	24. Saat	-0,187	-0,235	0,382
	72. Saat	-0,272	-0,217	0,351
IL-1 β	24. Saat	0,444 [†]	0,359	0,267
	72. Saat	0,452 [†]	0,326	0,223

Veriler korelasyon katsayılarını ifade etmektedir.

[†]p<0.05

5.TARTIŞMA

Günümüzde dental ve periodontal cerrahi işlemlerde sıklıkla kullanılan TZF yapısının mekanik, rejeneratif ve inflamatuvar özelliklerinin vitaminlerle geliştirilmesi amacıyla gerçekleştirilen çalışmamızda; TZF'ne santrifüj öncesi lokal olarak eklenen C ve D vitamininin TZF'nin mekanik özelliklerini iyileştirdiği ve büyüme faktörü/inflamatuvar sitokin düzeylerini olumlu etkilediği tespit edildi.

Trombosit zengin fibrin (TZF), yalnızca dental ve periodontal cerrahi işlemlerde yara iyileşmesini olumlu yönde desteklemekle kalmayıp, aynı zamanda doku mühendisliği ve ilaç taşıyıcı sistem olarak da başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. TZF'nin rejeneratif etkisi, farklı biyomateryaller ve farmakolojik ajanlarla birleştirildiğinde belirgin şekilde artırılmakta, hücresel proliferasyonu teşvik eden özellikleri ve büyüme faktörlerinin salınımını optimize etmesiyle doku mühendisliğinde geniş bir uygulama alanı sunmaktadır.^{5,32,114,177}

Çeşitli biyomateryal ve farmakolojik ajanların TZF ile kombinasyonu üzerine yapılan çalışmalar, bu kombinasyonların klinik uygulamalarda umut vaat ettiğini göstermektedir.⁵ Hyaluronik asit (HA) ile TZF'nin kombinasyonu üzerine yapılan çalışmalar, bu kombinasyonun rejeneratif etkinlik üzerindeki olumlu etkilerini açıkça ortaya koymaktadır. Qiu ve arkadaşlarının araştırmalarında, HA-TZF kombinasyonunun inflamasyonu azalttığı, hücre proliferasyonunu artırdığı ve anjiyogenezi teşvik ettiği gösterilmiştir. Özellikle yumuşak doku rejenerasyonu için bu kombinasyonun önemli bir potansiyele sahip olduğu belirtilmiştir.¹⁰⁹

TZF'ne Bifosfonat eklenerek yapılan çalışmalarda, TZF'nin kemik rejenerasyonundaki etkisini önemli ölçüde artırmaktadır. Kanoriya ve arkadaşlarının alendronat ile TZF kombinasyonu üzerine yaptığı araştırmalar, periodontal kemik defektlerinin iyileşmesini hızlandırdığını ve bu kombinasyonun rejeneratif tıp için önemli bir araç olabileceğini göstermiştir.¹¹⁸ Martande ve arkadaşlarının atorvastatin-TZF kombinasyonu üzerine yaptıkları çalışmada, bu kombinasyonun kemik hücre proliferasyonunu artırdığı ve inflamasyonu azalttığı rapor edilmiştir. Bu sonuçlar, TZF'nin rejeneratif süreçlerde çok yönlü bir araç olarak kullanılabileceğini ortaya koymaktadır.¹¹⁹

Zhao ve arkadaşlarının çalışmasında, TZF'nin periodontal ligament kök hücrelerinin proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir.¹⁷⁸ Bu bulgular, TZF'nin yalnızca taşıyıcı bir yapı olarak değil, aynı zamanda aktif bir rejeneratif ajan olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde, Yang ve arkadaşları, TZF'nin otojenik hücre transplantasyonlarında kullanımını incelemiş ve bu biyomateryalin, rejeneratif süreçlerdeki önemini vurgulamıştır.¹⁷⁹

Mu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, TZF'nin jelatin nanopartiküllerle kombinasyonu değerlendirilmiş ve hidrojel formunda uygulanmasının büyüme faktörlerinin salınımını artırdığı tespit edilmiştir. Ayrıca, bu kombinasyonun mekanik dayanıklılığı iyileştirdiği ve rejenerasyon süreçlerinde daha uzun süreli etkinlik sağladığı rapor edilmiştir. Bu tür kombinasyonlar, TZF'nin biyolojik ve mekanik özelliklerinin daha da optimize edilebileceğini göstermektedir.¹⁸⁰

TZF'nin magnezyum (Mg) ile kombinasyonu, kemik rejenerasyonu ve biyolojik doku mühendisliği açısından umut vadeden sonuçlar sunmaktadır. Gassling ve Wong'un çalışmaları, Mg-TZF kombinasyonunun osteojenik farklılaşmayı teşvik ettiğini ve kemik iyileşmesini desteklediğini göstermiştir. Ayrıca, magnezyumun TZF'nin yüzey özelliklerini iyileştirdiği ve mineralizasyon sürecini hızlandığı belirtilmiştir. Bu tür kombinasyonların kemik defektlerinin onarımında etkili bir biyomateryal olduğu düşünülmektedir.^{125,126}

TZF'nin antibakteriyel özelliklerini artırmak amacıyla antibiyotik eklenmesi ile elde edilen başarılı sonuçlar, bu biyomateryalin ilaç taşıyıcı sistem olarak etkinliğini ortaya koymaktadır. Polak ve arkadaşları, L-TZF'ye eklenen metronidazol, klindamisin ve penisilin solüsyonlarının *Fusobacterium nucleatum* ve *Staphylococcus aureus* üzerindeki etkilerini değerlendirmiş ve en güçlü etkinin 96 saate kadar penisilinle sağlandığını rapor etmiştir.² Rafiee ve arkadaşları, metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin ile kombinasyonun 14 gün boyunca eşzamanlı salınım sağladığını ve antimikrobiyal etkinliği artırdığını bildirmiştir.¹⁰⁶

Ozcan ve arkadaşları, lokal antibiyotik eklenmiş TZF'nin sistemik antibiyotik uygulaması sonrası elde edilen TZF'ye göre daha güçlü antimikrobiyal etkinlik sağladığını ve büyüme faktörleri üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığını göstermiştir.⁴ Siawash ve arkadaşları, metronidazol eklenen TZF'nin salınımının ilk 4 saatte zirveye ulaştığını ve 3 güne kadar etkili olduğunu edilmiştir.¹⁸¹ Alhaffar ve arkadaşları ise

linkomisinin ampul ve solüsyon formlarının TZF ile kombinasyonunda yüksek antibakteriyel etki sağladığını ortaya koymuştur.^{104,105} Bu bulgular, TZF'nin antibiyotikler için etkin bir taşıyıcı sistem olarak kullanılabileceğini ve bu özelliğiyle hem antibakteriyel hem de rejeneratif biyomateryal geliştirilmesine olanak sunduğunu göstermektedir.

Ayrıca, vitaminler ile TZF'nin kombinasyonu üzerine yapılan araştırmalarda rejenerasyon üzerinde olumlu etkileri tespit edilmiştir. Elbehwashy ve ark. tarafından yapılan klinik bir çalışmada, askorbik asit eklenmiş TZF'nin periodontal defektli hastalara uygulanması sonucunda, periodontal ligament ve alveolar kemik biyosentezini artırdığı gözlemlenmiştir. Askorbik asit, hücresel proliferasyonu artırarak periodontal dokuların iyileşmesine katkı sağlamıştır. Çalışma TZF'nin vitamin olan askorbik asit molekülünü kendi yapısında etkili bir şekilde barındırması ve Askorbik asidin periodontal dokular üzerindeki rejeneratif etkilerini yansıtmaları açısından TZF'nin taşıyıcı olarak kullanılabileceğini önermiştir.⁷

Literatürde vitaminlerin TZF'nin mekanik özellikleri, büyüme faktörleri ve inflamatuvar sitokin seviyeleri üzerine etkilerini araştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Ancak standart TZF'nin mekanik özelliklerini değerlendiren çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Çalışmamızda elde edilen mekanik test sonuçları; çekme dayanımı (N/mm²) ve uzama miktarı (mm) açısından değerlendirildiğinde, VitC-TZF grubunun kontrol ve VitD-TZF gruplarına kıyasla daha üstün olduğunu gösterdi. Bulgularımıza göre VitC-TZF grubunda çekme dayanımı $3,8 \pm 1,1$ N/mm², uzama miktarı ise $24,9 \pm 4,6$ mm olarak ölçüldü ve kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış tespit edildi ($p = 0,0115$). Bu sonuçlar, literatürde Srirangarajan ve arkadaşlarının TZF'nin mekanik özellikleri üzerine yaptığı çalışmalarla uyumludur. Srirangarajan ve arkadaşları, sigara içmeyen bireylerde L-TZF'nin çekme dayanıklılığını 2,9 MPa olarak rapor ederken, A-TZF grubunda bu değeri 3,3 MPa olarak bildirmiştir.¹⁸²

Ravi ve arkadaşlarının TZF'nin mekanik özelliklerini değerlendirdiği çalışmada, T-TZF'nin çekme dayanıklılığı ve elastikiyet modülü açısından diğer türlere kıyasla üstün performans sergilediği bildirilmiştir.¹⁸³ Benzer şekilde, Isobe ve arkadaşları A-TZF ve CGF'nin PPTF'ye göre mekanik olarak daha dayanıklı olduğunu rapor etmiştir.¹⁸⁴ Çalışmalar, farklı santrifüj protokollerinin TZF'nin mekanik dayanıklılığını etkilediğini ortaya koyarken, Pascoal ve arkadaşları A-TZF'nin L-TZF'ye kıyasla daha yüksek çekme

dayanıklılığı sergilediğini göstermiştir.¹⁸⁵ Ayrıca, Khorshidi ve arkadaşları gümüş nanopartiküller eklenmiş L-TZF'nin mekanik özelliklerinin artırılarak biyomateryal olarak etkinliğinin iyileştirildiğini belirtmiştir.¹⁸⁶ Bu bulgular, TZF'nin mekanik özelliklerinin biyomateryal seçiminde önemli bir kriter olduğunu ve modifikasyonlarla bu özelliklerin geliştirilebileceğini vurgulamaktadır.

Mevcut çalışma sonuçlarına göre; VitC-TZF grubunun kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede daha yüksek çekme dayanımı ve uzama kapasitesi sergilediği gösterilmiştir. Çekme dayanımı açısından VitC-TZF ve VitD-TZF grupları arasında anlamlı fark bulunmasa da uzama kapasitesi yönünden VitC-TZF grubu diğer tüm gruplara üstünlük sağlamıştır. Bu sonuçlar, C vitamininin fibrin yapısını stabilize ederek TZF'nin mekanik dayanıklılığını ve elastikiyetini artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir. Literatürdeki diğer bulgularla uyumlu olarak, çalışmamız TZF'nin mekanik özelliklerinin klinik kullanım için optimize edilebileceğini ve rezorbsiyon sürecini uzatabileceğini göstermektedir.

Literatürde TZF'nin mekanik özelliklerini SEM analiz yöntemiyle değerlendiren çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.^{183,187} Karbodimid eklenerek TZF'nin mikro yapısının SEM analizleriyle incelendiği bir araştırmada, çalışmamızdaki bulgulara benzer şekilde kontrol grubuna göre gözlemlenebilir bir mikro yapı değişikliği meydana gelmiştir.¹⁸⁷ Ravi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada farklı TZF türlerinin fibrin ağı yapısı, hücresel dağılımı ve biyomalzeme özellikleri değerlendirmiştir. A-TZF, düzenli ve gözenekli yapısıyla hücresel entegrasyonu desteklerken, T-TZF mekanik dayanıklılığı ve homojen dağılımıyla öne çıkmıştır. L-TZF ise daha sıkışık fibrin ağı nedeniyle biyolojik etkinliği sınırlı bulunmuştur.¹⁸³ Bu çalışmalar farklı protokoller ile üretilen TZF türlerinin mikro yapısında değişiklikler olabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda SEM sonuçları değerlendirildiğinde; kontrol grubu yüzeyinin poröz bir yapıya sahip olduğu ve gözeneklerin düzenli bir şekilde dağıldığı, VitC-TZF yüzeyinin daha kompakt ve yoğun bir yapıda olduğu gözlemlendi. VitD-TZF yüzeylerinde ise düzensiz ve yoğun bir gözenek dağılımı ve kristalizasyon tespit edildi. Bu bulgular, C ve D vitamininin TZF yüzeylerinde belirgin mikro yapısal değişikliklere yol açtığını ve bu değişikliklerin yüzey biyouyumluluğunu ve mekanik özellikleri etkileyebileceğini göstermektedir. Bu yüzey değişikliklerinin TZF'nin klinik kullanımındaki etkilerinin değerlendirileceği ileri klinik çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Mekanik özelliklerin geliştirilmesiyle VitC-TZF'nin doku dayanıklılığını artırması, yalnızca yumuşak dokuların iyileşmesinde değil, aynı zamanda TZF rezorpsiyon süresinin uzamasına bağlı olarak çekim soketlerinde kemik kalınlığının ve yumuşak doku bütünlüğünün korunması, periodontal hastalıklardaki kemik defektleri, kemik augmentasyonu, sinüs lifting, dental implant stabilitesinin artırılması gibi uygulamalarda da etkili bir biyomateryal olarak kullanılabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, TZF ile kullanılmak üzere C ve D vitaminleri, farklı biyolojik özellikleri nedeniyle tercih edildi. C vitamini, güçlü antioksidan etkisi sayesinde serbest radikalleri azaltarak doku koruyucu bir rol oynamaktadır. Ayrıca, kolajen yapıyı stabilize ederek fibrin matrisinin dayanıklılığını ve işlevselliğini arttırmaktadır. D vitamini ise bağışıklık sistemini düzenleme ve inflamasyonu azaltma açısından önemli etkiler göstermektedir. C Vitamini, doğal olarak portakal, limon, çilek, biber gibi taze meyve ve sebzelerden alınabilmekte, eksiklik durumunda ise tablet, kapsül, şurup veya efervesan takviyelerle kullanılmaktadır. Ayrıca, C vitamini içeren serum ve kremler cilt yenilenmesini teşvik etmekte ve yaşlanma belirtilerini azaltmaktadır. Yüksek doz gerektiğinde intravenöz yolla uygulanabilmektedir.⁸ D Vitamini, güneş ışığına maruz kaldığında ciltte sentezlenebilmekte, balık, yumurta sarısı ve süt ürünleri gibi besinlerden alınabilmekte veya zenginleştirilmiş gıdalarla desteklenebilmektedir. Eksiklik durumunda, kapsül, tablet, damla veya sprey formunda takviyelerle alınabilmekte, şiddetli eksiklikte ise intramüsküler enjeksiyonla uygulanabilmektedir. Ayrıca, cilt hastalıklarının tedavisinde topikal ürünlerle kullanılabilmektedir.⁸

Literatürde de bu vitaminlerin büyüme faktörlerinin salınımı ve biyolojik aktivitelerini modüle edici etkileri sıklıkla vurgulanmaktadır ancak vitaminlerin TZF içerisindeki büyüme faktörleri ve inflamatuvar sitokin seviyeleri üzerine etkilerini inceleyen doğrudan bir çalışma bulunmamakla birlikte, standart TZF'nin içerisindeki bu biyobelirteçleri değerlendiren çeşitli araştırmalar mevcuttur.^{71,188}

C ve D vitaminleri eklenerek hazırlanan TZF'nin büyüme faktörleri (PDGF, VEGF, FGF-2, IGF-1, TGF- β 1) ve inflamatuvar sitokinleri (IL-1 β , TNF- α) incelendiği mevcut çalışmada her iki vitaminin rejeneratif süreçler açısından biyolojik aktiviteleri değerlendirildi. Dohan ve arkadaşlarının TZF üzerine yaptığı çalışmalarda TGF- β 1, IGF-1 ve PDGF gibi büyüme faktörlerinin TZF yapısında yüksek konsantrasyonda bulunduğu belirtilmiş ve bu faktörlerin doku rejenerasyonuna katkısı vurgulanmıştır.⁷¹ Wang ve

arkadaşlarının çalışmasında, TZF'nin VEGF, PDGF ve TGF- β 1 gibi büyüme faktörlerinin plazmaya kıyasla yüksek salınım gösterdiği bildirilmiştir.¹⁸⁸ VitC-TZF grubunda büyüme faktörleri düzeylerinin, kontrol ve VitD-TZF grubuna göre genellikle daha düşük olduğu tespit edildi. Dohan ve arkadaşlarının, TZF'deki büyüme faktörlerinin fibrin matrisine bağlanarak kontrollü salınımını sağlayabileceğini bildiren çalışmalarıyla uyumlu olarak, C vitamini grubunda 24. ve 72. Saat arasındaki FGF-2 seviyelerindeki artış, kolajen sentezini ve anjiyogenezi destekleyici bir ortam oluşturduğu düşünülebilir.

⁷¹ Buna ek olarak, Tomouk ve arkadaşlarının C vitamini eklenerek elde edilen TZP'nin enjeksiyon için uygun kıvamda kalabildiğini bildiren çalışmaları, C vitamininin fibrin yapısını stabilize ederek klinik kullanım potansiyelini artırabileceğini göstermektedir.¹⁸⁹ Aghajanian ve arkadaşlarının, C vitamininin osteoblast farklılaşmasını artırdığına dair bulguları, çalışmamızdaki FGF-2 artışı ile uyumludur.¹⁹⁰

FGF-2 ve PDGF düzeyleri VitD-TZF grubunda yüksek gözlenirken diğer büyüme faktörleri kontrol grubunda daha fazla tespit edildi. Pedigo ve arkadaşlarının D vitamini ve PDGF ilişkisi üzerine yaptığı çalışmada D vitaminin, PDGF-A gen transkripsiyonunu artırarak özellikle kemik ve akciğer dokusunda mitojenik etkiler gösterdiği bulunmuştur. Bu çalışmanın bulguları, çalışmamızdaki D vitamini içeren grubun PDGF düzeylerinde gözlenen anlamlı artış bulgularıyla örtüşmektedir.¹⁹¹ PDGF'nin hücrel büyüme ve doku onarımına yönelik etkilerinin, D vitamininin düzenleyici mekanizmalarıyla olumlu etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Ancak D vitamini grubunda VEGF düzeylerinde 72. saatte gözlenen düşüş, D vitamini ile VEGF salınımı arasında düzenleyici bir etkileşim olduğunu düşündürmektedir. Irani ve arkadaşlarının D vitamini eksikliği olan bireylerde VEGF seviyelerindeki artışı düzenlediğini bildiren bulguları bu gözlemi desteklemektedir.¹⁹²

C vitamini grubunda IL-1 β seviyelerinde anlamlı bir düşüş gözlenmesi, Yussif ve arkadaşlarının C vitamininin inflamatuvar yanıtı baskıladığı ve kolajen liflerini stabilize ederek doku iyileşmesini desteklediği bulgularıyla uyumludur.¹⁹³ Ayrıca, IL-1 β düzeylerindeki bu düşüş, C vitamininin TZF'ye anti-inflamatuvar etkiler kazandırarak inflamasyon sürecini düzenleyebileceğini göstermektedir. Bu etkiler, Chen ve arkadaşlarının C vitamininin ROS ve TNF- α seviyelerini düşürerek inflamasyonu kontrol altına aldığını bildiren çalışmalarıyla örtüşmektedir.¹⁹⁴ Bu etkiler, C vitamininin güçlü antioksidan özellikleri ve kolajen sentezine olan katkısıyla ilişkili olabilir.

D vitamini grubunda IL-1 β ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin düzeylerinde anlamlı bir azalma gözlenmedi. Bu sonuç, Ojaimi ve arkadaşlarının D vitamininin anti-inflamatuvar etkilerini bildiren çalışmalarıyla kısmen farklılık göstermekte ve bu etkinin klinik koşullara bağlı olarak değişebileceğini düşündürmektedir.¹⁹⁵ D vitamini özellikle VEGF ve IGF-1 salınımındaki düzenleyici etkisiyle öne çıkmaktadır. Ancak, çalışmamızda VEGF seviyelerinde D vitaminine bağlı bir düşüş gözlenmesi, vitaminin angiogenetik süreçleri düzenlemesini engelleyen bir mekanizmayı işaret edebilir. VEGF, inflamasyon sırasında artan pro-inflamatuvar sitokinler (ör. IL-6 ve TNF- α) tarafından uyarılabildiği için D vitaminin, bu sitokinlerin üretimini baskılayarak VEGF'nin aşırı ekspresyonunu engelleyici etkiler gösterebileceği düşünülmüştür.¹⁹²

Giovanni ve ark. yaptığı bir çalışmada, 1,25-dihydroxyvitamin D3'ün (aktif D vitamini) immünomodülatör etkilerini incelemiştir. Araştırma, D vitamininin doza bağımlı bir şekilde TNF- α , IL-1 β , IL-6 ve IL-10 gibi sitokinlerin üretimini inhibe ettiğini ortaya koymuştur. Bu inhibisyon, intraselüler kalsiyum düzeylerindeki azalmayla ilişkilendirilmiş ve pro-inflamatuvar yanıtlardaki belirgin düşüşle doğrulanmıştır. Bulgular, 1,25-dihydroxyvitamin D3'ün bağışıklık sisteminde inflamasyonu baskılama potansiyeline sahip olduğunu, D vitamini eksikliğinin ise inflamatuvar yanıtları artırarak enfeksiyon riskini yükseltebileceğini göstermektedir. Bu sonuçlar, D vitamininin inflamasyonun kontrolünde ve bağışıklık yanıtlarının düzenlenmesinde terapötik bir ajan olarak değerlendirilebileceğini işaret etmektedir.¹⁹⁶

Bununla birlikte, inflamatuvar sitokinler açısından, Dohan ve Wang'ın TZF'nin hem pro-inflamatuvar (IL-1 β , TNF- α) hem de anti-inflamatuvar (IL-4) sitokinleri artırdığı yönündeki bulgularına paralel olarak mevcut çalışmamızda da IL-1 β düzeylerinde hem C vitamini hem de D vitamini eklenmiş gruplarda inflamasyonu düzenleme potansiyeli olan farklılıklar gözlemlendi. Çalışmamızda; VitC-TZF grubunda IL-1 β seviyesinin, TZF ve VitD-TZF gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi. Bu durum, inflamasyonun baskılanması ve iyileşme süreçlerinin desteklenmesi açısından C vitaminin anti-inflamatuvar özelliklerinden kaynaklanabilir. Anti-inflamatuvar etkiler göz önüne alındığında, VitC-TZF'nin yara iyileşmesinde şiddetli inflamatuvar yanıtın baskılanması sağlayarak periodontal hastalıklarda, periodontal plastik cerrahi uygulamalarında ve diğer cerrahi alanlardaki doku rejenerasyonuna ve iyileşme hızına olumlu yönde etki edeceği düşünülmektedir.

TZF'ye eklenecek materyallerin miktarının doğru bir şekilde belirlenmesi, biyolojik ve mekanik özelliklerin korunmasıyla birlikte, antibakteriyel ve rejeneratif etkilerin optimize edilmesi açısından hayati bir öneme sahiptir. TZF ile kullanılan ajanların, kan örneklerine eklenecek ideal miktar ve konsantrasyonunun belirlenmesi amacıyla ön çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Ozcan ve ark.'nın çalışmasında TZF'nin yapısını bozmayacak en düşük etkili antibiyotik dozunun belirlenmesi için pilot bir çalışma yapılmış ve 10 ml'lik kan için 0,2 ml penisilin ile ideal TZF oluşumu sağlanmıştır.⁴ Başka bir çalışmada da metronidazol çözeltisi 0.125 mL, 0.25 mL ve 0.50 mL dozlarında kan tüplerine santrifüj öncesinde steril enjektörle eklenmiştir. Bu doz aralıklarının, önceki araştırmalarda daha yüksek miktarların TZF'nin fiziksel özelliklerini olumsuz etkilediği bulgularına dayanılarak seçildiği belirtilmiştir.¹⁸¹ Bizim çalışmamızda da C ve D vitamin TZF'nin mekanik ve rejeneratif özelliklerini olumsuz etkilemeyecek dozlarının belirlenmesi için çalışma öncesinde, 5 gönüllüden alınan kan örneklerine santrifüj öncesi D ve C vitamini için 0.25 mL, 0.5 mL ve 1 mL solüsyonlar eklenmiş ve 2700 rpm'de 12 dakika santrifüj edildi. Değerlendirmede, 0.5 mL ve 1 mL D vitamini eklenen gruplarda TZF'nin jelleşmediği, 0.25 mL D vitamini ve tüm C vitamini dozlarında fiziksel değişiklik gözlenmediği tespit edildi. Bu nedenle çalışmamızda D vitamini için 0.25 mL, C vitamini için 1 mL doz seçildi.

Son yıllarda TZF protokollerinde önemli optimizasyonlar gerçekleştirilmiştir. Miron ve arkadaşlarının çalışmaları, santrifüjleme sırasında bağıl merkezkaç kuvvetinin (RCF veya g-kuvveti), dakika başına dönüş sayısından (RPM) daha etkili olduğunu vurgulamaktadır. Santrifüj cihazlarının rotor çapı ve açısındaki farklılıklar nedeniyle aynı RPM ve süre kullanılsa bile kan hücrelerine uygulanan RCF değişiklik göstermektedir. Bu durum, trombositler ve büyüme faktörlerinin dağılımında eşitsizliklere yol açabilmektedir. Kobayashi ve ekibi, TZF optimizasyonunun yalnızca santrifüjleme hızını değil aynı zamanda zamanı da azaltarak sağlanabileceğini göstermiştir. Daha düşük RCF ve daha kısa sürelerde santrifüjleme ile sıvı fibrinojen elde etmek mümkün olmuş, bu form daha sonra sıvı TZF olarak adlandırılmıştır. Yatay santrifüjleme, katmanları yoğunluğa göre daha eşit bir şekilde ayırma avantajıyla öne çıkmıştır. Miron ve ekibi, yatay santrifüjlemenin hücre konsantrasyonunu önemli ölçüde artırdığını ve daha homojen hücre dağılımı sağladığını göstermiştir. Ayrıca, sabit açılı santrifüjlerde TZF pıhtılarında görülen eğimli ayrışmanın, yatay santrifüjleme ile daha eşit bir dağılımla

ortadan kalktığı tespit edilmiştir. Standart protokoller arasında, 700 RCF'de 8 dakika boyunca santrifüjlemenin, katı TZF pıhtıları için en uygun yöntem olduğu bulunmuştur. Sıvı TZF elde etmek için 2000 RCF'de 8 dakika boyunca santrifüjleme gibi yüksek hızlı protokoller geliştirilmiş ve bu yöntemle üretilen TZF'nin daha yüksek büyüme faktörü salınımı sağladığı gözlemlenmiştir.⁴¹

Çalışmamızda çeşitli limitasyonlar bulunmaktadır. Buna göre:

1. D vitamininin steroid yapısı: D vitamin suda çözünmeyen yapısı nedeniyle kan örnekleri ile standard ve homojen şekilde karışmamış olma ihtimali bulunmaktadır.
2. Değerlendirme süresi: TZF örneklerde antimikrobiyal etki ve büyüme faktörü seviyeleri sadece 24. ve 72. saatte yapıldı. TZF membranların dokularda 14 güne kadar kalabildiği bildirilmiştir. Bu nedenle değerlendirme sürelerinin daha uzun olacağı çalışmalara ihtiyaç vardır.
3. Çalışma popülasyonu: Çalışmamızda küçük örneklem sayısından dolayı, mevcut yöntemin daha geniş bir popülasyonda tekrarlanması uygun olacaktır. Ayrıca, çalışmamızda her iki cinsiyetten ve farklı yaş gruplarındaki deneklerden alınan kan örnekleri kullanılmıştır. Sistemik olarak sağlıklı olmalarına ve başlangıç kan hücre sayımlarının fizyolojik sınırlar arasında olmasına rağmen hücre aktivitelerini potansiyel olarak etkileyebilecek faktörlerin (sigara kullanımı, hormon düzeyleri, kanın alınması sırasındaki stres düzeyi vs.) çalışma sonuçlarını etkileyebileceği unutulmamalıdır.
4. TZF hazırlama protokolü: G kuvveti, santrifüjleme zamanı ve rotor açısı kaynaklı büyüme faktörü salınımı değişiklik göstermektedir.
5. Kan tüpünün özellikleri ve sıcaklık: Kullanılan kan tüpünün hidrofilik veya hidrofobik olması TZF üretiminde değişikliğe neden olmaktadır. Ayrıca tüplerin soğutma cihazı kullanılarak çalışma süresi değiştirilebilmektedir.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamızda; TZF grubunda FGF-2, IGF-1 ve VEGF düzeyleri 72. saatte 24. saate göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Buna karşılık, PDGF ve TGF- β düzeylerinde 72. saatte istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edildi.
2. VitC-TZF grubunda; FGF-2 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenirken IGF-1, PDGF, VEGF ve TGF- β düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmedi.
3. VitD-TZF grubunda; 24. ve 72. saat arasında PDGF düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken, VEGF düzeylerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlemlendi. Ayrıca FGF, IGF ve TGF- β düzeylerinde zamanla anlamlı bir değişiklik tespit edilmedi.
4. Gruplar arası karşılaştırmalarda; TZF grubunun FGF-2 ve IGF-1 düzeylerinin, her iki zaman periyodunda VitC-TZF ve VitD-TZF gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu belirlendi. PDGF düzeyleri, yalnızca VitD-TZF grubunda her iki zaman periyodunda VitC-TZF grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek olduğu bulundu. VEGF düzeyleri değerlendirildiğinde; 72. saatte TZF ve VitC-TZF gruplarının düzeyleri, VitD-TZF grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek tespit edildi.
5. İnflamatuar sitokinler değerlendirildiğinde; VitC-TZF grubunda IL-1 β düzeyi diğer gruplara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı seviyede düşük bulunurken gruplar arası TNF- α seviyelerinde anlamlı bir fark gözlenmedi.
6. Mekanik özellikler açısından, VitC-TZF grubunun çekme dayanımı ve uzama miktarının kontrol ($p<0,05$) ve VitD-TZF gruplarına göre yüksek olduğu tespit edildi.

Sonuç olarak; C ve D vitaminlerinin periodontal dokuların rejenerasyonundaki kanıtlanmış yararları ile TZF'nin taşıyıcı ve destekleyici özellikleri birleştirilerek, diş hekimliği uygulamalarında daha etkili ve yenilikçi tedavi protokollerinin geliştirilmesine olanak sağlayabileceği düşünülmektedir. Ayrıca TZF'nin, periodontal dokularda

yenilenme ve iyileşme süreçlerini optimize edecek bir taşıyıcı olarak kullanılması, gelecekteki klinik çalışmalar ve tedavi yaklaşımları için umut verici bir strateji olarak kullanılabilir. C ve D vitamininin TZF ile farklı konsantrasyon ve formlarda kombine edilerek yaş, cinsiyet, sistemik durum gibi parametrelerin de dahil edileceği çalışma gruplarında büyüme faktörleri, sitokin düzeyleri ve mekanik özelliklerinin değerlendirileceği daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.



KAYNAKÇA

1. **Garraud, O. and F. Cognasse, *Are Platelets Cells? And if Yes, are They Immune Cells?* 2015. 6.**
2. **Polak, D., N. Clemer-Shamai, and L.J.J.o.c.p. Shapira, *Incorporating antibiotics into platelet-rich fibrin: a novel antibiotics slow-release biological device.* 2019. 46(2): p. 241-247.**
3. **Knafl, D., F. Thalhammer, and M.G.J.P.O. Vossen, *In-vitro release pharmacokinetics of amikacin, teicoplanin and polyhexanide in a platelet rich fibrin—layer (PRF)—a laboratory evaluation of a modern, autologous wound treatment.* 2017. 12(7): p. e0181090.**
4. **Ozcan, M., et al., *The impact of local and systemic penicillin on antimicrobial properties and growth factor release in platelet-rich fibrin: In vitro study.* 2023. 28(1): p. 61.**
5. **Egle, K., I. Salma, and A.J.I.j.o.m.s. Dubnika, *From blood to regenerative tissue: how autologous platelet-rich fibrin can be combined with other materials to ensure controlled drug and growth factor release.* 2021. 22(21): p. 11553.**
6. **Greenstein, G. and A.J.J.o.p. Polson, *The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases: a comprehensive review.* 1998. 69(5): p. 507-520.**
7. **Elbehwashy, M.T., et al., *Clinical and radiographic effects of ascorbic acid-augmented platelet-rich fibrin versus platelet-rich fibrin alone in intra-osseous defects of stage-III periodontitis patients: a randomized controlled clinical trial.* 2021. 25: p. 6309-6319.**
8. **Fawzy El-Sayed, K.M., et al., *Can vitamins improve periodontal wound healing/regeneration?* 2024. 94(1): p. 539-602.**
9. **Matras, H.J.O.Z.S., *Die Wirkungen verschiedener fibrinpräparate auf kontinuierlich-störungen der rattenhaut.* 1970. 67(9): p. 338-59.**
10. **Kingsley, C.J.N., *Blood coagulation: evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma.* 1954. 173(4407): p. 723-724.**
11. **Magalon, J., et al., *DEPA classification: a proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices.* 2016. 2(1): p. e000060.**
12. **Knighton, D.R., et al., *Classification and treatment of chronic nonhealing wounds.* 1986. 204(3): p. 322-330.**
13. **Whitman, D.H., et al., *Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery.* 1997. 55(11): p. 1294-1299.**

14. **Re, M.J.O.S.O.M.O.P.O.R.E.,** *Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts.* **1998.** 85: p. 638-646.
15. **Choukroun, J., et al.,** *Une opportunit?? en paro-implantologie: Le PRF.* *Implantodontie,* **2001.** 42: p. 55-62.
16. **Sacco, L.J.L.,** *Lecture, International academy of implant prosthesis and osteoconnection.* **2006.** 12: p. 4.
17. **Ehrenfest, D.M.D., L. Rasmusson, and T.J.T.i.b. Albrektsson,** *Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF).* **2009.** 27(3): p. 158-167.
18. **Choukroun, J.J.J.P.M.C.P.,** *Advanced PRF, & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates.* **2014.** 1(1): p. 3.
19. **Hadziabdic, N.,** *PRF and Sticky Bone as Regenerative Materials in Oral Surgery, in Craniofacial Surgery-Recent Advances, New Perspectives and Applications.* **2022,** IntechOpen.
20. **Prakash, S., A.J.J.o.m. Thakur, and o. surgery,** *Platelet concentrates: past, present and future.* **2011.** 10(1): p. 45-49.
21. **Saini, K., et al.,** *Journey of platelet concentrates: a review.* **2020.** 13(1): p. 185-191.
22. **Bielecki, T. and D.J.C.p.b. M Dohan Ehrenfest,** *Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering.* **2012.** 13(7): p. 1121-1130.
23. **Caruana, A., et al.,** *From platelet-rich plasma to advanced platelet-rich fibrin: biological achievements and clinical advances in modern surgery.* **2019.** 13(02): p. 280-286.
24. **Anitua, E.J.I.j.o.O. and m. Implants,** *Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants.* **1999.** 14(4): p. 529-535.
25. **Dohan Ehrenfest, D.M., et al.,** *Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane.* **2010.** 81(4): p. 546-555.
26. **Ghanaati, S., et al.,** *Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells.* **2014.** 40(6): p. 679-689.
27. **Dohan, D.M., 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): p. e51-5.

28. **Li, Q., et al.,** *Platelet-rich fibrin promotes periodontal regeneration and enhances alveolar bone augmentation.* **2013.** 2013(1): p. 638043.
29. **Dohan Ehrenfest, D.M., et al.,** *Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives.* *Muscles Ligaments Tendons J*, **2014.** 4(1): p. 3-9.
30. **Ehrenfest, D.M.D.J.O.s.,** oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics, *How to optimize the preparation of leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box.* **2010.** 110(3): p. 275-280.
31. **Dohan, D.M., 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): p. e37-44.
32. **Pavlovic, V., et al.,** *Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications.* *Open Med (Wars)*, **2021.** 16(1): p. 446-454.
33. **Kim, T.-H., et al.,** *Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing.* **2014.** 59(5): p. 550-558.
34. **Zumarán, C.C., et al.,** *The 3 R's for platelet-rich fibrin: A "super" tri-dimensional biomaterial for contemporary naturally-guided oro-maxillo-facial soft and hard tissue repair, reconstruction and regeneration.* **2018.** 11(8): p. 1293.
35. **Choukroun, J., S.J.E.j.o.t. Ghanaati, and e. surgery,** *Reduction of relative centrifugation force within injectable platelet-rich-fibrin (PRF) concentrates advances patients' own inflammatory cells, platelets and growth factors: the first introduction to the low speed centrifugation concept.* **2018.** 44: p. 87-95.
36. **Fujioka-Kobayashi, M., et al.,** *Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response.* **2017.** 88(1): p. 112-121.
37. **Miron, R.J., et al.,** *Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry?* **2017.** 21: p. 2619-2627.
38. **Yu, B. and Z.J.M.m.r. Wang,** *Effect of concentrated growth factors on beagle periodontal ligament stem cells in vitro.* **2014.** 9(1): p. 235-242.
39. **Zhang, T., et al.,** *Liquid phase concentrated growth factor improves autologous fat graft survival in vivo in nude mice.* **2021.** 45: p. 2417-2422.
40. **Tunali, M., et al.,** *In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate.* **2013.** 51(5): p. 438-443.

41. **Miron, R.J., et al.,** *A novel method for evaluating and quantifying cell types in platelet rich fibrin and an introduction to horizontal centrifugation.* **2019.** 107(10): p. 2257-2271.
42. **Miron, R.J., et al.,** *Evaluation of 24 protocols for the production of platelet-rich fibrin.* **2020.** 20:1-13.
43. **Miron, R.J., et al.,** *A novel method for harvesting concentrated platelet-rich fibrin (C-PRF) with a 10-fold increase in platelet and leukocyte yields.* **2020.** 24: p. 2819-2828.
44. **Fujioka-Kobayashi, M., et al.,** *Biological characterization of an injectable platelet-rich fibrin mixture consisting of autologous albumin gel and liquid platelet-rich fibrin (Alb-PRF).* **2021.** 32(1): p. 74-81.
45. **Mourão, C.F.d.A.B., et al.,** *Characterization of a new membrane from concentrated growth factors associated with denaturized Albumin (Alb-CGF) for clinical applications: A preliminary study.* **2018.** 1(2): p. 64.
46. **Dean, L.J.B.g. and r.c. antigens,** *Blood and the cells it contains.* **2005.** 16.
47. **Holinstat, M.J.C. and M. Reviews,** *Normal platelet function.* **2017.** 36: p. 195-198.
48. **Blair, P. and R.J.B.r. Flaumenhaft,** *Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates.* **2009.** 23(4): p. 177-189.
49. **Coppinger, J. and P.J.C.p.d. Maguire,** *Insights into the platelet releasate.* **2007.** 13(26): p. 2640-2646.
50. **Rendu, F. and B.J.P. Brohard-Bohn,** *The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions.* **2001.** 12(5): p. 261-273.
51. **Yeaman, M.R.J.P.,** *The role of platelets in antimicrobial host defense.* **2019:** p. 523-546.
52. **Leoncini, G., et al.,** *Lysosomal enzymes in human platelets.* **1985.** 3(2): p. 121-125.
53. **Ray, A.K., et al.,** *Platelet-derived growth factor-BB stimulated cell migration mediated through p38 signal transduction pathway in periodontal cells.* **2003.** 74(9): p. 1320-1328.
54. **Carragee, E.J., E.L. Hurwitz, and B.K.J.T.s.j. Weiner,** *A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned.* **2011.** 11(6): p. 471-491.

55. **Melincovici, C.S., et al.,** *Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis.* **2018.** 59(2): p. 455-467.
56. **Wang, J., et al.,** *Bone marrow-derived IGF-1 orchestrates maintenance and regeneration of the adult skeleton.* **2023.** 120(1): p. e2203779120.
57. **Marie, P.J.G.,** *Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation.* **2003.** 316: p. 23-32.
58. **Anitua, E., et al.,** *Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration.* **2004.** 91(01): p. 4-15.
59. **M Dohan Ehrenfest, D., et al.,** *Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the growth factor release of platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF).* **2012.** 13(7): p. 1145-1152.
60. **Tsirogianni, A.K., N.M. Moutsopoulos, and H.M.J.I. Moutsopoulos,** *Wound healing: immunological aspects.* **2006.** 37(1): p. S5-S12.
61. **Barrientos, S., et al.,** *Growth factors and cytokines in wound healing.* **2008.** 16(5): p. 585-601.
62. **Dohan Ehrenfest, D.M., et al.,** *Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies.* **2009.** 27(1): p. 63-69.
63. **Mosesson, M.W., K.R. Siebenlist, and D.A.J.A.o.t.N.Y.A.o.S. Meh,** *The structure and biological features of fibrinogen and fibrin.* **2001.** 936(1): p. 11-30.
64. **Clark, R.A.J.T. and haemostasis,** *Fibrin glue for wound repair: facts and fancy.* **2003.** 90(12): p. 1003-1006.
65. **MOSESSON, M.W.J.J.o.t. and haemostasis,** *Fibrinogen and fibrin structure and functions.* **2005.** 3(8): p. 1894-1904.
66. **Tamaki, T. and N.J.B.e.B.A.-E. Aoki,** *Cross-linking of α 2-plasmin inhibitor and fibronectin to fibrin by fibrin-stabilizing factor.* **1981.** 661(2): p. 280-286.
67. **Blombäck, B., et al.,** *Fibrin in human plasma: gel architectures governed by rate and nature of fibrinogen activation.* **1994.** 75(5): p. 521-538.
68. **Blombäck, B., et al.,** *A two-step fibrinogen-fibrin transition in blood coagulation.* **1978.** 275(5680): p. 501-505.
69. **Anitua, E., M.H. Alkhraisat, and G.J.J.o.c.r. Orive,** *Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors.* **2012.** 157(1): p. 29-38.

70. **Weisel, J.W.J.B.c.,** *The mechanical properties of fibrin for basic scientists and clinicians.* **2004.** 112(2-3): p. 267-276.
71. **Dohan, D.M., 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): p. e45-50.
72. **Sam, G., B.R.M.J.J.o.c. Pillai, and d.r. JCDR,** *Evolution of barrier membranes in periodontal regeneration- "are the third generation membranes really here?* **2014.** 8(12): p. ZE14.
73. **Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, et al.** The impact of the centrifuge characteristics and centrifugation protocols on the cells, growth factors, and fibrin architecture of a leukocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF) clot and membrane. **2018;**29(2):171-184.
74. **Zumstein MA, Bielecki T, Ehrenfest DMDJOTiSM.** The future of platelet concentrates in sports medicine: platelet-rich plasma, platelet-rich fibrin, and the impact of scaffolds and cells on the long-term delivery of growth factors. **2011;**19(3):190-197.
75. **Qiao J, Duan J, Zhang Y, Chu Y, Sun CJFsO.** The effect of concentrated growth factors in the treatment of periodontal intrabony defects. **2016;**2(4).
76. **Giannini S, Cielo A, Bonanome L, et al.** Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. **2015;**19(6):927-930.
77. **Soffer E, Ouhayoun JP, Anagnostou FJOS,** Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology,, Endodontology. Fibrin sealants and platelet preparations in bone and periodontal healing. **2003;**95(5):521-528.
78. **KESKİN C, ÇAKARER SJJöIUFoD.** TROMBOSİTEN ZENGİN PLASMANİN ORAL VE MAKSİLLOFASİYAL CERRAHİDE KULLANIMI/THE USE OF PLATELET-RICH PLASMA IN ORAL AND MAXILOFACIAL SURGERY. **2012;**41(1-2):17-24.
79. **Anitua E, Flores J, Alkhraisat MHJCID,** Research R. Transcrestal sinus lift using platelet concentrates in association to short implant placement: a retrospective study of augmented bone height remodeling. **2016;**18(5):993-1002.
80. **Steigmann M, Garg AKJID.** A comparative study of bilateral sinus lifts performed with platelet-rich plasma alone versus alloplastic graft material reconstituted with blood. **2005;**14(3):261-266.
81. **Kim J-M, Sohn D-S, Bae M-S, Moon J-W, Lee J-H, Park I-SJId.** Flapless transcrestal sinus augmentation using hydrodynamic piezoelectric internal sinus elevation with autologous concentrated growth factors alone. **2014;**23(2):168-174.

82. **Alissa R, Esposito M, Horner K, Oliver RJEjooi.** The influence of platelet-rich plasma on the healing of extraction sockets: an explorative randomised clinical trial. **2010**;3(2).
83. **Mourão CFdAB, de Mello-Machado RC, Javid K, Moraschini VJJoC-MS.** The use of leukocyte-and platelet-rich fibrin in the management of soft tissue healing and pain in post-extraction sockets: A randomized clinical trial. **2020**;48(4):452-457.
84. **Serafini G, Lollobrigida M, Fortunato L, et al.** Postextractive alveolar ridge preservation using L-PRF: clinical and histological evaluation. **2020**;2020.
85. **Ma F, Lin Y, Sun F, Jiang X, Wei TJCID, Research R.** The impact of autologous concentrated growth factors on the alveolar ridge preservation after posterior tooth extraction: a prospective, randomized controlled clinical trial. **2021**;23(4):579-592.
86. **Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, et al.** Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. **2017**;21:1913-1927.
87. **Wang X, Wang G, Zhao X, Feng Y, Liu H, Li FJBRI.** Short-term evaluation of guided bone reconstruction with titanium mesh membranes and CGF membranes in immediate implantation of anterior maxillary tooth. **2021**;2021.
88. **Patel GK, Gaekwad SS, Gujjari SK, SC VKJJop.** Platelet-rich fibrin in regeneration of intrabony defects: a randomized controlled trial. **2017**;88(11):1192-1199.
89. **Liu K, Huang Z, Chen Z, Han B, Ouyang XJJOP.** Treatment of periodontal intrabony defects using bovine porous bone mineral and guided tissue regeneration with/without platelet-rich fibrin: A randomized controlled clinical trial. **2021**;92(11):1546-1553.
90. **Dixit N, Lamba AK, Faraz F, Tandon S, Aggarwal K, Ahad AJIJoDR.** Root coverage by modified coronally advanced flap with and without platelet-rich fibrin: A clinical study. **2018**;29(5):600-604.
91. **Akcan SK, Ünsal BJJoAOS.** Gingival recession treatment with concentrated growth factor membrane: a comparative clinical trial. **2020**;28:e20190236.
92. **Sharma A, Pradeep ARJJop.** Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: A randomized clinical trial. **2011**;82(10):1396-1403.
93. **Bahammam MAJCoI.** Effect of platelet-rich fibrin palatal bandage on pain scores and wound healing after free gingival graft: a randomized controlled clinical trial. **2018**;22:3179-3188.

94. **Vishnu VA, Sanyal PK, Tewary S, Nilesh K, Prasad RMS, Pawashe KJJodR,** Dental Clinics, Dental Prospects. A split-mouth clinico-radiographic comparative study for evaluation of crestal bone and peri-implant soft tissues in immediately loaded implants with and without platelet-rich plasma bioactivation. **2019**;13(2):117.
95. **Lima VCdS, Miguel MMV, Ferraz LFF, Filho ABdM, Jardini MAN, Santamaria MPJCAiP.** Use of Platelet-Rich Fibrin Membranes With Single Implant Placement for Peri-Implant Mucosal Thickness Augmentation: A Case Series Study. **2022**;12(1):17-20.
96. **Upadhayaya V, Arora A, Goyal AJa.** Bioactive platelet aggregates: Prp, Prgf, Prf, Cgf and sticky bone. **2017**;7:5-11.
97. **Arshad S, Tehreem F, Rehab khan M, Ahmed F, Marya A, Karobari MIJiJod.** Platelet-rich fibrin used in regenerative endodontics and dentistry: current uses, limitations, and future recommendations for application. **2021**;2021(1):4514598.
98. **Bains R, Bains VK, Loomba K, Verma K, Nasir AJCcd.** Management of pulpal floor perforation and grade II Furcation involvement using mineral trioxide aggregate and platelet rich fibrin: A clinical report. **2012**;3(Suppl 2):S223-S227.
99. **Shivashankar VY, Johns DA, Vidyanath S, Kumar MRJJoCD.** Platelet rich fibrin in the revitalization of tooth with necrotic pulp and open apex. **2012**;15(4):395-398.
100. **Rudagi KB, Rudagi BJJJoCD.** One-step apexification in immature tooth using grey mineral trioxide aggregate as an apical barrier and autologous platelet rich fibrin membrane as an internal matrix. **2012**;15(2):196-199.
101. **Huang F-M, Yang S-F, Zhao J-H, Chang Y-CJJoe.** Platelet-rich fibrin increases proliferation and differentiation of human dental pulp cells. **2010**;36(10):1628-1632.
102. **Riaz L, Anjum M, Yang Q, et al.** Treatment technologies and management options of antibiotics and AMR/ARGs. In: *Antibiotics and Antimicrobial Resistance genes in the Environment*. Elsevier; **2020**:369-393.
103. **Guo Sa, DiPietro LAJJodr.** Factors affecting wound healing. **2010**;89(3):219-229.
104. **Alhaffar MBA, Shibibe LA, Soukkarieh C, Abou Sulaiman A.** New Protocol to Improve the Antibacterial Activity of Platelet Rich Fibrin–In Vitro Study. **2020**.
105. **Alhaffar MBA, Shibibe LA, Soukkarieh C, Abou Sulaiman A.** Modified Protocol to Use Platelet Rich Fibrin (PRF) as a local antibiotic delivery system–In Vitro study. **2021**.

106. **Rafiee, A., et al.,** *Drug delivery assessment of a novel triple antibiotic-eluting injectable platelet-rich fibrin scaffold: an in vitro study.* **2021.** 22(3): p. 380-388.
107. **Ercan, E., et al.,** *Titanium platelet-rich fibrin (T-PRF) as high-capacity doxycycline delivery system.* **2022.** 26(8): p. 5429-5438.
108. **Peck, M., et al.,** *Antibiotic release from leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) an observational study.* **2018.** 73(4): p. 268-270.
109. **Qiu, Y., et al.,** *Novel approach to soft tissue regeneration: in vitro study of compound hyaluronic acid and horizontal platelet-rich fibrin combination.* **2024.** 32: p. e20230294.
110. **Kartika, R.W., et al.,** *Efficacy of Combining Hyaluronic Acid and Platelet-Rich Fibrin in Diabetic Foot Ulcer.* **2021.** 14(3).
111. **Aydemir Turkal, H., et al.,** *Evaluation of the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. Six-month results of a randomized, split-mouth, controlled clinical study.* **2016.** 43(11): p. 955-964.
112. **Pillai, A.K., et al.,** *Platelet Rich Fibrin (PRF) Gel as Efficient Vehicle for Local Drug Delivery in Minor Oral Surgical Defects.* **2021.** 2: p. 185-191.
113. **Zhao, W., Z.-J. Xiao, and S.-P.J.N.I. Zhao,** *The benefits and risks of statin therapy in ischemic stroke: a review of the literature.* **2019.** 67(4): p. 983-992.
114. **Martande, S.S., et al.,** *Platelet-rich fibrin combined with 1.2% atorvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial.* **2016.** 87(9): p. 1039-1046.
115. **Pradeep, A., et al.,** *Platelet-rich fibrin with 1.2% rosuvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial.* **2016.** 87(12): p. 1468-1473.
116. **Blanchard, R., et al.,** *Structural and material changes of human cortical bone with age: Lessons from the Melbourne femur research collection.* **2019:** p. 246-264.
117. **Saini, R., et al.,** *Periodontitis, a true infection.* **2009.** 1(2): p. 149-150.
118. **Kanoriya, D., et al.,** *Mandibular degree II furcation defects treatment with platelet-rich fibrin and 1% alendronate gel combination: A randomized controlled clinical trial.* **2017.** 88(3): p. 250-258.
119. **Kanoriya, D., et al.,** *Synergistic approach using platelet-rich fibrin and 1% alendronate for intrabony defect treatment in chronic periodontitis: a randomized clinical trial.* **2016.** 87(12): p. 1427-1435.
120. **Flory, J. and K.J.J. Lipska,** *Metformin in 2019.* **2019.** 321(19): p. 1926-1927.

121. **Pradeep, A., et al.,** *Platelet-rich fibrin with 1% metformin for the treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: A randomized controlled clinical trial.* **2015.** 86(6): p. 729-737.
122. **Sharma, P., et al.,** *A clinicoradiographic assessment of 1% metformin gel with platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular grade II furcation defects.* **2017.** 21(4): p. 303-308.
123. **Simonpieri, A., et al.,** *The relevance of Choukroun's platelet-rich fibrin and metronidazole during complex maxillary rehabilitations using bone allograft. Part I: a new grafting protocol.* **2009.** 18(2): p. 102-111.
124. **Fiorentini, D., et al.,** *Magnesium: biochemistry, nutrition, detection, and social impact of diseases linked to its deficiency.* **2021.** 13(4): p. 1136.
125. **Gassling, V., et al.,** *Magnesium-enhanced enzymatically mineralized platelet-rich fibrin for bone regeneration applications.* **2013.** 8(5): p. 055001.
126. **Wong, P.-C., et al.,** *Large-pore platelet-rich fibrin with a mg ring to allow mc3t3-e1 preosteoblast migration and to improve osteogenic ability for bone defect repair.* **2021.** 22(8): p. 4022.
127. **Grzybowski, A. and K.J.C.i.d. Pietrzak,** *Albert Szent-Györgyi (1893-1986): the scientist who discovered vitamin C.* **2013.** 31(3): p. 327-331.
128. **Mousavi, S., et al.,** *Immunomodulatory and antimicrobial effects of vitamin C.* **2019.** 9(3): p. 73-79.
129. **Peterkofsky, B.J.T.A.j.o.c.n.,** *Ascorbate requirement for hydroxylation and secretion of procollagen: relationship to inhibition of collagen synthesis in scurvy.* **1991.** 54(6): p. 1135S-1140S.
130. **Hemilä, H.J.N.,** *Vitamin C and infections.* **2017.** 9(4): p. 339.
131. **Hallberg, L. and L.J.T.A.j.o.c.n. Hulthén,** *Prediction of dietary iron absorption: an algorithm for calculating absorption and bioavailability of dietary iron.* **2000.** 71(5): p. 1147-1160.
132. **Mullan, B.A., et al.,** *Ascorbic acid reduces blood pressure and arterial stiffness in type 2 diabetes.* **2002.** 40(6): p. 804-809.
133. **Harrison, F.E., J.M.J.F.R.B. May, and Medicine,** *Vitamin C function in the brain: vital role of the ascorbate transporter SVCT2.* **2009.** 46(6): p. 719-730.
134. **Johnston, C.S.J.J.,** *Recommendations for vitamin C intake.* **1999.** 282(22): p. 2118-2119.
135. **Frei, B., et al.,** *Authors' perspective: What is the optimum intake of vitamin C in humans?* **2012.** 52(9): p. 815-829.

136. **Dodington, D.W., et al.,** *Higher intakes of fruits and vegetables, β -carotene, vitamin C, α -tocopherol, EPA, and DHA are positively associated with periodontal healing after nonsurgical periodontal therapy in nonsmokers but not in smokers.* **2015.** 145(11): p. 2512-2519.
137. **Chapple, I.L. and J.B.J.P. Matthews,** *The role of reactive oxygen and antioxidant species in periodontal tissue destruction.* **2007.** 43(1).
138. **Tada, A., H.J.I.j.o.e.r. Miura, and p. health,** *The relationship between vitamin C and periodontal diseases: a systematic review.* **2019.** 16(14): p. 2472.
139. **Li, X., et al.,** *Role of vitamin C in wound healing after dental implant surgery in patients treated with bone grafts and patients with chronic periodontitis.* **2018.** 20(5): p. 793-798.
140. **Gęgotek, A. and E.J.A. Skrzydlewska,** *Antioxidative and anti-inflammatory activity of ascorbic acid.* **2022.** 11(10): p. 1993.
141. **Pizzicannella, J., et al.,** *MicroRNA 210 Mediates VEGF Upregulation in Human Periodontal Ligament Stem Cells Cultured on 3DHydroxyapatite Ceramic Scaffold.* *Int J Mol Sci,* **2018.** 19(12).
142. **Leon, E., et al.,** *Osteogenic effect of interleukin-11 and synergism with ascorbic acid in human periodontal ligament cells.* **2007.** 42(6): p. 527-535.
143. **Bhandi, S., et al.,** *Effect of ascorbic acid on differentiation, secretome and stemness of stem cells from human exfoliated deciduous tooth (SHEDs).* **2021.** 11(7): p. 589.
144. **Liu, K., H. Meng, and J.J.P.O. Hou,** *Activity of 25-hydroxylase in human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells.* **2012.** 7(12): p. e52053.
146. **Del Valle, H.B., et al.,** *Dietary reference intakes for calcium and vitamin D.* **2011.**
146. **Holick, M.F., et al.,** *Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline.* **2011.** 96(7): p. 1911-1930.
147. **Adams, J.S., M.J.T.J.o.C.E. Hewison, and Metabolism,** *Update in vitamin D.* **2010.** 95(2): p. 471-478.
148. **Zhang, X., et al.,** *1, 25-Dihydroxyvitamin D3 promotes high glucose-induced M1 macrophage switching to M2 via the VDR-PPAR γ signaling pathway.* **2015.** 2015(1): p. 157834.
149. **Wang, T.J., et al.,** *Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease.* **2008.** 117(4): p. 503-511.
150. **Pittas, A.G., et al.,** *The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis.* **2007.** 92(6): p. 2017-2029.

151. **McCann, J.C. and B.N.J.T.F.J. Ames,** *Is there convincing biological or behavioral evidence linking vitamin D deficiency to brain dysfunction?* **2008.** 22(4): p. 982-1001.
152. **Bouillon, R.J.N.R.E.,** *Comparative analysis of nutritional guidelines for vitamin D.* **2017.** 13(8): p. 466-479.
153. **Jagelavičienė, E., et al.,** *The relationship between vitamin D and periodontal pathology.* **2018.** 54(3): p. 45.
154. **Lu, E.M.C.J.J.o.P.R.,** *The role of vitamin D in periodontal health and disease.* **2023.** 58(2): p. 213-224.
155. **Dietrich, T., et al.,** *Association between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D3 and periodontal disease in the US population.* **2004.** 80(1): p. 108-113.
156. **Dietrich, T., et al.,** *Association between serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D and gingival inflammation.* **2005.** 82(3): p. 575-580.
157. **Millen, A.E., et al.,** *Plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and periodontal disease in postmenopausal women.* **2013.** 84(9): p. 1243-1256.
158. **Kim, H., et al.,** *Low serum 25-hydroxyvitamin D levels, tooth loss, and the prevalence of severe periodontitis in Koreans aged 50 years and older.* **2020.** 50(6): p. 368.
159. **Bashutski, J., et al.,** *The impact of vitamin D status on periodontal surgery outcomes.* **2011.** 90(8): p. 1007-1012.
160. **Gao, W., et al.,** *Effect of short-term vitamin D supplementation after nonsurgical periodontal treatment: A randomized, double-masked, placebo-controlled clinical trial.* **2020.** 55(3): p. 354-362.
161. **Perić, M., et al.,** *The effects of 6-month vitamin D supplementation during the non-surgical treatment of periodontitis in vitamin-D-deficient patients: a randomized double-blind placebo-controlled study.* **2020.** 12(10): p. 2940.
162. **Lemire, J.M., et al.,** *1, 25-Dihydroxyvitamin D3 suppresses human T helper/inducer lymphocyte activity in vitro.* **1985.** 134(5): p. 3032-3035.
163. **Boonstra, A., et al.,** *1 α , 25-Dihydroxyvitamin D3 has a direct effect on naive CD4+ T cells to enhance the development of Th2 cells.* **2001.** 167(9): p. 4974-4980.
164. **Gaffen, S. and G.J.J.o.d.r. Hajishengallis,** *A new inflammatory cytokine on the block: re-thinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17.* **2008.** 87(9): p. 817-828.

165. **Weaver, C.T. and R.D.J.N.R.I. Hatton**, *Interplay between the TH17 and TReg cell lineages: a (co-) evolutionary perspective*. **2009**. 9(12): p. 883-889.
166. **Wang, Y., et al.**, *Calcitriol-enhanced autophagy in gingival epithelium attenuates periodontal inflammation in rats with type 2 diabetes mellitus*. **2023**. 13: p. 1051374.
167. **Bi, C.S., et al.**, *Calcitriol suppresses lipopolysaccharide-induced alveolar bone damage in rats by regulating T helper cell subset polarization*. **2019**. 54(6): p. 612-623.
168. **Han, J., et al.**, *Vitamin D reduces the serum levels of inflammatory cytokines in rat models of periodontitis and chronic obstructive pulmonary disease*. **2019**. 61(1): p. 53-60.
169. **Li, H., et al.**, *Effects of 1, 25-dihydroxyvitamin D3 on experimental periodontitis and AhR/NF- κ B/NLRP3 inflammasome pathway in a mouse model*. **2019**. 27: p. e20180713.
170. **Timms, P., et al.**, *Circulating MMP9, vitamin D and variation in the TIMP-1 response with VDR genotype: mechanisms for inflammatory damage in chronic disorders?* **2002**. 95(12): p. 787-796.
171. **Hong, H.H., et al.**, *Calcitriol and enamel matrix derivative differentially regulated cemento-induction and mineralization in human periodontal ligament-derived cells*. **2022**. 93(10): p. 1553-1565.
172. **Nebel, D., et al.**, *1 α , 25-dihydroxyvitamin D 3 promotes osteogenic activity and downregulates proinflammatory cytokine expression in human periodontal ligament cells*. **2015**. 50(5): p. 666-673.
173. **Tang, X., Y. Pan, and Y.J.A.o.O.B. Zhao**, *Vitamin D inhibits the expression of interleukin-8 in human periodontal ligament cells stimulated with Porphyromonas gingivalis*. **2013**. 58(4): p. 397-407.
174. **Huang, C., et al.**, *Eldecalsitol inhibits LPS-induced NLRP3 inflammasome-dependent pyroptosis in human gingival fibroblasts by activating the Nrf2/HO-1 signaling pathway*. **2020**: p. 4901-4913.
175. **Yu, X., X. Zong, and Y.J.A.O.S. Pan**, *Associations between vitamin D receptor genetic variants and periodontitis: A meta-analysis*. **2019**. 77(7): p. 484-494.
176. **Laine, M.L., B.G. Loos, and W.J.I.j.o.d. Crielaard**, *Gene polymorphisms in chronic periodontitis*. **2010**. 2010(1): p. 324719.
177. **Choukroun, J., et al.**, *Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing*. **2006**. 101(3): p. e56-e60.

178. **Zhao, Y.-H., et al.,** *The combined use of cell sheet fragments of periodontal ligament stem cells and platelet-rich fibrin granules for avulsed tooth reimplantation.* **2013.** 34(22): p. 5506-5520.
179. **Yang, K.C., et al.,** *Fibrin glue mixed with platelet-rich fibrin as a scaffold seeded with dental bud cells for tooth regeneration.* **2012.** 6(10): p. 777-785.
180. **Mu, Z., et al.,** *Gelatin nanoparticle-injectable platelet-rich fibrin double network hydrogels with local adaptability and bioactivity for enhanced osteogenesis.* **2020.** 9(5): p. 1901469.
181. **Siawasch, S., et al.,** *Impact of local and systemic antimicrobials on leukocyte and platelet rich fibrin: an in vitro study.* **2022.** 12(1): p. 2710.
182. **Srirangarajan, S., et al.,** *Does cigarette smoking induce changes in biologic and mechanical properties of platelet-rich fibrin membranes?* **2021.** 41(6): p. e213-e221.
183. **Ravi, S. and M.J.B.R. Santhanakrishnan,** *Mechanical, chemical, structural analysis and comparative release of PDGF-AA from L-PRF, A-PRF and T-PRF-an in vitro study.* **2020.** 24(1): p. 16.
184. **Isobe, K., et al.,** *Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF).* **2017.** 3: p. 1-6.
185. **Pascoal, M.d.A.N.C., et al.,** *Tensile strength assay comparing the resistance between two different autologous platelet concentrates (leucocyte-platelet rich fibrin versus advanced-platelet rich fibrin): a pilot study.* **2021.** 7: p. 1-8.
186. **Khorshidi, H., et al.,** *Does adding silver nanoparticles to leukocyte-and platelet-rich fibrin improve its properties?* **2018.** 2018(1): p. 8515829.
187. **Karimi, F., et al.,** *Platelet-rich fibrin (PRF) gel modified by a carbodiimide crosslinker for tissue regeneration.* **2022.** 12(21): p. 13472-13479.
188. **Wang, X., et al.,** *In vitro and ex vivo kinetic release profile of growth factors and cytokines from leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF) preparations.* **2022.** 11(13): p. 2089.
189. **Tomouk, T., et al.,** *P5: Effect Of Vitamin C And Cold On Growth Factor Release From Platelet-Rich Plasma.* **2021.** 108(Supplement_1): p. znab117. 090.
190. **Aghajanian, P., et al.,** *The roles and mechanisms of actions of vitamin C in bone: new developments.* **2015.** 30(11): p. 1945-1955.
191. **Pedigo*, N., et al.,** *A 5'-distal element mediates vitamin D-inducibility of PDGF-A gene transcription.* **2003.** 21(3-4): p. 151-160.

192. **Irani, M., et al.,** *Vitamin D decreases serum VEGF correlating with clinical improvement in vitamin D-deficient women with PCOS: a randomized placebo-controlled trial.* **2017.** 9(4): p. 334.
193. **Yussif, N.M., et al.,** *Evaluation of the Anti-Inflammatory Effect of Locally Delivered Vitamin C in the Treatment of Persistent Gingival Inflammation: Clinical and Histopathological Study.* **2016.** 2016(1): p. 2978741.
194. **Chen, Y., et al.,** *Vitamin C mitigates oxidative stress and tumor necrosis factor-alpha in severe community-acquired pneumonia and LPS-induced macrophages.* **2014.** 2014(1): p. 426740.
195. **Ojaimi, S., et al.,** *Vitamin D deficiency impacts on expression of toll-like receptor-2 and cytokine profile: a pilot study.* **2013.** 11: p. 1-7.
196. **Giovannini, L., et al.** *1, 25-dihydroxyvitamin D 3 dose-dependently inhibits LPS-induced cytokines production in PBMC modulating intracellular calcium.* in *Transplantation proceedings.* **2001.** Elsevier Science Publishing Company, Inc.

ÖZGEÇMİŞ

İlköğrenimini Mimar Kemal İlköğretim Okulu'nda; lise öğrenimini 2013 yılında Adana Koleji Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 2019 yılında Başkent Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden mezun oldu. 2021 yılında Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitime başladı ve halen görevine devam etmektedir.

