

T.C.

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



D VİTAMİNİ EKSİKLİĞİ OLAN BİREYLERİN
TİTANYUMLA HAZIRLANMIŞ TROMBOSİTTEN ZENGİN
FİBRİN YAPILARININ İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

ESRA ATEŞ YILDIRIM

TEZ DANIŞMANI

Doç.Dr. Gülbahar USTAOĞLU

BOLU, TEMMUZ - 2021

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 18/07/2010 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 9 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 2020/323 karar sayısı ile etik izin alınmıştır.

ESRA ATEŞ YILDIRIM

ÖZET

D VİTAMİNİ EKSİKLİĞİ OLAN BİREYLERİN TİTANYUMLA HAZIRLANMIŞ TROMBOSİTTEN ZENGİN FİBRİN YAPILARININ İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

Bu klinik çalışmanın amacı, vitamin D eksikliği olan ve sağlıklı optimal vitamin D seviyesine sahip bireylerden elde edilen T-PRF membranların makroskopik özelliklerini, kimyasal bozunma miktarlarını ve fibrin ağ yapılarını değerlendirmektir.

Çalışmamız vitamin D eksikliği olan 24 birey ve vitamin D seviyesi optimal olan 24 birey olmak üzere toplam 48 birey üzerinde gerçekleştirildi. Elde edilen T-PRF membranlar ağırlık, en, boy, degradasyonla bozunma miktarı, SEM ve ışık mikroskopuyla fibrin ağ deseni parametrelerine göre değerlendirildi.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, D vitamini eksikliği olan bireylerin zamana bağlı makroskopik verilerinin değişimi karşılaştırıldığında, T-PRF membran ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı artış görüldü ($p=0,047$). Gruplar arası T-PRF membran ağırlıklarının karşılaştırılmasında ise, kontrol grubu test grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu ($p=0,013$). Grup içi zamana bağlı ve gruplar arası değerlendirilen en, boy ve degradasyon parametreleri arasında anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,005$). SEM incelemesinde vitamin D eksikliği olan bireylerin kontrol grubuna kıyasla fibrin yapılarının daha ince, immatür ve devamlılık göstermediği görüldü. Grup içi zamana bağlı değerlendirilmede ise vitamin D eksikliği olan bireylerin fibrin yapılarının daha kalın ve matür hale geldiği tespit edildi. Vitamin D eksikliği olan bireylerin fibrin ağ desen skorları, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulundu ($p<0,001$). Vitamin D düzeyi eksik olan bireylerin fibrin ağ desen skorları, vitamin D düzeyi optimal seviyeye geldikten sonra anlamlı düzeyde düşüş gösterdi ($p<0,001$).

Çalışmamızda artan D vitamini düzeylerinin fibrin kalınlığını, olgunlaşmasını ve ağırlığını artırdığı gözlemlendi. Ancak elde edilen T-PRF membranların genişlik, uzunluk ve bozunma parametrelerinde herhangi bir farklılık gözlenmemiştir.

ANAHTAR KELİMELE: degradasyon, fibrin ağ yapısı, SEM, T-PRF, vitamin D eksikliği

ABSTRACT

IN VITRO INVESTIGATION OF TITANIUM PREPARED THROMBOCYTE-RICH FIBRIN STRUCTURES OF VITAMIN D DEFICIENCY INDIVIDUALS

The aim of this clinical study was to evaluate the macroscopic properties, chemical degradation amounts and fibrin network structures of T-PRF membranes obtained from individuals with vitamin D deficiency and healthy optimal vitamin D levels.

Our study was carried out on a total of 48 individuals, 24 individuals with vitamin D deficiency and 24 individuals with optimal vitamin D levels. Obtained T-PRF membranes were evaluated according to weight, height, amount of degradation by degradation, fibrin network pattern parameters with SEM and light microscopy.

According to the statistical analysis results, a statistically significant increase was observed in T-PRF membrane weights when the time-dependent macroscopic data of individuals with vitamin D deficiency were compared ($p=0.047$). When comparing the T-PRF membrane weights between the groups, the control group was found to be statistically significantly higher than the test group ($p=0.013$). There was no significant difference between the height and degradation parameters evaluated within the group depending on the time and between the groups ($p>0.005$). In the SEM examination, it was observed that the fibrin structures of the individuals with vitamin D deficiency were thinner, immature and did not show continuity compared to the control group. In the intra-group evaluation, it was determined that the fibrin structures of individuals with vitamin D deficiency became thicker and more mature. Fibrin mesh pattern scores of individuals with vitamin D deficiency were found to be higher than the control group ($p<0.001$). Fibrin mesh pattern scores of individuals with vitamin D deficiency decreased significantly after vitamin D level reached the optimal level.

In our study, it was observed that increasing vitamin D levels increased fibrin thickness, maturation and weight. However, no difference was observed in the density, width, length and degradation parameters of the obtained T-PRF membranes.

KEYWORDS: degredation, fibrin network pattern, SEM, T-PRF, vitamin D deficiency

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
TABLO LİSTESİ	vii
FOTOĞRAF LİSTESİ	viii
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	ix
TEŞEKKÜR	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 PERİODONTAL HASTALIK	3
2.1.1 Periodontal Hastalıkların Patogenezi	4
2.1.2 Periodontal Hastalıkların Cerrahi Olmayan Tedavisi.....	5
2.1.3 Periodontal Hastalıkların Cerrahi Tedavisi	6
2.2 TROMBOSİTTEN ZENGİN ÜRÜNLER.....	7
2.3 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin İçeriği.....	8
2.3.1 Trombositler	8
2.3.2 Lökositler.....	9
2.3.3 Büyüme Faktörleri	10
2.3.4 Sitokinler	12
2.3.5 Fibrinojen	12
2.3.6 Fibrin	13
2.4 Trombositten Zengin Kan Ürünleri ve Tarihsel Gelişimi.....	13
2.4.1 Trombositten Zengin Plazma(TZP\PRP)	15
2.4.2 Trombositten Zengin Fibrin(PRF\L-PRF\L-PRF).....	16
2.4.3 İleri Trombositten Zengin Fibrin(A-PRF\A-PRF.....	18
2.4.4 Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin(I-PRF\I-PRF).....	19
2.4.5 Konsantre Büyüme Faktörü(CGF)	20
2.4.6 Titanyum Trombositten Zengin Fibrin(T-PRF\T-PRF.....	21
2.4.7 PRF'nin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri.....	22
2.4.8 PRF'nin Osteojenik Etkileri	23
2.4.1 PRF'nin Anjiyogenez Üzerine Etkileri	23
2.4.2 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları	23
2.5 VİTAMİN D	27
2.5.1 Vücuttaki Vitamin D'nin Emilimi, Depolanması ve Taşınması.....	28
2.5.2 Vitamin D Seviyesinin Tespiti	28
2.5.3 Vitamin D Eksikliği.....	29
2.5.4 Vitamin D Reseptörü	31
2.5.5 Vitamin D'nin Biyolojik Etkileri.....	33
2.5.6 Vitamin D ve Periodontal Hastalıklar	35

2.5.7 Vitamin D ve Osseointegrasyon	35
2.5.8 Vitamin D ve Yara İyileşmesi	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1 Çalışma Tasarımı Ve Yönetimi	39
3.2 Bireylerden Kan Alınması	40
3.3 T-PRF ‘nin Elde Edilmesi	41
3.4 Makroskopik Analiz	43
3.5 Histolojik inceleme	45
3.6 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İncelemesi	46
3.7 T-PRF’nin PBS Solüsyonunda Degredasyonu	48
3.8 İstatistiksel Analiz	49
4. BULGULAR	51
4.1 Demografik Bulgular	51
4.2 Hastaların Kan Parametlerinin Karşılaştırılması	51
4.3 Makroskopik Veriler Kimyasal Analizler	54
4.4 Fibrin Ağ Deseni Skoru	55
4.4.1 Işık Mikroskobu Altında Histolojik İnceleme Sonuçları	57
4.5 Taramalı Elektronmikroskobu (SEM) Analizi	58
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	69
7. KAYNAKLAR.....	72

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1:Santrifüj işlemi sonrası PRF tüpteki tabakalar	17
Şekil 3:T-PRF'nin histomorfometrik ölçüm sonucu (129)	22
Şekil 4: D vitamini metabolizması ana adımları (172, 173).	28
Şekil 5: 1,25(OH)2D3'ün VDR aktivasyonu yoluyla, hedef hücrelere, fizyolojik ve farmakolojik etkileri (194)	32



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1: 25 OH vitamin D seviyeleri (ng/ml) (37)	29
Tablo 4.1: Çalışmaya katılan bireylerin demografik bilgileri	51
Tablo 4.2: Vitamin D eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. ay kan parametrelerinin ortalaması	52
Tablo 4.3: D vitamin eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. Ay kan parametrelerinin karşılaştırılması	52
Tablo 4.4: D vitamin eksikliği olan bireylerin kan parametrelerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	53
Tablo 4.5: D vitamin eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. ay T-PRF'lerinin makroskopik ve kimyasal bozulma verilerinin ortalaması	54
Tablo 4.6: Vitamin D eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. ay T-PRF'lerinin makroskopik ve kimyasal bozunma verilerinin karşılaştırılması ...	54
Tablo 4.7: D vitamin eksikliği olan bireylerin T-PRF'lerinin makroskopik ve kimyasal özelliklerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması	55
Tablo 4.8: Vitamin D eksikliği olan hastaların başlangıç(T0) ve 3 ay sonrasındaki(T3) fibrin ağ skoru ortalaması	56
Tablo 4.9: Test grubu içi fibrin ağ skorunun değerlendirilmesi	56
Tablo 4.10: Fibrin ağ skorlamasındaki T0 ve T3 gurubu arasındaki dağılım ...	56
Tablo 4.11: Test ve kontrol gruplarının fibrin skorlamasının ortalaması	57
Tablo 4.12: Test ve kontrol gruplarının fibrin ağ desen skorlarının karşılaştırılması	57

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1: Bireylerden kan alınması ve santrifüj işlemine hazırlanması.....	41
Fotoğraf 3.2: IntraSpin™ masa üstü santrifüj cihazı	42
Fotoğraf 3.4: PRF kutusu ve kalınlık standrdizasyonunda kullanılan 1mm kalınlığındaki plakalar.....	43
Fotoğraf 3.5:T-PRF membran eldesi	43
Fotoğraf 3.6: T-PRF membranların ağırlık ölçümü için kullanılan cihaz.....	44
Fotoğraf 3.7:T-PRF membranların cetvelle en boy ölçümü	44
Fotoğraf 3.8: A: T-PRF'nin makas yardımıyla dikey kesimi,B:T-PRF'nin patolojik inceleme için bez poşete koyulması,C: T-PRF'nin %2,5'lik guluteraldehite alınması,D: T-PRF %7.4 PBS solüsyonuna alınışı45	
Fotoğraf 3.9: A:T-PRF membranın doku kasetine koyulup numaralandırılmış görüntüsü,B: Parafin bloklara gömülmüş T-PRF'nin görüntüsü,C: Parafin bloklardan kesit elde eden mikrotom cihazı (Leica RM2255)	46
Fotoğraf 3.10: A: Numunelerin incelendiği taramalı elektron mikroskobu (ZEİSS GEMİNİ 500, ALMANYA), B: Altın/paladyum kaplanmış numunelerin görünümü, C: SEM görüntülerinin kayıt altına alındığı bilgisayar ortamı.....	48
Fotoğraf 3.11: T-PRF membranların orbital çalkalama cihazındaki yerleşimi	49
Fotoğraf 4.1: A:Vitamin D eksikliği olan bireylerin ışık mikroskobunda x400'lük büyütmedeki görüntüleri B:3 ay vitamin D takviyesi alan bireylerin ışık mikroskobuyla x400'lük büyütme görüntüleri.....	58
Fotoğraf 4.2: A:Vitamin D eksikliği olan bireylerin(test grubu) ışık mikroskobunda x400'lük büyütmedeki görüntüleri B:Vitamin D seviyesi optimal olan bireylerin(kontrol grubu) ışık mikroskobuyla x400'lük büyütme görüntüleri	58
Fotoğraf 4.3: (A:X2000 büyütme görüntüleri B:X5000 büyütme görüntüleri c:10000 büyütme görüntüleri (Üst kısımda sarı olarak işaretli vitamin D eksikliği olan bireyin başlangıç görüntüsü iken alt kısımdaki yeşil işaretli görüntü 3. Ay takviye sonrasını göstermektedir.)	59
Fotoğraf 4.4: Kontrol grubundaki bir bireyin fibrin ağ yapısı görüntüsü sırasıyla A:X10000'lik büyütme B:x5000'lik büyütme C:2000'lik büyütme	59
Fotoğraf 4.5: Vitamin D eksikliği görülen bireylerde sakız benzeri yapıların okla gösterilmesi	60

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

ALP	: Alkalen fosfataz
A-PRF	: İleri Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin
Ca	: Kalsiyum
CGF	: Konsatre Büyüme Faktörü
dk	: Dakika
EGF	: Epitelyal Büyüme Faktörü
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
g	: Gram
HTC	: Hemotokrit
IGF	: İnsülin Kaynaklı Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökün
INR	: International Normalized Ratio (Uluslararası Normalleştirilmiş Oran)
I-PRF	: Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin
KVH	: Kardiyovasküler Hastalık
L-PRF	: Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin
LPS	: Lipopolisakkarit
L-TZP	: Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
Mm³	: Milimetre küp
MPV	: Trombosit volümü
nm	: Nanometre
NSAİ	: Nonsteroid Antiinflamatuvar İlaç
PAI-1	: Plazminojen aktivör inhibitör-1
PBS	: Phosphate Buffered Salina (Fosfat Tamponlu Tuzlu Su)
PDAF	: Trombosit Kaynaklı Anjiogeneze Faktörü
PDEGF	: Trombosit Kaynaklı Epitelyal Büyüme Faktörü
PDGF	: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü
PDW	: Trombosit dağılım genişliği
PLT	: Trombosit
P-PRF	: Saf Trombositten Zengin Fibrin

PRF	: Platelet Rich Fibrine (Trombositten Zengin Fibrin)
PTH	: Parathormon
RBC	: Kırmızı kan hücresi
rpm	: Revolutions per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
SEM	: Scanning Electron Microscope (Taramalı Elektron Mikroskobu)
sn	: Saniye
TGF-β	: Transforming Growth Factor (Dönüştürücü Büyüme Faktörü)
TNF- α	: Tümör Nekroz Faktörü Alfa
T-PRF	: Titanyum Trombositten Zengin Fibrin
t-PA	: Doku plazminojen aktivatörü
TZP	: Trombositten Zengin Plazma
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Uv	: Ultraviyole
VDR	: Vitamin D Reseptörü
WBC	: Beyaz kan hücresi
25-OH-D	: 25 Hidroksi Kolekalsiferol

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yanımda olan, desteğini, bilgisini ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen, insani ve ahlaki değerlerini örnek aldığım çok kıymetli danışman hocam Doç.Dr. Gülbahar USTAOĞLU'na ve deneyimlerini esirgmeden paylaşan değerli hocam Doç.Dr Şadiye GÜNPINAR'a ,

Bu çalışmayı yapmamızda her türlü bilgi ve yardımlarıyla destek veren Prof.Dr Mustafa TUNALI'ya

Her türlü destekleriyle yanımda olan değerli çalışma arkadaşlarım Özkan ARIÖZ, Ayşe Sinem SEVİNÇ, Zeynep AKGÜL, Didar TORLAK'a ve Ebru ÖZKAN BÜTÜN'e

Özveri ve güleryüzle çalışmamı sağlayan kliniğimizin değerli personeli Fatma BURAN, Fatma ÖZGÜL, Canan ŞAHİN ve Nihal KAYA'ya,

Her zaman ve her konuda yanımda olan annem Emine ATEŞ, babam Orhan ATEŞ, kardeşim Emre ATEŞ'e,

Bu sürecin tüm zorluklarını benimle yaşayan ve her zaman ılımlı tavrıyla beni dengileştiren canım eşim Emre YILDIRIM'a teşekkürü bir borç bilirim.



1. GİRİŞ

Vitamin D vücutta sentezlenebilen lipofilik, steroid türevli bir hormondur .Vitamin D ergokalsiferol ve kolekalsiferol olarak iki formda bulunur ancak insan vücudunda sentezlenen kolekalsiferoldür (1).

İnsanlar güneş ışığına maruz kalınca günlük D vitamini gereksiniminin % 95'ini vitamin D₃ olarak sağlarlar. Ancak günümüzde yeterli güneş ışığı almamak, besinsel olarak vitamin D alınmasının yetersiz olması, yaşlılık, granülomatöz hastalıklar, glukortikoid türevli ilaç kullanımı gibi bazı sebeplerden ötürü vücuttaki vitamin D seviyesi düşmektedir (2, 3).

Günümüzde vitamin D eksikliği oldukça sık görülmektedir. Vitamin D eksikliği tayininde kanda 25 OH vitamin D seviyesi kullanılır. Bu değer hem ekzojen hemde endojen vitamin D seviyesi tespitinde en güvenilir parametredir (3). Serumda 25 OH vitamin D seviyesi 20ng\ml altı eksiklik,20-30 ng\ml arası yetersizlik, 30≥ng\ml üstü değerler ise optimal olarak kabul edilmektedir (4).

D vitamin eksikliğinin kemik, diş, epidermis, tırnak gibi yapıları etkilediği bilinsede son yıllarda vitamin D₃ yetersizliğinde artmış kardiovasküler hastalık ve artmış pıhtılaşma arasında ilişkiyi destekleyen çalışmalardan veriler elde edilmiştir (5, 6).

Trombüs oluşumu, kan pıhtılaşma kademesini başlatmak için aktive faktör VIIa (FVIIa) ile birlikte doku faktörünü (TF) ortaya çıkaran hasarlı bir damar duvarı tarafından tetiklenmesiyle başlar. Ek olarak, azalmış fibrinoliz ve artmış trombosit yapışması trombüs oluşumuna katkıda bulunabilir. Vitamin D trombomodülinin yukarı regülasyonunu ve doku faktörünün aşağı regülasyonu ile trombüs oluşumunu azaltır (7). D vitamini seviyelerinin PAI-1 seviyeleri ile ters ilişkili olduğu t-pA ile doğru orantı gösterildiğinden, D vitamininin fibrinolitik aktivite ve vasküler endotelin bütünlüğüyle de ilişkilidir (6-12). Bu sebepler vitamin D'nin vücuttaki seviyesinin hem trombus hemde fibrinoliz mekanizmasını etkileyebileceğini göstermiştir.

Trombositten zengin fibrin (PRF) ilk olarak Fransa'da Choukroun ve ark.tarafından geliştirilmiştir (13). Tıp ve diş hekimliğinde birçok alanda kullanımı

bulunmaktadır. Diş hekimliğinde başlıca yara iyileşmesinde, greft mataryelleriyle etkinliğin artırılmasında, kemik içi ve furkasyon defektlerinde, dişeti çekilmelerinde, palatal bölgede verici bölgeye, alveol socketin korunması gibi birçok nedenle kullanımı mevcuttur (14-16).

Choukroun'un PRF'si zengin lökosit içeriğinden dolayı sonradan, L-PRF olarak da isimlendirilmiştir (17). L-PRF'de venöz kanın, antikoagülan içermeyen 10 ml tüplere alınarak, 2700 rpm' de 12 dk santirfüj edilmesiyle elde edilir (18). Antikoagülansız cam tüpte, trombosit aktivasyonu ve fibrin polimerizasyonu, kanın camdaki silika ile temasından hemen sonra meydana gelir ve böylece koagülasyon süreci başlar (19). Ancak bazı araştırmacılar silika aktivatörlü camdan kaynaklı sağlık tehlikesinden endişe duymaktadır (20). Tüpteki silika partikülleri buffy-coat (ince beyaz kan hücreleri), fibrin ve trombositlerden zayıf tabakalarda asılı kalacak kadar küçük partiküllüdür. Bu ürünler tedavide kullanıldığında hastalara silika partikülleri ulaşabilir (21).

Bu sebeple Tunalı ve ark. 2013 yılında titanyum tüpte hazırlanmış T-PRF'yi tanımladılar. T-PRF, geleneksel prosedüre benzer şekilde, herhangi bir antikoagülan içermeyen titanyum tüplere hemen alınan 10 ml venöz kanın 2700 rpm de 12 dakika santrifüj edilmesiyle elde edilmektedir.. Elde edilen fibrin, geleneksel PRF'ye kıyasla daha kalın, daha belirgin ve daha sıkı ağ yapısına sahip olup, dokudaki rezorpsiyon süresi ise daha uzundur (21).

Pıhtı yara iyileşmesinin ilk basamağını oluşturmaktadır. Pıhtının yapısındaki değişiklikler yara iyileşmesini etkileyebilir. Bu sebeple kandaki D vitamini seviyesinin T-PRF membranının makroskopik yapısını, kimyasal bozunma miktarını, fibrin ağ yapısındaki değişiklikleri incelemeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 PERİODONTAL HASTALIK

Periodonsiyum, dişleri destekleyen dokular olan dişeti, periodontal ligament, sement ve alveol kemiğin oluşturduğu bir bütündür. Periodontal hastalıklar bu dokuların hasar sonucu oluşur (22). Periodontal hastalık patojen mikroorganizmaların neden olduğu dişin destek dokularını etkileyen, ilerleyen ataşman kaybı, kemik rezorpsiyonu, cep gelişimi ve/veya dişeti çekilmesiyle karakterize kronik enfeksiyöz bir hastalıktır. Dünya popülasyonunu %10-15'ini etkileyen bu hastalıklar, diş kaybının en önemli sebeplerinden biri olarak kabul edilmektedir (23). Periodontal hastalığın primer etyolojik faktörü, mikrobiyal dental plak ve ağız florasında bulunan spesifik patojen mikroorganizmalardır. Yapılan çalışmalarda, ağız florasında 700'den fazla farklı tür mikroorganizmanın kolonize olabildiği gösterilmiştir (24). Peridontal dokuların patojen mikroorganizmalara vereceği cevap periodontal hastalığın oluşmasında ve ilerlemesinde önemlidir. Periodontal hastalık mikrobiyal dental plak ve konak cevabı arasındaki dengenin bozulması sonucu ortaya çıkmaktadır. Bunun yanında sistemik hastalıklar, genetik, sigara, stres gibi çeşitli risk faktör ve belirleyicilerinde etkilendiği gösterilmiştir (25).

Gingivitis, mikrobiyal dental plak birikimini takiben birkaç gün içinde meydana gelir. Dental plağın uzaklaştırılması sonucu geri dönüşümlü olan gingivitis, dişetinde gelişen enfeksiyonun ilerlemesiyle bağ dokusu ve alveol kemiği kaybı ile karakterize olan periodontitis gelişir (26). Her periodontitisin öncesinde gingivitisin olması zorunlu olmakla beraber, her gingivitis vakası uzun yıllar tedavi edilmesede periodontitis ile sonuçlanmaz (27).

Periodontitis gram negatif bakterilerin sebep olduğu multifaktöryel bir hastalıktır. Alveoler kemik kaybıyla karakterize olup genellikle ağrısız ve asemptomatiktir. Kemik rezorpsiyonu, supragingival ve subgingival diştaşı oluşumu, plak birikimi, diş etinde oluşan renk, şekil, kıvam değişikliği, sondlamada kanama, periodontal cep oluşumu ve/veya diş eti çekilmesiyle birlikte gözlenen ataşman kaybı, mobilite ve diş kaybı olarak tanımlanır. Hem horizontal hem vertikal kemik kaybı görülebilmektedir (27-29).

2.1.1 Periodontal Hastalıkların Patogenezi

Patogenez hastalığın ilerleyişini tanımlamaktadır. Periodontal hastalığın patogenezi, doğal ve kazanılmış immün cevabı içeren oldukça karmaşık enflamatuvar bir süreçtir (30).

Dişetinin kenarındaki mikrobiyal dental plak birikim sonucunda gingivitis gelişir (31). Damardaki vazodilatasyonla dişetini rengi kırmızılaşır, inflamasyon sonucunda ödeme bağlı olarak dişetini keskin kenar formu bozulur ve şiş yuvarlak form alır. Keratinizasyonun azalması ve bağ dokusunda kollajen kaybına sonucunda sıkılığını kaybeden dişeti yumuşak bir hal alır. Sağlıklı dişetinde bulunan stipling (portakal kabuğu) görüntüsü iltihaba bağlı olarak bozulur ve düz parlak bir hal alır (32).

Periodontitisin oluşması ve ilerlemesi için hastalığa yol açan patojen mikroorganizmaların ortamda olması gerekir. Periodontal mikroorganizmaların patojenite gösterebilmeleri için en az üç özelliğinin olması gerekmektedir. Bunlar mikroorganizmaların periodontal dokularda koloni oluşturabilmesi, konağın antibakteriyel savunma mekanizmalarını aşabilmesi ve direkt olarak doku yıkımına neden olabilecek maddeler salgılama yeteneğidir (27, 30).

Periodontal hastalıkta tespit edilen patojen mikroorganizmalar gram negatif anaerobik basiller, bazı koklar ve büyük oranda anaerobik spiroketlerden oluşmaktadır (30, 33).

Mikrobiyal dental plak, aerob ve anaerob bakteri türleri içeren ve bu türlerin organize olduğu kompleks bir ekosistemdir (34). İlk olarak ortama gram (+) koklardan oluşan bakteri biyofilmi oluşur, dental plağın olgunlaşmasıyla birlikte gram (-) anaerob bakteri türleri baskınlaşır. Gram (-) anaerob bakteriler periodontal doku yıkımıyla yakından ilişkilidir. Bu bakteriler özellikle *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides* ve *Porphyromonas*’ın çeşitli türleridir (35).

Bakterilerin hücre duvarında bulunan ve periodontal dokularda virulans faktörü olan lipopolisakkaritler (LPS) doğal immün yanıtı tetiklerler (36). Biyofilm içinde bulunan LPS diş etindeki mikrosirkülasyonu artırır. Endotel hücrelerinden

LPS ile aktivasyon sonucunda IL-1, IL-3 ve TNF- α gibi sitokinler salgılanır. Bu sitokinlerin salınımıyla beraber ilk nötrofiller, takiben monositler ve lenfositler kan damar duvarından çıkarak iltihabi hücre infiltratını oluştururlar. Aktive olduktan sonra hücrelerden salgılanan MMP enzimleri, kollajen ve bağ dokusu ekstrasellüler matriksinin yıkımına sebep olur ve periodontal cep oluşumu gerçekleşir. Periodontal lezyonun ilerlemesiyle konak hücreleri olan fibroblast, epitel, endotel hücreleri de doku yıkımına neden olan sitokinleri ve enzimleri salgılamaya başlarlar. Aktive olan makrofajlar ve fibroblastlardan salınan prostaglandin-E2, IL-1, IL-3, IL-6 ve TNF- α gibi sitokinlerin sonucunda alveolar kemik yıkımı görülür (30).

2.1.2 Periodontal Hastalıkların Cerrahi Olmayan Tedavisi

Gingival ve periodontal hastalığa neden olan mikrobiyal etiyolojiyi ve faktörleri ortadan kaldırmak hastalığın ilerlemesini engellemek, durdurmak periodontal tedavinin ana amacıdır (37). Periodontal tedavinin ilk basamağını hastanın plak kontrolü ve hekim tarafından yapılan diş yüzeyi temizliği, kök yüzeyi düzleştirme işlemleri oluşturmaktadır (38). Diş yüzeyi temizliği ve kök yüzeyi düzleştirme işlemlerini takiben klinik ataşman kaybında, sondalama derinliğinde ve klinik enflamasyon seviyesinde azalma amaçlanır (39). Hastalarda supragingival plak kontrolü oral hijyen eğitimi, sonik\ultrasonik aletlerle veya el aletleriyle diş yüzeyi eklentilerinin uzaklaştırılması sağlandıktan sonra subgingival plak kontrolüne geçilir.

Subgingival plak kontrolü el aletleri başta olmak üzere, sonik-ultrasonik kazıyıcılar, lazer ve air-powder polishing cihazları kullanılabilir (40).

PRF diş hekimliğinde birçok alanda kullanımı bulunmaktadır. Özcan ve ark. 2020 yılında 12 hasta üzerinde cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek cep içi PRF uyguladılar. Yapılan çalışmada test grubu, 3 ve 6. ayda kontrol grubuna göre önemli ölçüde daha fazla sondalamada cep derinliğinde azalma, daha yüksek klinik ataşman kazanımı ve daha az dişeti çekilmesi gösterdiğini buldular (41).

Vučkovic ve ark. 24 hasta üzerinde cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin ile yaptıkları çalışmada, tek

başına başlangıç periodontal tedavisine kıyasla, başlangıç periodontal tedaviye ek I-PRF uygulamasının tüm klinik parametrelerde anlamlı iyileşme gösterdiği kanıtlanmıştır (42). Bu ve benzeri çalışmalar periodontal tedaviye ek trombosit zengin ürünlerin kullanılabileceğini göstermiştir.

2.1.3 Periodontal Hastalıkların Cerrahi Tedavisi

Cerrahi olmayan periodontal tedavide bazen yeterli görüş sağlanamadığından etkili bir şekilde subgingival eklentiler yeterince temizlenememektedir. Cep derinliğinin fazla olduğu, kök anatomisinin uygun olmadığı durumlarda cerrahi periodontal tedaviye geçilir. Diğer yandan şiddetli periodontitis vakalarında cerrahi olmayan yaklaşımlar sonucunda inflamasyonun belirtileri etken ortadan kaldırılamadığı için devam edebilmektedir (43). Diştaşını etkin şekilde temizlemek ve düzgün bir yüzey oluşturmak amacıyla kök düzeltme işlemlerine ilave olarak flep kaldırılarak tedavi yapılabilir.

Flep kaldırılması ile alveoler kemik açığa çıkar ve hekime direkt görüş imkanı sağlar. Ayrıca doku travmasının daha az olması, kök kazınması ve düzleştirilmesinin daha etkin yapılabilmesine olanak sağlamaktadır. Direkt görüş imkanı ile ortaya çıkan kemik defektlerinin rezeksiyon ve rejenerasyonu sağlanır. Sonuç olarak elimine edilemeyen periodontal cepler elimine olur ve yumuşak doku konturları düzeltilebilir (43).

Sharma ve ark 18 hasta üzerinde 36 nolu dişlerdeki furkasyon II defektlerinde yaptığı çalışmada flep cerrahisi ve flep cerrahisine ek PRF uygulaması yapmışlardır. Tedaviden 9 ay sonra değerlendirmede sondalamada kanama, plak indeksi, kanama indeksi, klinik ataşman seviyesi, radyografik kemik defekti boyutları, marjinal dişeti seviyelerinde PRF ve flep cerrahisinin birlikte uygulandığı hastalarda anlamlı derecede iyileşme oranı yüksek bulunmuştur (44).

Bir diğer çalışmada Ajwani ve ark 20 denek üzerine 40 kemik içi defekte flep cerrahisi ve flep cerrahisiyle birlikte PRF uygulaması yapılmıştır. Parametre olarak plak indeksi, sulkus kanama indeksi, sondalama derinliği, klinik ataşman seviyesi, dişeti marjinal seviyesi, alveolar kret tepesi defekt tabanı arası mesafe, mine sement sınırı ve defect tabanı arası mesafe kullanılmıştır. Marjinal dişeti

seviyesi dışındaki tüm parametrelerde flep tedavisine ek PRF uygulaması başarılı bulunmuştur (45).

Çalışmalar periodontal cerrahi tedavide trombosit konsantrlerinin kullanımının avantajlı olduğunu göstermektedir.

2.2 TROMBOSİTTEN ZENGİN ÜRÜNLER

Kırk yılı aşkın zamandır kullanılan otolog olarak elde edilen trombosit konsantreleri, kanlanmanın doku rejenerasyonunun ilk basamağı olarak bilinmesiyle birlikte doku büyümesini desteklemek ve yeni damarlanmayı artırmak amacıyla büyüme faktörünün kaynağı olarak geliştirilmiştir (46).

Yara iyileşmesi dört aşamalı bir süreçtir. Bunlar sırasıyla pıhtılaşma, enflamasyon, proliferasyon ve remodeling olarak tanımlanır. Her faz çeşitli hücre tiplerini kapsar (47). Trombositlerin hemostaz ve fibrin pıhtı oluşumu sırasında önemli olan doku rejenerasyonunun erken evrelerini etkileyen ana bileşen olarak tanımlanmasıdır (48).

Kan diğer materyallerden elde edilemeyen hem hücresel hem de protein ürünlerini bulundurur ve terapötik ürünler içerir. Trombositler, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), pıhtılaşma faktörleri, adezyon molekülleri, sitokinler / kemokinler ile yara iyileşme sürecine dahil olan fibroblastlar, nötrofiller, makrofajlar ve mezenkimal kök hücrelerinin proliferasyonunu ve aktivasyonunu stimüle edebilen çeşitli diğer anjiyojenik faktörler gibi önemli büyüme faktörü salgıladıkları bilinmektedir (49).

Bu bulgular ışığında dokudaki yara iyileşmesini desteklemek amacıyla, tıp alanında birçok araştırmacı 90'lı yıllarda farklı santrifüjleme teknikleri ve protokollerini kullanarak çeşitli trombosit konsantrasyonlarının etkilerini araştırmıştır. Bu araştırmalar Whitman ve Marx gibi önde gelen klinisyen-bilim adamları tarafından diş hekimliğine tanıtılan “trombositten zengin plazma” (TZP) için alt yapı hazırlamıştır (14).

2.3 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin İçeriği

2.3.1 Trombositler

Son zamanlarda büyüme faktörlerinin yara iyileşmesine etkileri çalışmalarda ele alınmıştır. Trombositler büyüme faktörlerinin ana kaynağıdır. Trombositler megakaryositlerin sitoplazmik parçalanmasıyla oluşurlar. 1 mm³ kanda 150 – 400 bin trombosit vardır. Transfüzyon için uygulanan trombosit zengin plazma bir birimde 0,5 x 10¹¹ adet trombosit içerir (17). Kan dolaşımına katıldıklarında trombositler çekirdeksizdir ve bunun sonucunda ömürleri 7-10 gündür. Trombositler boyutlarının küçük olması ve şekilleri itibariyle kan damarı duvarına doğru devamlı olarak itilir ve olası bir endotel hasarında görev alacak şekilde en iyi şekilde pozisyonlanırlar (50-52).

Trombositler lizozomal, alfa ve yoğun olarak üç farklı tipte granül içerirler. Lizozomal granüller sindirim enzimlerini içerirler. Yoğun granüller adenosin difosfatın salgılanması ve depo işlevini üstlenirler, serotonin ve kalsiyum içerirler. Alfa granüller ise trombositlere özgü en temel granüllerdir. β -tromboglobulin veya özgün olmayan fibrinojen, fibronektin, trombospodin, immunoglobulinler, büyüme faktörleri, pıhtılaşma faktörleri, ve fibrinolizis inhibitörleri gibi proteinler içerirler. Bu granüller yara iyileşmesi ve hemoostaz sağlanmasında görev alırlar (53, 54).

Damar bütünlüğünün bozulmasıyla trombositler devreye girer ve pıhtılaşma sistemi aktive olur. Trombositler ilk endotel hasarı olan bölgede kollajen açığa çıkarırlar ve bu kollajenle etkileşime geçerek tromboplastini salgırlar. Bölgedeki birincil tıkaçın meydana gelmesi tromboplastinin, protrombini trombine, trombinin ise fibrinojeni fibrine dönüştürmesi sonucu olur (49, 55).

Yara iyileşmesi üzerinde de trombositlerde bulunan büyüme faktörleri ve sitokinler görev alırlar (56). Büyüme faktörleri, tamir ve rejenerasyon aşamasında bir dizi biyolojik sürece etki eden moleküllerdir (57). Endotel hasarı sonucu bölgede trombosit tıkaçı oluşur ardından trombositlerin degranülasyonu sonucu ortama birçok büyüme faktörü, koagülasyon faktörleri ve inhibitörleri, serotonin, histamin gibi birçok mediyatör salımı olur. Bu mediyatörler, hedef hücrede hücre

içi sinyal moleküllerini etkinleştirerek yara iyileşmesi ile ilgili gen bölümlerinin ekspresyonunu sağlarlar (51).

2.3.2 Lökositler

Bağışıklık sisteminde lökositler ölü doku artıklarını, mikroorganizmaları, yabancı partikülleri ürettikleri antikorlar veya fagositoz ile yok ederler. Kanda ortalama lökosit miktarı 4000–10000/ μ l' dir (58, 59). Lökositler; granülositler ve agranülositler olarak ikiye ayrılırlar. Bu guruplandırma sitoplazmalarında granül bulunup bulunmamasına göredir. Granülositler, kemik iliğinde bulunan miyeloidden oluşurlar, nükleusları loblu veya parçalı olması gereği polimorf nükleer lökosit olarak isim alırlar. Bu granüllerin sitoplazmalarının boyanması göre tekrar guruplandırılırlar. Boyanan lökositler:nötrofil,eizonofil,bazofildir (60).

Agranülositler (granülositelrin boyanmaması) lenfositler ve monositlerdir. Monositler, retiküloendotelyal sistemde gelişir, lenfositler ise lenfoid dokularda gelişirler (60).

Trombosit konsantrasyonlarındaki lökositler immun regülasyon işlevleri ve anti-enfeksiyöz etkilerinden ötürü önemlidir ve bu etki sitokinlerle sağlanmaktadır (60). Lökositlerin başlıca görevi enflamasyonla ilgili olsa da antienflamatuvar sitokinler ve opioid peptitler ile patolojik ağrı giderilmesinde de etkilidirler. Trombositten zengin kan ürünleri bu gibi özellikler sayesinde ağrı kesici olarak da etki gösterirler (61-63). Nötrofillerde bulunan jelatinaz, kollagenaz, elastaz, lizozim, miyeloperoksidaz ve serprosidin dokuda yıkım meydana getiren enzimleridir (64). Lökositler katabolik olaylarda yer alması trombositlerin ise anabolik olaylarda yer almasıyla vücutta bir denge olur (61).

Lökositlerin, antimikrobiyal etkilerinde trombosit konsantrasyonlarında önemlidirler. Lökosit bulundurma durumlarına göre iki grup oluşturulan PRF türünde antimikrobiyal etkinlikleri karşılaştırılmış ve araştırmada, , L-PRF uygulanmış hastalarda, lökosit bulundurmayan, trombosit zengin plazma uygulanmış vakalara kıyasla diren takılma ve göğüs yarası enfeksiyonu oluşma oranlarında azalma görülmüştür (65). Trombositten zengin kan ürünlerinde lökositlerin etkinliği lökositlerin konsantrasyonuna ve kalitesine bağlıdır PRF'lerin santrifüj sırasında hasarlanması, tüpün sert ani hareketi, uygun sıcaklıklarda

bulunmama ve uzun süre saklama içerisindeki lökositlere zarar verir. Bunun sonucunda patolojik bir enflamasyon başlar (62).

2.3.3 Büyüme Faktörleri

2.3.3.1 TRANSFORME EDİCİ BÜYÜME FAKTÖRÜ- β (TGF- β)

Sitokinler içerisinde en güçlü fibrosis TGF- β tarafından gerçekleştirilir. Trombositlerde ve kemik dokuda sayıca fazladır. TGF- β fibroblastların kemotaksisi, hücrelerden fibronektin ve kollajen üretimini indükler (66-68). Fibrogenesis etkisini, proteaz inhibitörleri artırması sonucu proteaz miktarını azaltarak ve kollajen yıkımını önleyerek etki etmektedir (69). TGF- β kemikte osteoblastların mitozunu, kemotaksisini sağlarken alkalen fosfataz, kollajen ve osteoblastlarda osteopontin sentezini sağlar. Böylece kemik yapımı artar. Osteoklastların inhibisyonunu sağlar bunun yanı sıra anjiyogenezisde de görev almaktadır (70).

2.3.3.2 TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ (PDGF)

PDGF trombositler, monositler, makrofajlar ve endotel hücrelerde sentez edilirler ancak asıl kaynağı trombositlerdeki α granülleridir.

PDGF mezenşimal orijinli fibroblast, glial hücreler, düz kas ve kemik hücrelerini stimüle eder. Kemikte osteoblast sentezini artırmakta ve kemikte mitojenik, kemotaktik etkilerde rol oynamaktadır. Aynı zamanda PDGF mitojenik ve kemotaktik aktiviteyle bağ dokusu büyümesini ve protein sentezini stimüle ederek, yara iyileşmesinde önemli rol oynamaktadır (50, 71, 72) .

Trombositlerin alfa granüllerinde yoğun olarak bulunur ve yara iyileşmesinde ortama ilk salınan büyüme faktörüdür. Trombositlerde yoğun salgılansa da endotel, monosit, makrofaj gibi hücrelerde ve kemik yapısı içinde de bulunmaktadır (57, 73, 74). Bu büyüme faktörü, mezenkimal hücreler için temel düzenleyici olmasının yanı sıra yara iyileşmesi esnasında ekstrasellüler matriksin (ECM) tekrardan yapılandırılması amacıyla kollajen üretimini uyarma görevi de vardır (75-77).

2.3.3.3 VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF)

VEGF başlıca anjiogenezden sorumlu büyüme faktörüdür. Anjiogenez rejenerasyonda ve yara iyileşmesinde görev alır. VEGF endotel hücrelerinin mitojenik aktivitelerini, Von-Willebrand faktörün (VWF) salınımını artırır ve prostosiklinin üretilmesini uyarır. Sistemik arterler için güçlü bir vazodilatör ve antiagregandır. Vasküler geçirgenliğin artmasında histaminden ve bradikinine göre daha fazla etkilidirler (78-80).

2.3.3.4 İNSÜLIN KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ (IGF)

Fibroblastlar ve osteoblastlar gibi birçok hücre tarafından sentezlenen IGF bağlayıcı proteinlerle kemik matriksi içerisinde depo edilirler. IGF, TGF- β ile birlikte osteoblastik aktivite ve yeni kemik sentezlenmesini arttırabilmek amacıyla bağlayıcı proteinlerden ayrılırlar. IGF'ler, osteojenik hücrelerin çoğalmasını ve bu hücrelerde bulunan alkalen fosfataz, kollajen, integrinlerin ve osteokalsin sentezini uyarırlar. Osteojenik hücrelerin farklılaşması ve çoğalmasını artırmasından ötürü, bu özelliği TGF- β gibi kemik yapım ve yıkım döngüsüne önemli katkı sağlamaktadır (79).

IGF birçok hücrenin farklılaşmasında ve çoğalmasında rol oynar. Hücrelerin matrikslerinde bulunan apoptotik uyarılara karşı hücreleri korur ve apoptozu düzenlerler (81).

2.3.3.5 FIBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜ (FGF)

Aslında isim olarak sadece fibroblastlara etki ettiği düşünülse de fibroblastlar başta olmak üzere osteoblastlar, kondroblastlar ve endotel hücreleri gibi bir takım hücreler üzerinde mitojenik etkilidir. Bunun yanında anjiyogenezde yer almaktadır. Anjiyogenezde gerek duyulan damar hücrelerinin çoğalmasını indükler ve fibroblastlardan kollajenaz üretimine yardım eder. Yara iyileşmesi sürecinde keratinosit hücrelerinin göçünü ve çoğalmasını yardımcı olur (82).

2.3.3.6 TROMBOSİT KAYNAKLI EPİTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (PDGF)

PDEGF kollagenaz sentezini, endotelial kemotaksiyi ve anjiogenezi uyarır. Mezankimal ve epitel hücrelerde çoğalmayı uyarırlar (83) .

2.3.3.7 TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ (PDGF)

Endotel hücrelerinde mitozu artırır. Yeni damar oluşumunu ve endotel geçirgenliğini artırır (84, 85).

2.3.4 Sitokinler

Sitokinler enflamatuar ve iyileşme sitokinleri olmak üzere ikiye ayrılırlar.

- Enflamatuar sitokinler:

IL-6, IL-1 β ve TNF- α enflamatuar sitokinlerin başlıcalarıdır. Bu sitokinler kemik yıkımı ve periodontal hastalıkların oluşumunda görev alırlar. T helper lenfositleri IL-1 β tarafından uyarılarak enflamasyon kontrol edilir. Örneğin: IL-1 β , TNF- α ile beraber yeni kemik formasyonunu engeller ve kemik yıkımını artırır. TNF- α , IL-1 ve IL-6 sentezini artırır enflamatuar hücrelerinin sitotoksitesini ve fagositoz kapasitesini IL-6 ve IL-1 sentezini artırırırlar. IL-6, T lenfositlerin aktivasyonunu sağlar, B lenfositlerin de antikor salınımını ve farklılaşmasını sağlar (86).

- İyileşme sitokinleri:

İyileşme sitokinleri IL-4 ve VEGF'dir. IL-4'ün görevi IL-1 β aracılığıyla gerçekleşen enflamasyonu engellemek ve iyileşmeye yardımcı olmaktır.(87)

VEGF endotel hücreleri üzerine etkilidir. PDGF, TGF- α ve TGF- β haricinde, VEGF'yi de uyarıcıların başlıca sebebi hipoksidir (88). VEGF endotelial hücre migrasyonu, proliferasyonu ve motilitesini uyararak anjiogenezi sürecinde yer almaktadır (89).

2.3.5 Fibrinojen

Fibrinojen koagülasyonun ardından oluşan bir son üründür ve fibrin monomerlerinin birincil molekülüdür. Fibrinojen normalde suda çözülebilmesine rağmen trombinin etkisi ile su içerisinde çözünemeyen fibrin yapıya dönüşerek yarada bulunan sikatriyel yapıyı meydana getirir. Fibrinojen doku yaralanmasından sonra makrofaj ve monositlerin aktivitelerini düzenler, iyileşme

sürecinde rejenerasyon ve enflamasyon reaksiyonları dengede tutar (90). Fibrin yapının üç boyutlu anatomisi ve fibrin ağ içerisinde kalan sitokinlerin aktiviteleri sonucu fibrin yapıda damarlanma gerçekleşir (91).

Trombositten zengin kan ürünlerinin içerisindeki fibrin ağının yoğunluğu ve biyokimyasal özellikleri bireyden elde edilen kanda bulunan fibrinojen ve trombin oranına göre değişkenlik göstermektedir. Trombin konsantrasyonunun yüksekliği hızlı polimerizasyona sebep olur ve sıkı bir ağ yapı meydana gelir. Fibrin ağının sıkı olması hücre göçünü ve sitokin salınımına engel olmaktadır. Bu durumun aksi ise yavaş polimerizasyon sonucu sitokin salınımının fazla ve hücre göçünü sağlayan esnek yapıda fibrin ağ oluşumudur (91-93).

Fibrinojen genetik çeşitliliğe sahip bir proteindir. Bireyin kendi kanından elde edilen PRF dışarıdan bir katkı maddesi eklenmez. PRF’de bulunan fibrinin polimerizasyon miktarı ve ağsı yapısı bireye özgüdür. Yalnız sığır teombini gibi maddelerle polimerize edilen trombosit zengin plazmanın (PRF) ağsı anatomisi, eklenen sığır trombinin niteliği ve miktarına göre farklılık gösterir bu sebeple bireye özgünlüğünden söz edilemez (61).

2.3.6 Fibrin

Fibrinojenin trombin ile aktivasyonu neticesinde oluşan protein yapı fibrindir. Fibrin trombositlerde ve plazmadaki α granüllerinde bulunur. Hemostaz sırasında trombositlerin agregasyonlarında rolü vardır. Trombosit tıkaçında doğal bir yapıştırıcı görevi gören fibrinden oluşan pıhtı, yeni damarlanma için bir çatı görevi üstlenmektedir (94).

Trombositten zengin kan ürünleri, yaralanma sonrasında trombosit tıkaçı oluşturmak, farklı sitokinler ve büyüme faktörleri salınımı ile iyileşmeye katkıda bulunurlar. Bu matriksin fonksiyonu, yapısı, fibrinojen konsantrasyonu, stabilizasyon zamanı, fibrin sıklılığı ve polimerizasyon derecesi uygulamanın yapıldığı dokunun rejenerasyon yeteneğini direk etkiler (95).

2.4 Trombositten Zengin Kan Ürünleri ve Tarihsel Gelişimi

Trombositten zengin biyomateryaller tıp ve diş hekimliğinde; bölgede hemostazın sağlanması, enfeksiyonların önüne geçebilmek, iyileşme sürecini hızlandırmak ve rejenerasyon etkinliği artırmak amacıyla kullanılmaktadır (55).

Otolog mataryel olarak kandan elde edilen trombosit ürünleri ilk olarak 1970’lerde ortaya çıkmıştır (96). Plazmadaki fibrinojen yoğunluğunun düşüklüğü ve trombositten yoksun olması, fibrin yapıştırıcıların biyolojik ve mekanik özelliklerini kötü yönde etkilemektedir. Bu sebeplerden günümüzde kullanımı bulunmamaktadır (55, 97, 98).

1997’de trombosit konsantreleri tanımlanmış ve literatürde “Trombosit jeli” olarak yer almıştır (99). Trombosit jeli’nde fibrin yapıştırıcılarına göre yaraların iyileşme hızını artırmak amaçlanmış ve gerçekleştirilen çalışmalarda trombositten zengin biyomateryallerin kemik rejenerasyonu üzerindeki önemi görülmüştür. Bu çalışmalar neticesinde trombosit jeli yerine “Trombositten zengin plazma (TZP/PRP)” terimi kullanılmıştır (57). PRP, içeriği fibrin yapıştırıcılarına göre büyüme faktörleri bakımından zengin bir materyaldir (100).

2001’de PRP’nin hem fiziksel dezavantajları hem de zorlu hazırlama sürecinden kaçınmak için Choukroun ve ark. tarafından “Trombositten zengin fibrin (TZF\PRF)” biyomateryalini geliştirmişlerdir (55). Bu yapı TZP gibi sıgır kaynaklı pıhtılaşma ürünleri içermemekte ve %100 otolog olması gerekçesiyle PRF’nin ikinci nesil trombosit konsantresi olarak kabul edilmiştir (55, 73, 101).

Sacco ve ark. 2006 yılında daha yoğun bir fibrin matriks ve daha fazla büyüme faktörü üretmek için antikoagülan içermeyen bir tüpte kanı santrifüj ederek “Konsantre büyüme faktörü (CGF)”nü geliştirdiler (102, 103).

Dohan ve arkadaşlarının 2009’da fibrin ve lökosit yoğunluklarının farklı olmasından dolayı bu materyelleri kategorize etmişlerdir (104)

saf trombositten zengin plazma (P-TZP)

saf trombositten zengin fibrin (P-PRF)

lökosit ve trombositten zengin plazma (L-TZP/ TZP)

lökosit ve trombositten zengin fibrin (L-PRF/ PRF)

Tunalı ve ark. ise 2013 yılında ‘‘Titanyum Trombositten Zengin Fibrin (T-PRF)’in gelişimiyle cam tüplerden hastaya ulaşılabilir olan silika parçacıklarını engellemeyi amaçlamışlardır. Titanyum tüpte gerçekleştirilen santrifüj işlemi sonucu cam tüpe benzer trombosit agregasyonu ve pıhtı oluşumu belirtilmiştir. Bununla beraber titanyumun trombosit aktivasyonunu tetiklemesinin cam tüpteki silikaya kıyasla daha iyi olduğu görülmüştür (21)

Choukroun ve ark. 2014 yılında yaptığı çalışmada lökosit yoğunluğu PRF’ye kıyasla daha fazla olan ‘‘ileri lökosit ve trombosit zengin fibrini (A-PRF)’yi geliştirmişlerdir (105).

Choukroun ve ark 2017 yılında, trombosit ve lökosit yoğunluğunun fazla olduğu sıvı formlarda olan enjekte edilebilir trombosit zengin fibrini (I-PRF) geliştirmişlerdir (106).

2.4.1 Trombositten Zengin Plazma(TZP\PRP)

TZP'nin amacı, en fazla trombosit ve ilişkili büyüme faktörlerini izole edip cerrahi sırasında yeniden kullanmaktır. Elde etme protokolleri değişse de 30 dakika ile 1 saat arasında değişiyordu ve osteoblastlar, bağ dokusu hücreleri, periodontal ligament hücreleri ve epitel hücreleri üzerinde doğrudan etkili olan %95 oranda trombosit içermektedir (107)

TZP ilk zamanlarda sık kullanılmasına rağmen TZP’yi sınırlayan bazı sınırlamaları vardı. TZP’yi elde etme yöntemi uzundu ve bu nedenle sıkı trombin veya kalsiyum klorür kullanarak pıhtılaşmasının önlenmesi gerekiyordu. Ama uzun sürede elde edilmesine rağmen ağız çene alanında kullanılmıştır. TZP’nin diğer dezavantajı ise allogreft ve ksenogreft gibi doğal olmayan materyellerle sıvı olması gereği kombine olması gerektiğiydi. Ayrıca TZP hızlı büyüme faktörü salınımı yapmaktaydı (108).

Bu sınırlamalardan dolayı yeni rejenerasyon materyelleri arayışına girilmiş ve daha iyi bir otojen materyal elde etmek amacıyla santrifüj süresini ve hızını değiştirilerek konsantre büyüme faktörü (CGF), geliştirilmiş trombosit zengin fibrin (A-PRF) ve enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin (I-PRF) gibi

mataryeller geliştirilmiştir (109, 110). Kullanılan bu farklı PRF mataryellerinin santrifüj protokolleri şöyledir:

1- PRF (L-PRF) 2700 rpm 12dk (101)

2- T-PRF 2700 rpm 12dk(21)

3- A-PRF 1500rpm 14dk 500(111)

4- CGF 2400-2700 rpm 12dk(103)

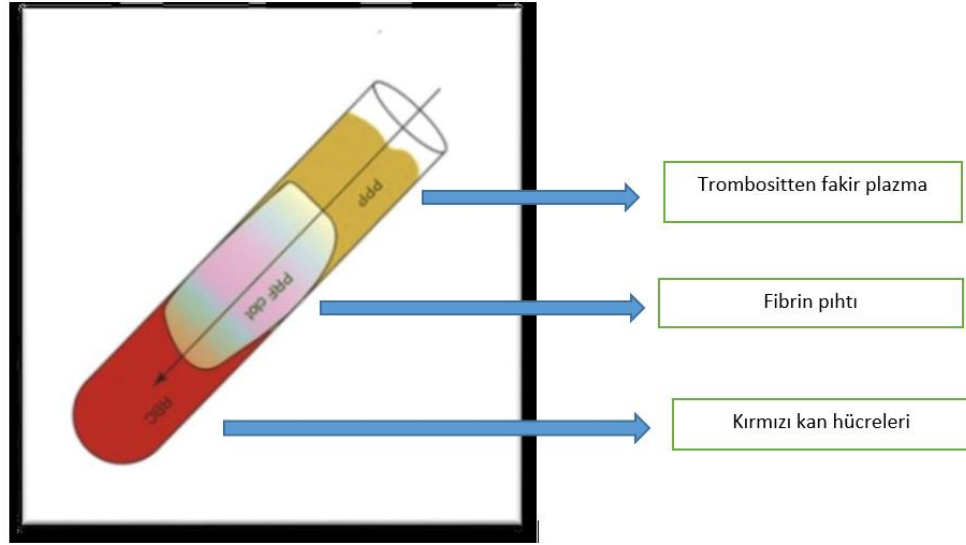
5- I-PRF 700 rpm 3dk(112)

2.4.2 Trombositten Zengin Fibrin(PRFL-PRFL-PRF)

PRF yani L-PRF, hazırlanması ve içeriği olarak herhangi bir yabancı madde veya pıhtılaşma faktörü içermeyen, hastanın kendi kanının santrifüj edilmesiyle elde edilen otojen bir materyaldir. Trombositten zengin fibrin ikinci nesil trombosit konsantresi olarak kabul edilmektedir. PRF kolay bir şekilde elde edilir. İlk olarak ağız içi ve yüz bölgesinde kullanılmak amacıyla Choukroun ve arkadaşları tarafından geliştirilmiştir.(13)

Choukroun'un PRF'si olarak bilinen L-PRF, lökosit ile trombosit açısından zengin, otojen bir biyomateryaldir. PRF (PRF) içerisindeki lökosit sayısının fazla olmasından dolayı L-PRF (lökosit ve trombosit zengin fibrin) olarak adlandırılır. Farklı elde edilmesinden dolayı PRF ikinci nesil trombosit konsantresi olarak da adlandırılmıştır. İçerisine herhangi bir antikoagülan veya sığır trombini eklenmeden elde edilmesinden dolayı otojen olarak kabul görmektedir (19).

Protokol, yalnızca tek santrifüj süreci ile 2700 rpm'de 12 dakikalık basit bir santrifüj protokolü kullanılarak geliştirilmiştir. Pıhtılaşma önleyici herhangi bir madde kullanılmadığı için kan alımını takiben santrifüj edilmelidir. Santrifüj işlemi sonucunda tüpte üç tabaka oluşur. Kırmızı kan hücreleri tüpün en alt kısmında, hücresiz plazma en üst kısımda ve lökositlerden ve trombosit zengin kısım da orta kısımda yer alır (93).



Şekil 1: Santrifüj işlemi sonrası PRF tüpteki tabakalar

Santrifüj işlemi sonucu elde edilen PRF pıhtı çıplak gözle bakıldığında esas gövdeyi oluşturan sarı fibrin kısım, sarımsı pıhtının altında yer alan kırmızı kısım ve bu iki kısım arasında bulunan 'buffy coat' olarak adlandırılan kısımdan oluşmaktadır (50).

L-PRF trombositlerin ve lökositlerin güçlü bir fibrin matrisi içinde üç boyutlu dağılımından oluşmaktadır. L-PRF hemen hemen tüm trombositler ile lökositlerin %50'sinden fazlasını içerir (113).

L-PRF birçok çalışma tarafından araştırılmıştır. Yapılan ilave araştırmalar fibrin maddesinin içeriğindeki beyaz kan hücrelerinin ve bu hücrelerin yara iyileşmesine belirgin olumlu katkılarının olduğunu göstermiştir. Bunun sonucunda LPRF ile yapılan cerrahi işlemlerde daha düşük enfeksiyon oranları ile daha olumlu klinik sonuçlar gözlemlenmiştir. Cerrahi esnasında L-PRF kullanmak; iyileşmenin ilk aşamalarında nötrofil ve makrofaj sayısını artırmakta, böylece nekrotik dokuların ve debrisin fagositozuna yardımcı olmaktadır. Ayrıca içinde bulunan sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin salınımıyla, rejenerasyonu tetiklemektedir (114).

L-PRF'nin yapısındaki üç temel bileşeni, doku yenilenmesine yardımcı olan ana bileşenlerdir. Bunlar lökositler, trombositler, kırmızı kan hücreleridir. L-PRF üç boyutlu fibrin matris yapısıdır ve içerdiği büyüme faktörleri bulunmaktadır.

Bunlar arasında transforme edici büyüme faktörü (TGF- β), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin kaynaklı büyüme faktörü (IGF) ve epidermal büyüme faktörü (EGF)'dür. Araştırmalar bu üç ayrı bileşenin her birinin L-PRF ile yara iyileşmesi için rejenerasyon açısından önemli olduğunu göstermiştir (50).

Santrifüjleme sonrasında L-PRF de trombositler, lökositler, makrofajlar, granülositler ve nötrofiller bir dizi hücre üç boyutlu fibrin matriksi içinde tutulur (50).

L-PRF'deki lökositler yara iyileşmesinde öncü rol oynayan bir diğer ana hücre tipidir. Yapılan çalışmalar doku rejenerasyonu sırasında lökositlerin güçlü etkisini ortaya çıkarmıştır (115).

L-PRF PRP ile karşılaştırıldığında daha fazla sayıda lökosit içerir. L-PRF'deki beyaz kan hücrelerinin miktarı %50 civarında gösterilmiştir ve daha yeni formülasyonlar ayrıca toplam lökosit sayısında artışlar göstermiştir (109).

IL-1 β , IL6, IL-4 ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi sitokinler salınır böylece lökositlerin enfeksiyöz etkilerini sağlar ve bu hücreler immün regülasyonu nedeniyle yara iyileşmesinde kilit rol oynarlar (116).

L-PRF'de bulunan başlıca lökositler ve diğer hücrelerin otolog etkisi, rejeneratif tedavi sırasında bir avantaj olarak düşünülmelidir.

2.4.3 İleri Trombositten Zengin Fibrin(A-PRF\A-PRF)

Choukroun'un protokolüne göre alınan kan cam tüplere konur ve sıkı bir fibrin oluşturulur. Santrifüjleme kuvveti yüksek kullanmak, yani 708 g'nın uygulanması gereklidir Bu santrifüjleme kuvvetinde oluşan fibrin; yoğun bir yapı gösterir ve hücresel dağılım paterni homojen değildir. Santrifüj protokolünde g kuvvetinin azaltılması (208G) sonucu geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (advanced platelet rich fibrin) ortaya çıkmıştır (117).

A-PRF L-PRF ile kıyaslandığında daha çok boşluğa sahip pöröz bir fibrin ortaya çıkmıştır ve hücreler daha homojen dağılım göstermiştir. Homojen dağılım daha çok trombositlerde görülmüştür. g kuvvetinin azaltılması sadece daha homojen bir hücresel dağılıma değil, bunun yanında içerikdeki enflamatuvar hücrelerin ve sayısının artmasına neden olmuştur (111).

Histolojik farelerde yapılan karşılaştırmalı bir çalışma sonucunda A-PRF'nin gözenekli yapısından dolayı vaskülarizasyonu ve hücresel penetrasyonu arttığı gösterilmiştir (112). Bununla birlikte L-PRF ve A-PRF arasında spesifik büyüme faktörlerinin salınımlarının kıyaslandığı bir çalışmada 10 gün boyunca salınımda bir farklılık gözlenmemiştir. Bu sebeple büyüme faktörü salınımını iyileştirmek için santrifüjleme süresinin önemli olduğu ve 208 g'de tutulan santrifüj kuvvetinin azaltılmasıyla aynı zamanda sürenin düşürülmesiyle A-PRF ortaya çıkmıştır. Hücresel dağılım paterni ve fibrin ağı yapısı A-PRF ile benzerdir. Büyüme faktörlerinin salınım paterni ise özellikle VEGF olmak üzere A-PRF ve L-PRF'e kıyasla gelişmiştir (118).

2.4.4 Enjekte Edilebilir Tromosit Zengin Fibrin(I-PRF\I-PRF)

I-PRF sıvı ve enjekte edilebilen bir PRF türevidir. I-PRF PRP ile karşılaştırıldığında, PRF'nin uygulamalarını sınırlayan jel formunda olmasıydı ve enjekte edilmesi gereken durumlarda uygulanamamasıydı. Doğrudan enjeksiyonların yanı sıra çeşitli biyomalzemelerin anjiyojenik potansiyellerini artırmak için kullanılacak enjekte edilebilir PRF-bazlı bir matriksin geliştirilmesi için klinik bir gereksinimdi. I -PRF bu ihtiyaçlar gereği Choukroun ve Ganaati tarafından 2017 yılında ortaya atıldı. Bu PRF türevinin bulunmasındaki asıl amaç santrifüj kuvvetinin değiştirildikten sonra katı PRF matriksteki hücresel dağılımın nasıl etkileneceği ve rejenerasyon kapasitesinde artma sağlanıp sağlanamayacağıydı (119).

I-PRF diz artroplastisi, plastik cerrahide, kalp ameliyatları sonrası enfeksiyonu azaltmak, spor yaralanmaları, ortopedide tendon / ligament yaralanmalarında, osteoartrit, kas-iskelet rejeneratif prosedürleri, menisküs tedavisinde kullanılmaktadır. Bunun yanında dermatolojide alopesi, akne vb.

alanlarda kullanım alanı bulunmaktadır (120, 121). I-PRF bölgesel yara iyileşmesini hızlandırmak amacıyla kullanılmaktadır. PRP'de bulunan trombositlerden salınan otojen büyüme faktöründen kaynaklanmaktadır (122). PRF'den 7-11 gün boyunca büyüme faktörlerinin salındığı çalışmalarda bildirilmiştir. Devamlı büyüme faktörlerinin salınımı hücre proliferasyonu, migrasyonu ve farklılaşması üzerinde daha güçlü uyarıcı etkisi olduğu bildirilmiştir (123).

Venöz kan alınır ve 700 rpm devirde 3 dakika santrifüj edilir (112). I-PRF'nin santrifüj süresi kısadır. Santrifüj işleminde camsız ve antikoagülan içermeyen tüpler kullanılır (112). I-PRF'de plazma oluşturmak için gerekli olan tüm kan bileşenleri 3 dk'lık santrifüj süresinde tüpün üst kısmında sarı turuncu bir üst faza ve kırmızı bir alt faza ayrılır. I-PRF, üst sıvı fazının kontrollü aspirasyonu ile bir şırınga kullanılarak toplanır ve kullanılır (106).

2.4.5 Konsantre Büyüme Faktörü(CGF)

Konsantre büyüme faktörü Sacco Luigi tarafından 2006 yılında santrifüj işlemindeki değişiklikler sonucu geliştirilmiştir. CGF diğer trombosit konsantrelerine göre santrifüj hızı 2400-2700 rpm arasında değişkenlik gösterir. CGF trombosit konsantrelerinden farklı özel cihazlarda üretilir ve kullanılan kan tüpleri farklıdır (124, 125). Alınan kan örnekleri CGF cihazı tarafından değişik santrifüj işlemi görür. Bu santrifüj işlemi sırasıyla:30 sn hızlandırma, 2700 rpm'de 4dk, 2400 rpm'de 4dk, 2700 rpm'de 4dk, 3000 rpm'de 3dk ve sonunda cihazı durdurmak için 36 sn yavaşlatmadır (126).

CGF 4 santrifüj işlemi sonucu 4 ayrı fazdan oluşmaktadır. Bu tabakalar tüpün üst kısmından alta doğru şu şekildedir:

- 1) En üstte fibrinojen ve pıhtılaşma faktörlerini içermeyen serum tabakası
- 2) Ortada şeffaf ve geniş fibrin blok tabaka (buffy coat)
- 3) Fibrin blok tabakasının altında büyüme faktörleri ve kök hücreleri içeren sıvı tabaka
- 4) En alt tabakada kırmızı, trombosit zengin pıhtı (127)

PRF ve CGF içerdikleri büyüme faktörü ve hücreler olarak benzer maddeleri içermektedir.CGF PRF'ye benzer fibrin matriksi içerse de fibrin

yapısının gerilmeye karşı dayanıklılığı ve viskozitesinin yüksektir. Bu özellikler CGF'nin PRF'e göre içerdiği büyüme faktörlerini uzun süre muhafaza etmesine sebep olur. Ayrıca CGF'nin yapısındaki büyüme faktörlerinin daha uzun süre boyunca ortama salınmasını sağlar (110). Santrifüj protokolündeki farklı hızların, CGF'deki trombosit sayıları ve bu trombositlerden ortama salınan büyüme faktörlerinin miktarını yükseltebileceği gösterilmiştir (18).

2.4.6 Titanyum Trombositten Zengin Fibrin(T-PRF\T-PRF)

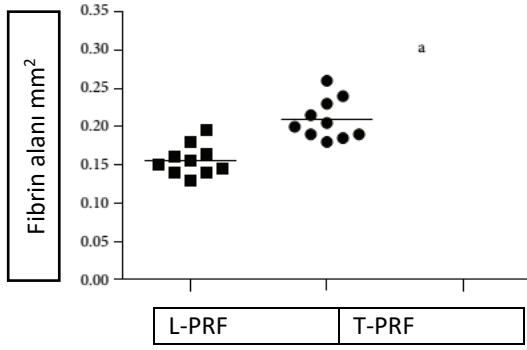
Cam tüp kullanılarak elde edilen trombosit zengin fibrin başarılı sonuçlar vermesine karşın O' Connell ve ark. cam tüpler kullanılarak elde edilen PRF'nin kanda silika parçaları ile etkileşimde bulunulabileceği ve fibrin oluşumunu etkileyebileceği belirtilmiştir (128).

T-PRF Tunalı ve ark. 2013 yılında titanyum tüpler kullanılarak geliştirilmiştir ve daha sıkı ve matür bir yapıda fibrin elde edilmiştir (21).

Titanyum biyouyumlu bir materyeldir tıpta da birçok alanda kullanılmaktadır. Örneğin omurga cerrahilerinde protez olarak, kalp damar cerrahisinde stent materyeli olarak kullanılır. Diş hekimliğinde ise titanyum materyeli protetik bar yapımında, diş eksiklerinin tedavisi olarak kullanılan implant materyeli olarak kullanılmaktadır.

Silika içerikli kuru cam veya cam kaplı plastik tüplerden kana geçebilecek silikanın olumsuz yan etkileri titanyum tüp kullanılmasıyla önlenmektedir. Bu sebep ile titanyum tüpler kullanılarak elde edilen pıhtının silika parçacıkları ile aktive olan tüplerden göre elde edilen pıhtıdan daha biyouyumlu olduğu gösterilmiştir (128).

Tunalı ve arkadaşlarının yaptığı diğer bir çalışmada T-PRF ve L-PRF karşılaştırılmış ışık ve florasan mikroskopuyla yapılan incelemede T-PRF'nin daha kalın olgun fibrin ve matriks içerdiği gözlenmiştir (21).



Şekil 2:T-PRF'nin histomorfometrik ölçüm sonucu (129)

T-PRF antikoagülan içermeyen titanyum tüpe 10 ml venöz kan örneği 2700 rpm'de 12 dakika santrifüj edilir. Titanyum tüpte antikolagülan bir madde olmadığından bir kaç dakika sonra koagülasyon başlamaktadır. Üst kısımda hücresiz plazma kısmı, orta kısımda fibrin, alt kısımda da kırmızı kan hücreleri santrifüj sonucunda gözlemlenmektedir (19).

T-PRF L-PRF'nin kullanıldığı birçok alanda diş hekimliğinde kullanılmaktadır. T-PRF daha uzun rezorbsyon süresine sahiptir. T-PRF kemik defektlerinde, palatal doku iyileşmesinde, maksiller sinüs augmentasyonlarında, dişeti çekilmelerinin tedavisi gibi birçok alanda kullanılabilir (130-133)

2.4.7 PRF'nin Yara İyileşmesi Üzerine Etkileri

Fibrin yaralanan alanın üzerini örtmek için epitel hücreleri ve fibroblastları tetikler. Bunun üzerine yaranan alanın etrafındaki epitel hücreleri polarite kaybına uğrar ve yaraya çıkıntılar oluşturur. Buradaki hücreler daha sonra geçici fibrin matriksine taşınır. Başta PDGF ve TGF- β olmak üzere büyüme faktörleri salınır. Fibronektin ve fibrin ile beraber integrinlerin yara alanına göçünü ve fibroblast hücrelerinin proliferasyonunu indükler. TGF- β ve PDGF 7-28 gün aralığında salınımına devam ederler. Bu zaman zarfında anjiogenez maksimum seviyeye ulaşırken kemik yapımına başlamaktadır. Yara iyileşmesinin sonraki aşamalarında en önemli basamak olarak düşünülen pıhtı stabilizasyonudur bunu sırasıyla makrofajların aktive edilmesi ve kemotaksisini sağlaması aşaması gelir. PRF içerisindeki lökosit, büyüme faktörleri, fibrin gibi yapısal elemanlarla yara

iyileşmesi basamaklarını hızlandırır. Bu fibrin matriks kollajen üretimi ve biyomekanik yara direncinin sağlanmasında etkilidir (70, 134).

2.4.8 PRF'nin Osteojenik Etkileri

PRF'nin içerisinde bulundurduğu büyüme faktörleri sayesinde osteoblastik aktiviteyi desteklemekte ve osteopontin salınımını arttırarak mineralizasyonu da sağlamaktadır. Geçici bir matriks (çatı) görevi üstlenir ve alkalen fosfataz seviyesini de arttırarak kemik yapımını destekler. PRF ile ilgili yapılan çalışmalarda, kemik mezenkimal hücrelerinde ve osteoblastlarda proliferasyonu tetiklediği ve kemik formasyonuna yardımcı olduğu gösterilmiştir (98, 135-137).

2.4.1 PRF'nin Anjiyogenez Üzerine Etkileri

Fibrin matriks yapısı, endotel hücrelerinin yara bölgesine migrasyonu, proliferasyonu ve farklılaşması için uygun bir ortam sağlamaktadır. Fibrin yapısının içerisinde bulunan büyüme faktörleri yardımıyla anjiyogenez başlamaktadır. Fibrin matriksi integrinlerin sentezini indükleyerek, endotel hücrelerinin vitronektin ve fibronektine tutunmasına aracılık ederler. Fibrin matriksin yapısal sağlamlılığı sebebiyle VEGF veya FGF'nin indüklenmesi gerçekleşir ve bu durum, endotel hücrelerinin anjiyogenezisi düzenlemesini sağlar. Bahsedilen özellikler PRF'nin yara iyileşmesi sağlaması ve bunun dışında enfeksiyöz olayların önüne geçmesini sağlar (50).

2.4.2 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları

Trombositten zengin kan ürünleri (PRF) diş hekimliğinde en sık yara iyileşmesini arttırmak amacıyla kullanılmaktadır. Sert doku greftlemelerinde greft materyali ile kombine olarak, yumuşak doku yaralanmalarında, kist enükleasyonlarından sonra, distraksiyon osteogenezisinde, periferik sinir yaralanmalarında, sinüs lift prosedürlerinde, alveolar sırt augmentasyonunda, kemik içi ve furkasyon defektlerinde, dişeti çekilmelerinde, palatal bölgede verici bölgeye, alveol soketin korunması ve TME gibi birçok alanda trombosit ürünleri kullanılmaktadır (138-140).

Oral ve maksillofasiyal cerrahide greftleme operasyonlarında PRF ile otojen greftler, ksenojen greftler, allojen greftlerin kombine kullanımı sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun amacı PRF'nin salgıladığı büyüme faktörleri sayesinde greft materyalinin matürasyonunu arttırdığı düşünülmektedir. Yapılan hayvan ve klinik çalışmalar sonucunda PRF ile kemik greftinin kombine kullanılmasının kemik kalitesiyle birlikte kemik yapımını da artırdığı bildirilmiştir (138) .

PRF sert doku işlemlerinin yanında yumuşak doku operasyonlarında da kullanılır. Yapılan bazı çalışmalara göre iyileşmeyen yumuşak doku yaralanmalarının tedavisinde, PRF kullanımının iyileşmeyi arttırdığı bildirilmiştir (139) .

İçeriğinde lökosit miktarının yoğun olmasından dolayı L-PRF adı verilen PRF türü içeriğinde yer alan immün hücrelerin (lökositler) varlığı nedeniyle; çalışmalar, L-PRF'yi üçüncü molar çekim soketlerine yerleştirilip, osteomiyelit enfeksiyonlarında yaklaşık 10 kat düşüş beklenebileceğini göstermiştir (141).

PRF, trombin ve kalsiyum klorid ile muamele edildikten sonra jel formunu almaktadır ve trombosit zengin jel (TZJ) olarak da adlandırılmaktadır. Kist enükleasyonundan sonra PRF'nin jel formunun kist kavitesine uygulanmasının kemik yoğunluğunu arttırdığı bildirilmiştir. TZJ uygulanmış bölgede kemik dokusunun iyileşmesini hızlandırdığı gibi uygulandığı bölgedeki yumuşak doku iyileşmesini de hızlandıracakı düşünülmektedir (142).

Maksillofasiyal bölgede yapılan 3. molar, ortognatik cerrahi, diş çekimi ve implant gibi cerrahi işlemlerde periferik sinir yaralanmaları görülmektedir. Cerrahi operasyonlar sonrasında inferior alveoler sinir, lingual sinir, hypoglossal sinir, fasiyal sinirlerde sıklıkla yaralanma meydana gelmektedir. Yaralanan sinir dokusunun tedavisinde mikro suturlar, fibrin-siyanoakrilat yapıştırıcılar, greftleme ve lazer gibi uygulamalar kullanılır. Bu tedavilerin sonucunda sinirin yenilenme kapasitesi sınırlıdır. Bu konuyla ilgili ratlar kullanılarak bir hayvan çalışması yapılmıştır. Ratların bilateral olarak siyatik sinirleri kesilmiş sonrasında sinir dokusu birleştirilip PRF uygulaması yapılmış 12 hafta sonra biyopsi örneği alınmış ve PRF uygulanan taraf uygulanmayan taraftan sayıca sinir lifi bakımından fazlaca bulunmuştur (143).

Yapılan diğer çalışmalarda da sinir dokusunun erken dönem tamirinin geç dönem tamirine göre daha iyi sonuç verdiği bildirilmektedir ve bu sonuca göre erken dönem iyileşmeyi arttıran PRF'nin sinir doku yaralanmalarında kullanılması önerilebilir (144).

PRF aynı zamanda kemik iyileşmesini hızlandıracağı gerekçesiyle distraksiyon osteogenezisinde de kullanımı düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda distraksiyona operasyonun ardından başlanan olgularda PRF uygulandığında, kemik rejenerasyonunun arttığı gözlenmiş ancak 5 günlük bir latent periodun ardından distraksiyona başlanan olgularda kemik rejenerasyonunda artma gözlenmemiştir. Ancak her iki grupta uygulanan ve uygulanmayan gruplara göre anlamlı bir fark bulunamamıştır (145).

Ayrıca sinüs yükseltme prosedürleri için de kullanılmaktadır. Sinüs cerrahisi için tek başına bir greft materyali olarak kullanılabilir, Schneiderian membranın onarımı için kullanılabilir ve ayrıca lateral sinüs yaklaşımı sırasında pencereyi kapatmak için de kullanılabilir. Bu bahsedilen işlemlerin başarı şansı yüksek olmasına rağmen, çok az sayıda karşılaştırma yapan çalışma vardır (51, 146, 147).

Alveolar sırt augmentasyonlarında PRF kemik ve yumuşak doku iyileşmesini arttırdığı ve augmentasyondan sonraki zamanda kemikteki rezorbsyonu azalttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (16). Alveolar sırt korumada greft materyali içerisine PRF eklenerek kemik oluşumunu hızlandırmak amaçlı da kullanılmaktadır (148).

PRF furkasyon defektlerinin tedavisinde sık sık kullanılan materyeldir. PRF'yi flep cerrahisinde tek başına veya mine matriks türevi gibi diğer altın standartlarına göre karşılaştıran pek çok randomize klinik çalışma mevcuttur. Bu bilgiler ışığında PRF ile rejeneratif periodontal tedaviyi takiben periodontal cep derinliği azalmasında ve aynı zamanda klinik ataşman kazanımının fayda sağladığı gösterilmiştir (149, 150). Furkasyon sınıf II tutulumu gibi için de benzer pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Bazı klinik çalışmalarda PRF'nin tek başına veya kemik greftleri gibi diğer biyomateryallerle birlikte kullanılmasının, sadece flep cerrahisine veya sadece kemik greft materyaline kıyasla istatistiksel olarak daha iyi

sonuçlara yol açtığını göstermektedir (44, 151, 152). Kemik içi ve furkasyon defektlerinde iyileşmeyi artırıp hızlandırdığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. PRF tek başına kullanıldığı gibi çeşitli greft mataryelleri ile birlikte de kullanılabilir (130, 153).

Son yıllarda PRF'nin en yaygın kullanım alanlarından biri dişeti çekilmelerinin tedavisidir. L-PRF'nin yumuşak doku rejenerasyonu üzerinde daha doğrudan etkili olduğu kanıtlandığından, mukogingival bölgede kullanımı üzerine çeşitli klinik çalışmalar yapılmıştır. Yapılan birçok randomize klinik çalışma, Miller I ve II çekilmelerde kalın biyotipte bağ dokusu greftlerinin yerine başarılı bir şekilde kullanılabileceği bilinmektedir. PRF hasta morbiditesi azaltılması ve yara iyileşmesini artırma amacıyla tercih edilmektedir (154-157). PRF doğru hasta seçimi olduğu takdirde, Miller Sınıf I ve II çekilmelerde bağ dokusu greftli kadar etkili olarak gösterilmiştir. Yara iyileşmesini artırması ve ikincil bir yara bölgesi yaratmaması ise en büyük avantajlarından (158).

Ayrıca enjekte edilebilen PRF ile bağ dokusu birlikte kullanılarak bağ dokusunun etkisizliğini artırmayı amaçlayan çalışmalar mevcuttur (159).

PRF'nin ağrı yönetimi ve SBDG'lerin palatal donör alanı epitelizasyonunu ve iyileşmesine yardımcı olduğu bildirilmiştir (160-162).

Alveolar soket korumasının asıl amacı çekim sonrasında ilk aylarda hızla rezorbe olan kemik dokusunun rezorbsyonunu engellemek ve en aza indirmektir. Bu amaçla greft mataryelleri ve PRF membranlar kullanılabilir. Bu teknikle ilgili çalışmalarda PRF üstün olarak bulunmuştur (163).

Temporomandibular bozukluk (TMD), kas hiperfonksiyonu veya parafonksiyonu, travmatik yaralanmalar, hormonal etkiler ve eklem değişikliklerinin neden olduğu çok faktörlü bir hastalık sürecidir (164). TME rahatsızlıklarında hastada ağrı, ağız açmada kısıtlılık ,deviasyon, defleksiyon, eklemden ses gelmesi gibi çeşitli semptomlar görülebilmektedir (165). Bu rahatsızlıklar için çeşitli tedavi seçenekleri vardır. Bunlar gece plağı yapımı, botox uygulamaları, eklem içine uygulanan ilaçlar, artrosentez, NSAİ ve kas gevşetici

ilaçlar bunlardan birkaçıdır. TZP bu tedavilere alternatif eklem içine enjekte edilebilmektedir. Hastalarda ağrıyı azaltmave ağız açma kısıtlılığında azalma sağladığı çalışmalarda gösterilmiştir (166).

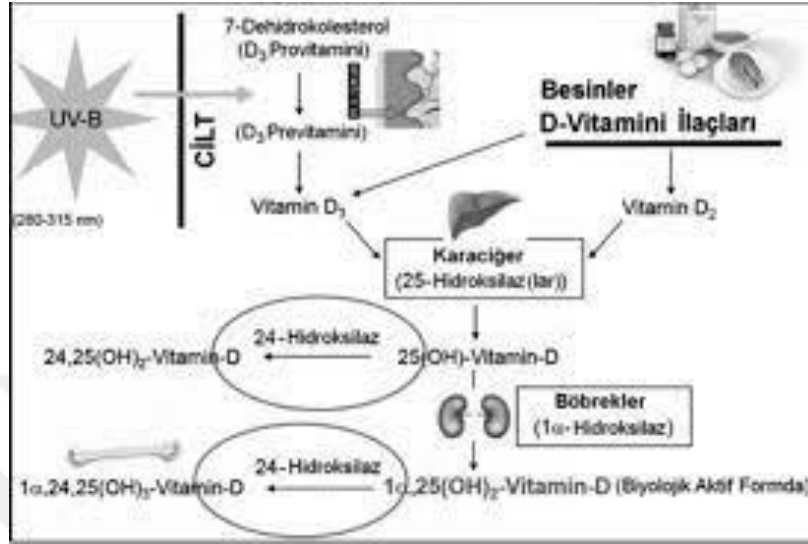
2.5 VİTAMİN D

D vitamini güneş ışınlarındaki ultraviyole (UV-B) B etkisi ile derimizden sentezlenen ve biyolojik olarak önemli etkileri olan, yağda eriyen bir vitamindir (167). Vitamin olarak adlandırılrsa da biyolojik etki bakımından bir hormondur. Vitamin D steroid türevlidir ve insan vücudunda sentelenebilir. Vitamin D'nin fizyolojik görevi kalsiyum ve fosforun kandaki seviyesini ayarlamak ve kemik matriksinin mineralizasyonunu gerçekleştirmektir. D vitamininin ana görevi kemik ve kalsiyum metabolizma ayarıdır ancak bunun haricinde hücre farklılaşması ve proliferasyonu, kardiovasküler fonksiyonlar, hücrel hümoral immünite gibi mekanizmalarda görevlidir (168-170).

D vitaminin iki türevi vardır: ergokalsiferol (D₂ vitamini) ve kolekalsiferol (D₃ vitamini). Vitamin Ergolaksiferal güneş ı    almış bitkilerin yenmesiyle v cud  girer ciltte UV ı   nı etkisiyle vücutta ergokalsiferole dönüşümü gerçekleştirilir (171).

Vücudumuzdaki D vitaminin %95'i derimizden UV-B etkisi ile 7-dehidrokolekalsiferolden önce pre-D₃, sonra D₃ (kolekalsiferol)'e d n   erek sentezlenmektedir. İnsan vücudunda D vitaminin ana sentez yeri deridir. İnsanda esas aktif olanı kolekalsiferol (vitamin D₃)'d r. Kandaki D₃ karaci  er hücresinde hidroksillenerek 25-OH-D vitaminine d n    r. Bu form da başta böbrek olmak üzere diğer dokularımızda 1-alfa hidroksilasyon ile 1-25(OH)₂ D vitaminine d n    r. En aktif formu 1-25(OH)₂ D'dir. Hücre sitoplazmalarındaki reseptörlere ba lanarak etkisini gösterir ( ekil 4). Kanda en aktif formun 1-25(OH)- D vitamini olmasına karşın yarı ömrü 3-4 saat gibi oldukça kısadır. Buna karşın, 25-OH-D vitaminin ise yarı ömrü ortalama 3 haftadır ve ya lı dokuda da esas birikebilen form budur. Kanda 25-OH-D vitamini 1-25(OH)₂ D vitamininden en az bin kez daha fazladır. Yani 1-25(OH)₂ D vitamini serum D vitamini düzeyinde %1'den daha az

orandadır. Bu nedenle kanda ölçümü yapılması gereken D vitamini düzeyi 25-OH-D vitaminidir (167, 172, 173).



Şekil 3: D vitamini metabolizması ana adımları (172, 173).

2.5.1 Vücuttaki Vitamin D'nin Emilimi, Depolanması ve Taşınması

D vitamininin %60-90'ı ince bağırsaktan emilir. Emilen D vitamini, lenfatik sisteme geçer (174). Bağırsakta emilimi gerçekleştiren vitamin D kanda bir α glikoprotein olan ve transkalsiferin adı verilen taşıyıcı tarafından taşınır. Vitamin D yağ dokusunda depo edilmektedir. Yağ dokusunda yıllarca depo edilebilmektedir (175).

2.5.2 Vitamin D Seviyesinin Tespiti

Vitamin D seviyesini tespit etmek için kullanılan serum 25(OH)-D düzeyidir ve altın standart olarak kabul edilir. 25OH-D en önemli dolaşımdaki metabolittir. Çünkü hem bitkilerden alınan hem e cilt tarafından sentezlenen vitamin D düzeyini göstermektedir (176). Vitamin D'nin aktif formu 1,25OH-D olsada yarı ömrü (4-6 saat) oldukça kısadır. Ayrıca dolaşımdaki 1,25 OH-D miktarı oldukça düşüktür. Bu yüzden serumda ideal ölçümde 1,25OH-D kullanılmaz (177).

Dolaşımdaki optimal 25OH-D₃düzeyi, Ca Emilimi ve PTH seviyesini ayarlayarak hiperparatiroidideye sebep olmadan seviye olarak tanımlanır (178). Çocuklarda bu seviye $\geq 30 \mu\text{g/l}$ 'nin olarak belirlenmiştir. İdeal yetişkin 25(OH)D₃ düzeyi $50 \mu\text{g/l}$ civarındadır ve $30 \mu\text{g/l}$ 'nin üzerindeki düzeyler vitamin D için optimal olarak kabul edilir (179, 180). Vitamin D yetersiz olduğu durumlarda klinik bulgu görülmez ve PTH hormone seviyesi artar, uzun süre eksikliklerde kemik dokusunda azalma meydana gelmektedir (178).

Genellikle serum 25(OH)D₃ düzeyleri 15 ile $30 \mu\text{g/l}$ arasındadır (178). Bununla birlikte vitamin D yetersizliği için farklı kaynaklarda 25(OH)D'nin $10 \mu\text{g/l}$ - $30 \mu\text{g/l}$ arası veya $20 \mu\text{g/l}$ - $30 \mu\text{g/l}$ arasında olması vitamin D yetersizliği olarak kabul edilmektedir (181). Fidan ve ark yaptığı bir çalışmada vitamin D düzeyleri 20 ng/ml altı eksiklik, $20-30 \text{ ng/ml}$ olması yetersizlik, $\geq 30 \text{ ng/ml}$ olması ise optimal olarak kabul edilmiştir. (37)(Tablo 2.1)

Tablo 2.1: 25 OH vitamin D seviyeleri (ng/ml) (37)

$20 \leq \text{ng/ml}$	EKSİKLİK
$20-30 \text{ ng/ml}$	YETERSİZLİK
$\geq 30 \text{ ng/ml}$	OPTİMAL

2.5.3 Vitamin D Eksikliği

D vitamini eksikliği hastaların serumdaki Vitamin D seviyesinin çok düşük olduğu saptanan hastalar için kullanılır. D vitamini eksikliği için birçok risk faktörü mevcuttur. Bunlar:

- Koyu cilt rengine sahip olmak
- Prematür veya dismatür doğumlar
- Yeterince güneş ışığı almamak
- Beslenme bozukluğu ve obezite
- Granülomatoz hastalıklar,
- Tümör nedenli osteomalaziler,
- Yaşlılık
- Rikets, osteomalazi gibi genetik hastalıklar
- Hiperfosfatemi ve nefrotik sendrom
- Karaciğer yetmezliği

Glukokortikoidve antikonvulzan ilaç kullanımıdır (2, 3, 182).

Günlük D vitamini alımının ne olması gerektiği konusunda görüş farklılıkları vardır. Çünkü güneş ışığı alımı vücutta Vitamin D sentezi sağlamaktadır.

Genetik nedenlerden dolayı Vitamin metabolizmasıve fizyolojisinin farklı olması bireylerin vitamin ihtiyacını farklı kılmaktadır.

Cilt pigmentasyonun farklı olmasından kaynaklı vitamin D ihtiyacı farklılık gösterir. Melanin, 290 nm ve üzerindeki dalga boyundaki güneş ışınlarını absorbe eder ve epidermal provitamin D3 ile UVB fotonları için yarışır. UVB fotonlarını etkin olarak emer, prokolekalsiferolün fotosentezini azaltır. Koyu renkli bireylerde melanin pigmentasyonu fazladır ancak ciltte sentez edilen vitamin D miktarı azdır (183).

Güneş koruyucu kullanımı cilt kanseri, cilt yanıkları gibi güneşin istenmeyen etkilerini önlemektedir. Bunun yanında cilt tarafından sentez edilen vitamin D sentezini azaltır. İçeriğindeki koruyucu faktör 8 içeren güneş koruyucular D vitamininin ciltteki sentezini % 95 oranında azaltırken, cilt koruyucu faktör 15 içerenler % 99 azaltır (184).

Mevsim ve enlem farklılıkları ciltteki D vitamini sentezini etkiler. Oblik açıyla daha az fotonlar dünyaya ulaşır. Günün bazı saatleri, mevsim ve enlem oblik açıyı etkileyen faktörlerdir. 37° üzeri enlemde, kışın UVB foton sayısı azalır. 37°altında ve ekvatora yakın bölgelerde yıl boyunca ciltte daha fazla D vitamini sentezi vardır. Oblik açı nedeniyle öğleden sonra ve sabah erken saatlerde de D vitamini üretimi azdır. En ideal saat aralığı 10.00-15.00 arasındır (183).

Vitamin D sentezlenme kapasitesini değiştirmektedir. Yaşı daha ileri bireylerde ciltteki 7-dehidrokolesterolün konsantrasyonu azalır ve D vitamini sentezleme kapasitesini azaltır.

Kapalı giyim tarzı UVB ışınlarının cilde geçmesini engeller ve ciltteki D vitamini sentezini azalır (185).

Obez olan bireylerde yağ dokusu miktarı fazladır. Vitamin D yağ dokusunda depo edilir bu sebeple D vitamini eksikliği görülebilmektedir . Ayrıca bu tip bireyler açık ortamda sık bulunmadıkları için dolaylı olarak güneş ışığı alımı azalır ve vitamin D miktarı düşer (186).

Vitamin D UVB ışığıyla doğrudan ilişkilidir. Ne kadar süre UVB ışınına maruz kaldığı süre ve sıklığı önemlidir. Yeterli D vitamini sentezi için saat 10:00 ile 15:00 arasında 5-30 dakika güneş ışığı almak önerilmektedir (184).

Bazı besinlerde D vitamini doğal haliyle bulunmakta,(somon, uskumru, ringa balığı, balık yağı, sakatat, yumurta sarısı) bazı besinlerde de D vitamini ile desteklenmektedir. Özellikle süt, bazı meyve suları, ekmek, yoğurt ve peynir D vitamini açısından zenginleştirilmiştir (177).

Erişkinlerde vitamin D eksikliği sonucu osteomalezi gelişir. Osteomalezinin klinik tablosu iskelet sisteminde ağrı ve proksimal kas güçsüzlüğüdür. Bu durumda serum vitamin D, kalsiyum ve fosfor seviyesi düşüktür. PTH alkalen fosfataz seviyeleri ise genellikle yüksektir. Klinik muayenen yanında yapılan radyografik muayende kemik yoğunluğunda azalma buna bağlı kırıklarda rastlanabilir. Biyopsi sonucunda kemikteki mineral yoğunluğundaki azalma netlik kazanmaktadır (187).

Çocuklarda vitamin D eksikliği sonucu kaslarda tetani, hipokalsemi, kraniyotabes, kuş göğüsü, kifoskolyoz, tibiya eğrilikleri ve diş erüpsiyonunda gecikme gibi klinik bulgular izlenebilir. Süt çocukluğu döneminde görülen rikets gelişimi her çocukta değişik klinik bulgular ortaya çıkabilir (188).

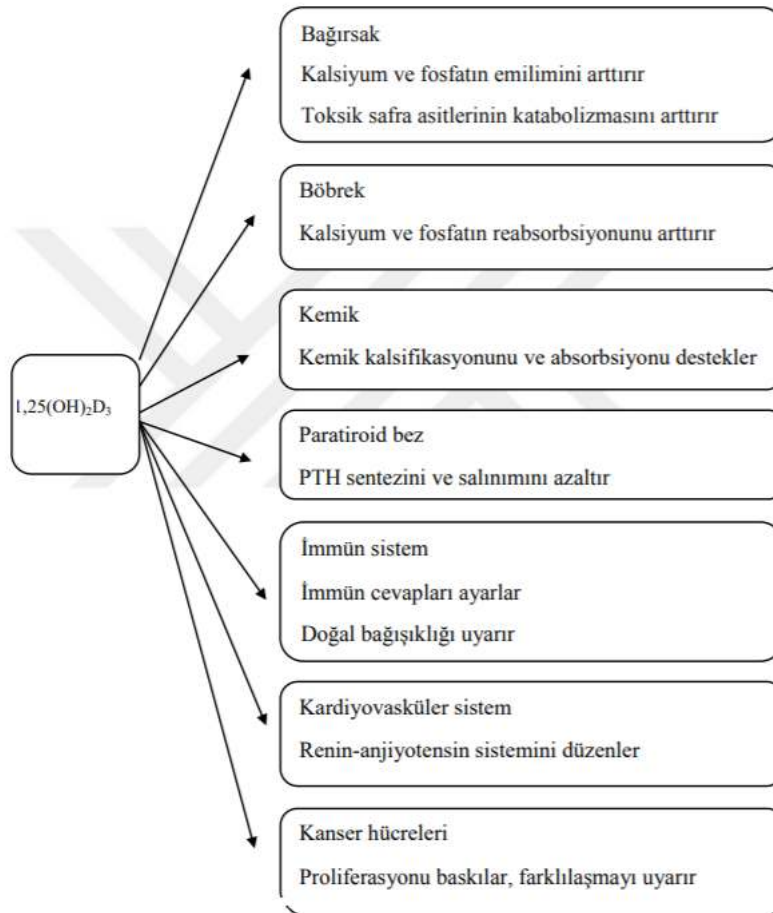
2.5.4 Vitamin D Reseptörü

Vitamin D'nin biyolojik olarak aktif hale gelebilmesi için reseptöre ihtiyacı vardır. Bu reseptör yüksek afinitelidir ve reseptörü ligandla aktive edilen transkripsiyon faktörü olarak görev yapar (189). VDR proteinin farklı genlerin transkripsiyonu ile etki görür (190). VDR hücrenin sitoplazma ve çekirdeğindedir

ve 1,25(OH)-D'ye bağlanma cevabını hızlandırır (191). VDR, gen aktivasyonu ile bir mRNA sentezi gerçekleştirilir sırasında Vitamin D için protein sentezi gerçekleşir (192).

VDR gen transkripsiyonunda önce ligand bağlanması gerçekleşir daha sonra retinoid X reseptörüyle heterodimerizasyon görülür. Bu heterodimerler vitamin D'nin cevap elementlerine bağlanır, düzenleyiciler aktive olur ve sonunda protein sentezi gerçekleşir.(193)

VDR proteini, Gen transkripsiyonuyla etkisinden dolayı VDR genindeki genetik değişiklik kalsiyum metabolizması, hücre proliferasyonu ve immün fonksiyonları etkileyen sorunlar doğurabilir (192).



Şekil 4: 1,25(OH)₂D₃'ün VDR aktivasyonu yoluyla, hedef hücrelere, fizyolojik ve farmakolojik etkileri (194)

2.5.5 Vitamin D'nin Biyolojik Etkileri

2.5.5.1 KEMİK ÜZERİNE ETKİLERİ

Vitamin D₃ (kalsitriol) kemikteki osteoblastların hedef hücreleridir. Vitamin D₃ osteoblastların proliferasyonu sağlar. Alkalen fosfataz (ALP) yapımı indüklenir osteokalsin stimülasyon ve sentezi artar ve osteoblastlar uyarılarak kemik yapımı artar. Aynı zamanda kemik mineralizasyonunda görevli osteokalsinin stimülasyonu ve sentezi artar (195). Kalsitriol aynı zamanda kemik rezorbsyonunda da görevlidir (196). D vitamin reseptörü osteoblastlarda olmasına karşın osteoklastlarda bulunmaz. Osteoklastların aktivasyonu ise parathormon ve kalsitriol öncülüğünde osteoblastlardan salgılanan prostaglandinler, TGF- β , IL1 gibi uyarıcıların açığa çıkmasıyla gerçekleşir (195, 196).

Vitamin D₃ (kalsitriol) bu etkilerinin dışında Ca Emilimini artırır böylece kalsiyum ve fosfat'ın kemik matrikste yeterli ulaşımıyla kemiğin kalsifikasyonunu düzenler (175).

2.5.5.2 İMMÜN SİSTEM ÜZERİNE ETKİLERİ

Vitamin D'nin hücre differansiyasyonu, proliferasyonu ve immün modülasyonunda önemli etkileri vardır. Vitamin D immün sistemde lenfositler üzerinde direkt etkilidir ancak lenfositlerde reseptör yoktur, lenfositler aktive olması sonucu reseptör açığa çıkar. Makrofaj ve lenfositlerin kalsitriolle etkileşiminden MHC antijen ekspresyonu sonucu oluşur, IL-1 yapımı artışı ve fagositik aktivite artışı olur. Kalsitriol IL-2 yapımının artışı ile T hücrelerin proliferasyonun ve B lenfositlerinin immünglobulin sentezininin güçlü bir şekilde inhasyonu gerçekleştirilir. Bu sebeple vitamin D eksikliği olanlarda enfeksiyon sıklığı fazladır(197).

Vitamin D monositlerin aktivasyonunu sağlar, hücresel bağışıklığı regüle eder, lenfosit proliferasyonu sağlar, Ig üretimini ve sitokin sentezini baskılar (198). İmmün hücrelerini bir çoğunda vitamin D reseptörü vardır. Vitamin D monositlerin olgun makrofajlara dönüşmesini sağlar (199). Vitamin D eksikliğinde makrofajlarda fonksiyon bozukluğu olur. Makrofajlar tarafından gerçekleştirilen

kemotaksis, fagositoz, proinflamatuvar sitokin üretimi yapılamadığı için immün sistem etkilenmektedir (198, 199).

2.5.5.3 DİĞER DOKULAR ÜZERİNE ETKİSİ

D vitaminin başlıca kemik metabolizması üzerine etkileri bilinse de birçok kanser türü, kardiovasküler hastalıklar, otoimmün ve enfeksiyon hastalıklarının önlenmesinde, üreme sağlığında önemi vardır.

D vitaminin antienflamatuvar, immün modülasyon özellikleri ve sitokin seviyeleri üzerine etkili olması sebebiyle, otoimmün hastalıklar, yüksek tansiyon, kanserler ve enfeksiyöz hastalıklar gibi birçok hastalıklarla ilişkilidir (200). Hayvan çalışmalarında otoimmün hastalıklar ve vitamin D arasındaki ilişki çalışmalarda gösterilmiştir (201). Vitamin D'nin hipertansif olan hastalarda seviyesinin daha az bulunması vitamin D'nin eksik olmasının hipertansiyonu etkileyebileceği görüşünü gündeme getirmiştir (202).

Antimikrobiyal peptidler doğal immün cevabın vazgeçilmez bir parçasıdır. Katelisidin, α ve β defensin doğal immün sistemde önemli rolü olan antibakteriyel ve antiviral peptitlerdir (203). Vitamin D bu antimikrobiyelleri ekprese ederek vücudun savunma sistemini güçlendirir. Yapılan çalışmalar D vitaminin eksik olmasının ağır akut alt solunum yolu enfeksiyonları için risk faktörüdür (204).

D vitamini eksikliğinde yapılan çalışmalarda, endotel fonksiyon bozukluğuna bağlı KVH, miyokart enfarktüsü ve felce sebebiyet verebileceği gösterilmiştir (205). Başka bir çalışmada 20ng/ml altında vitamin D seviyesi saptanan hastalarda kardiovasküler mortaliteye sebep olabileceği belirtilmiştir (206).

Bazı araştırmacılar D vitamini takviyesinin venöz tromboembolizm riskini azalttığını bildirmiştir (207, 208). Bazı çalışmalar, hamilelik başlangıcında ve esnasında tromboembolik komplikasyonları önlemek için hipovitaminoz D'den kaçınılması gerektiğini bildirmiştir (12). Derin ven trombozlu hastalara takviye vitamin D verildiğinde hedef INR değerlerine daha düşük coumadin dozuyla ulaşılabileceği görülmüştür (209).

D vitaminin antienflamatuar, immünite modülasyonu özellikleri ve sitokin seviyeleri üzerine etkilidir. Kanserler, otoimmün hastalıklar, yüksek tansiyon ve enfeksiyöz hastalıklar düşük D vitamin seviyesiyle ilişkili bulunmuştur (210, 211).

2.5.6 Vitamin D ve Periodontal Hastalıklar

Periodontal hastalıklar gibi enfeksiyonun arttığı hastalıklar arasında vitamin D eksikliği arasında bağlantı kurulabilir (212). Periodontal hastalık multifaktöriyel bir hastalıktır. Yapılan çalışmalarda alveolar kemik yoğunluğu ve sistemik kemiğin mineralizasyonu arasında ilişkili bulunmuştur (213, 214).

Birçok çalışmada D vitamini takviyesiyle periodontal diş kaybı ve alveolar kemik kaybında azalma görülmüştür. Ancak bu çalışmalarda periodontal hastalık evreleri net ölçülememiştir (215). Yapılan başka bir çalışmada Ca ve vitamin D takviyesinin periodontal hastalıkta sıg sondalama derinlikleri, daha az kanama bölgesi, daha düşük dişeti indeksi değerleri, daha az furkasyon tutulumu, daha az ataşman kaybı ve daha az alveolar kret yüksekliği kaybı görülmüştür (216).

D vitaminin kemik ve Ca metabolizmasına etki etmektedir ayrıca antienflamatuar etki gösterdiği bunun da makrofajlardan salınan molekül ve sitokinlerin ekspresyonunu inhibe ettiği ve güçlü bir antibiyotik etkisi olduğu gösterilmiştir (217). Vitamin D'nin periodontal hastalıkları önlemede hem kemik metabolizmasına direkt etkileri yanı sıra hem de periodontopatojenlerin ürettiği inflamatuvar mediyatörleri inhibe ederek yıkımı engelleyebilmektedir (218).

2.5.7 Vitamin D ve Osseointegrasyon

Osseointegrasyon tanımı Branemark tarafından ilk olarak ortaya atılmış ve canlı kemik ile implant yüzeyi arasındaki doğrudan fiziksel ve fonksiyonel bir bağlantı olarak tanımlanmıştır (219).

Osseointegrasyon klinik olarak ifade edilen bir terimdir, kemik implant arasında gerçekleşen biyolojik olayları açıklamamaktadır. Osseointegrasyon ve implant etrafındaki kemik iyileşmesi ve oluşumu bir dizi biyolojik olay sonucunda gerçekleşir. Başlangıç olarak vücudun kemik iyileşmesine benzer bir yanıt oluşturur iyileşme implantın kanla temas etmesiyle başlar. İmplant kemikle değil

ilk olarak kanla temastadır. Bu yüzden kandaki hücrelerin salgıladıkları büyüme ve farklılaşma faktörleri tarafından düzenlenir (220).

Kemikte primer ve sekonder olmak üzere iki tip iyileşme vardır. Primer kemik iyileşmesi kırık parçaların madde kaybı olmaksızın teması sonucu gerçekleşen ve minimum granülasyon dokusunun bulunduğu iyi organize olan kemik iyileşmesidir. Sekonder kemik iyileşmesi ise kırık kemik parçalarının arasında madde kayıplarının olduğu, kırık parçalar arası fazla granülasyon dokusunun bulunduğu daha geç sürede olan iyileşme şeklidir. İmplant uygulamaları sonrası gerçekleşen iyileşme genellikle primer kemik iyileşmesine benzerdir (220).

İmplant yerleştirildikten sonra kanla temas eder kırmızı kan hücreleri, trombositler, monositler, nötrofiller gibi enflamatuvar hücreler implantın etrafına göç eder. İmplant etrafında bulunan kan hücrelerinden TGF- β ve PDGF gibi bir dizi büyüme faktörü ile birlikte serotonin ve histamin salınımı olur. Hem PDGF hem de TGF- β 'nin sadece fibroblastlar için mitojenik olmadığı, aynı zamanda nötrofiller ve düz kas hücreleri ve osteojenik hücreler için kemotaktik faktörler olduğu gösterilmiştir (220).

İmplantın kanla teması ardından pıhtı formasyonu oluşur. Trombositlerdeki degranülasyon sonrası araşidonik asit salınımı olur ve faktör III ve VII (doku faktörü), faktör V ile birlikte, protrombinden trombine dönüşmesine neden olan ve fibrinopeptidleri fibrinojenden parçalayan ve pıhtı fibrinini üretmek için faktör X'in aktivasyonuna neden olur. Trombositler yapışma, yayılma, agregasyon ve fosfotirozin indüksiyonu, hücre içi kalsiyum artışı ve fosfolipitlerin hidrolizi gibi hücre içi biyokimyasal değişiklikler dahil olmak üzere yabancı yüzeye yanıt olarak morfolojik ve biyokimyasal değişikliklere uğrarlar. Salgılanan sitokinler sayesinde osteojenik hücreler implantın yüzey kısmına yerleşerek kemotaktik etkiyi başlatmış olurlar (221).

İlk olarak ortama nötrofiller gelir ancak 24-48 saat sonra makrofajla baskın hale gelir. İki üç gün sonra ise ortamda lökositler ve makrofajlar, fagositik aktiviteleriyle pıhtının yerine yeni kan damarları oluşumu için öncüllük ederler (221). Dört gün sonunda granülasyon dokusu implantın etrafını sarar ve yeni damar

oluşumu başlar. Granülasyon dokusu implant yerleşimini takiben 3 hafta boyunca implant etrafında kalır ve mezenkimal hücreler, yeni kan damarları için bir iskelet görevi üstlenir (222). Bu iskelete osteojenik hücrelerin göçüyle önce lameller sonra trabeküler kemik oluşur (223).

Vitamin D doğrudan kemik metabolizmasıyla ilişkilidir ve implant tedavilerine vitamin D seviyesi implant başarısını etkileyebilir Yapılan bir hayvan çalışmasında vitamin D takviyesinin diyabetli sıçanlarda implant etrafında kemik yapımını arttırdığı görülmüştür (224). Yine yapılan başka bir hayvan deneyinde vitamin D takviyesinin osseointegrasyona katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (225).

2.5.8 Vitamin D ve Yara İyileşmesi

Vitamin D kemik ve Ca metabolizması üzerinde etkileri mevcuttur. Kemik onarım mekanizmasında vitamin D plazma kalsiyum ve fosfor konsantrasyonunu normal sınırlar içerisinde tutmada rol oynar (226). Aktif D vitamininin temel görevi PTH ile vücudun kalsiyum-fosfor dengesini korumaktır. Bunu da intestinal kalsiyum ve fosfor emilimini sağlayarak gerçekleştirir (226).

25(OH)-D düzey düşüklüğü PTH salınımında artma, kemik yıkım hızında artma, osteoporoz, osteomalazi gibi patolojik durumlara yol açar (227).

Sıçan femurları üzerinde yapılan kemik iyileşmesinin değerlendirildiği bir çalışmada vitamin D kullanımının kırık hattında remodeling artırdığı görülmüştür. Yine aynı çalışmada kemik yoğunluğu vitamin D takviyesi yapılan sıçanlarda daha fazla bulunmuştur (228).

Vitamin D'nin kemik iyileşme mekanizması üzerine etkilerinin yanında endotel ve yara iyileşmesindene etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (229).

Razzaghi ve ark yaptığı diabetik ayak ülseri olan hastalara 12 hafta vitamin D yüklemesi yapmıştır. Yapılan çalışmada ayak ülserlerinin genişlik ve uzunluğunda azalama olduğu görülmüştür. Ancak bu yara iyileşmesinin doğrudan yada dolaylı olarak glisemik kontrol üzerinden olduğunun net sonucuna varılamamıştır (230).

Oda ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı düşük kalsiyum diyeti ile beslenen farelerin keratinositlerinden vitamin D reseptörü olan VDR gen aktivasyonundaki değişim sonucu yara iyileşmesinin gecikmesine neden olduğunu gözlemlemişlerdir (231).

Bizim çalışmamızda D vitaminin yara iyileşmesinde ana öncü olan pıhtı formasyonundaki değişikleri değerlendirmeyi amaçladık. Bunun için D vitamininin kandaki seviye farklılıklarına göre kandan elde edilen otolog mataryel olan T-PRF'nin yapısını incelenmesini planladık.



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. (Tarih 05.01.2021 Karar 2020\323) (EK-1)

3.1 Çalışma Tasarımı Ve Yönetimi

Çalışmamıza Ocak 2021-Mayıs 2021 tarihleri arasında, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na periodontal muayene ve tedavi amacıyla başvurmuş, sistemik olarak sağlıklı olup vitamin D eksikliği bulunan ve sistemik olarak sağlıklı olup vitamin D seviyeleri optimal olan kişiler dahil edilmiştir.

Çalışmanın amacı ve uygulanacak işlemler hastalara anlatıldı. Hastalara çalışmaya kendi isteklerine göre katıldıklarına dair bilgilendirilmiş hasta onam formları imzalatıldı. (EK-2)

Çalışma için gereken minimum örneklem sayısı literatürdeki benzer makale referans (232) alınarak tip 1 hata 0,05 ve %80 power, etki büyüklüğü 0,75 olacak şekilde her bir grup için 15 birey olarak hesaplandı.

Çalışmamız, 22-55 yaş arasındaki kadın ve erkeklerden oluşan toplam 48 birey ile 2 grup olarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmamıza, vitamin D eksikliği (≤ 20 ng/ml) tanısı koyulmuş ve herhangi bir sistemik hastalığı bulunmayan 24 birey, vitamin D seviyesi optimal ($30 \geq$ ng/ml) sistemik olarak sağlıklı 24 birey dahil edilmiştir.

Çalışma grupları:

Grup 1:Sistemik olarak sağlıklı ve vitamin D seviyesi ≤ 20 ng/ml olan bireyler (n=24) ve bu bireylerin 3 ay oral vitamin D takviye alımı sonrası

Grup 2: Sistemik olarak sağlıklı ve vitamin D seviyesi optimal ($30 \geq$ ng/ml) olan bireyler (n=24)

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 18-65 yaş arası olması
- Sistemik olarak sağlıklı olması
- Düzenli olarak herhangi bir ilaç kullanmaması
- Dışardan ek D vitamini almıyor olma
- Son üç aydır antibiyotik kullanmamış olması şartlarını sağlayan hastalar çalışmaya dahil edildi.

Çalışmamızda hariç tutulma kriterleri şu şekildeydi:

- Sigara (tütün) ve alkol kullananlar
- Trombosit fonksiyon ve pıhtılaşma bozuklukları olanlar
- Hamilelik veya emzirme döneminde olanlar
- Doğal pıhtılaşma sürecine etki eden ilaç kullananlar
- Son üç ay içerisinde enfeksiyon öyküsü olanlar
- İmmünsüpresif tedavi alanlar
- Gönüllü olur onayı vermeyenler

Çalışmamızın amacı; vitamin D eksikliği olan bireylerin T-PRF yapılarının başlangıç ve vitamin D düzeyleri optimale geldikten sonraki süreçte, makroskobik ve kimyasal özelliklerini değerlendirerek, ışık mikroskobu ve SEM’de fibrin ağ paterni inceleyerek, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırmaktır.

3.2 Bireylerden Kan Alınması

Hastalardan, kliniğimizde rutin olarak dikkat edilen asepsi ve antisepsi kurallarına uyularak 20 ml enjektör yardımıyla, her hastanın antekübital veninden uzman kişiler tarafından alınmıştır (Fotoğraf 3.1). Çalışmada kan alımı için her

hastada 20 ml tek kullanımlık enjektörler kullanılmıştır. Daha sonra alınan kan örnekleri santrifüj işleminde uygun bir şekilde ayrılabilmesi için vakit kaybetmeden 10 ml olarak 2 titanyum tüpe eşit bir şekilde nakledilip santrifüj aşamasına geçilmiştir. Santrifüj işlemi sonrası tüp içindeki örnekler ivedilikle Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na götürülmüş ve T-PRF eldesi burda gerçekleştirilmiştir.



Fotoğraf 3.1: Bireylerden kan alınması ve santrifüj işlemine hazırlanması

3.3 T-PRF 'nin Elde Edilmesi

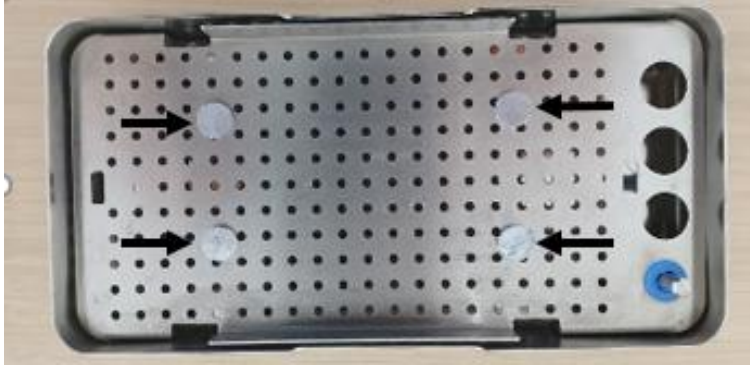
Hastalardan alınan 20 ml kan, piyasada FDA onaylı orijinal L-PRF™ santrifüj cihazı olan IntraSpin™ (Intra-Lock International, ABD) (Fotoğraf 3.2) masa üstü santrifüj cihazına dengenin sağlanması için karşılıklı olarak yerleştirildi. T-PRF elde etmek amacıyla IntraSpin™ cihazında 2700 rpm santrifüj kuvvetinde 12 dk'lık santrifüj süresi gereklidir.(21) Bu sebeple cihaz tüm alınan örnekler için 2700 rpm 12 dk sürede ayarlandı.



Fotoğraf 3.2: IntraSpin™ masa üstü santrifüj cihazı

Santrifüj sonrasında titanyum tüp içerisinde meydana gelen 3 tabakanın ortasındaki fibrin bir presel yardımı ile tutulup çekildi. Daha sonra en altta katmanda yer alan eritrositlerin yoğun olduğu kırmızı takadan sarı renk fibrin tabakası ayrıldı.

Elde ettiğimiz sarı renkteki bu fibrin tabakasını membran haline getirmek için PRF kutusu (Xpression™ Box Kit) kullanıldı. Elde edilecek membranların kalınlıklarının standart olarak elde edilmesi için 1mm yüksekliğinde manyetik plakalar kullanıldı (Fotoğraf 3.4). T-PRF örnekleri 1mm kalınlığa ulaşınca kadar kapağı kapatılıp 2 dk boyunca PRF kutusunda bekletildi.

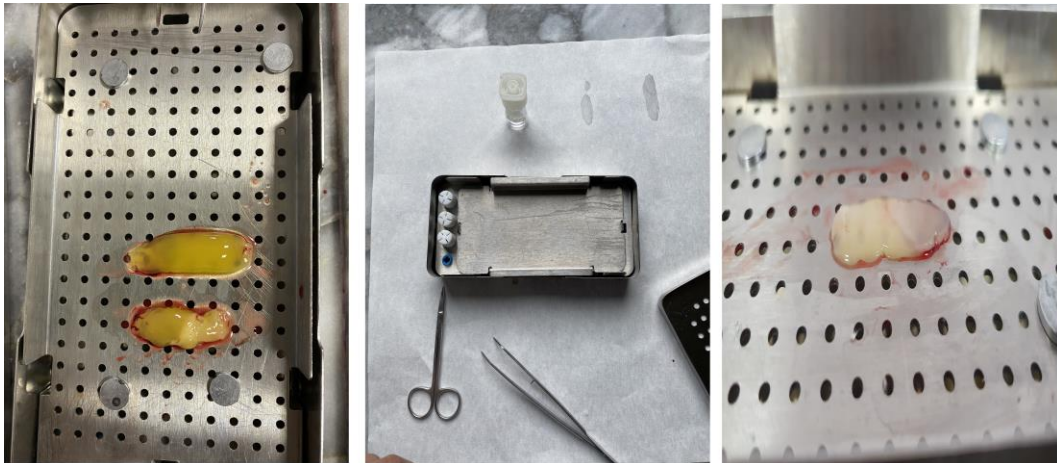


Fotoğraf 3.3: PRF kutusu ve kalınlık standrdizasyonunda kullanılan 1mm kalınlığındaki plakalar

3.4 Makroskobik Analiz

Fibrin tabakasının PRF kutusunda 2 dk bekletilmesi sonucu T-PRF membranları elde edildi. (Fotoğraf 3.5).

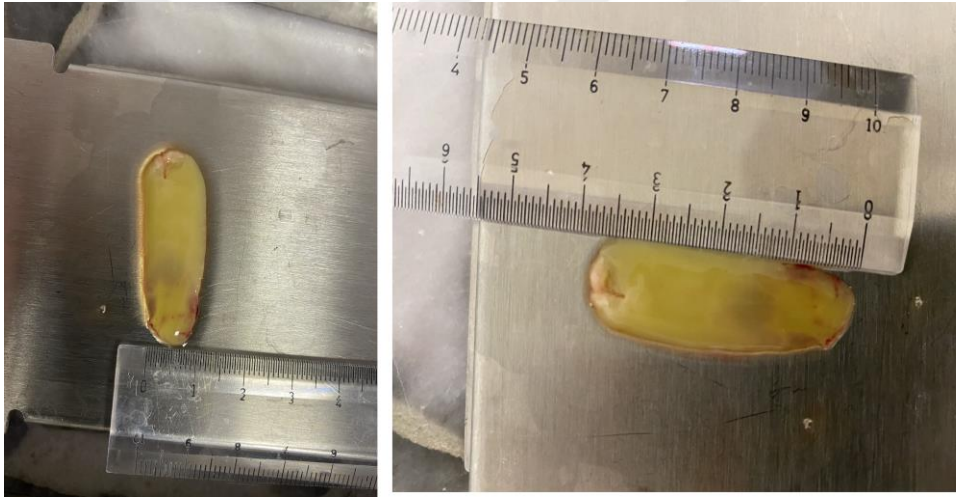
T-PRF membranları ağırlıklarının ölçümü için hassas terazide (Fotoğraf 3.6) (Sartorius CP225D Analytical Balances) gram cinsinden değerlendirildi. Membranlardan birinin bu aşamadan sonra genişlik ve uzunluğu bir cetvel ile santimetre cinsinden kaydedildi. (Fotoğraf 3.7) Daha sonra membran bir makas ve presel yardımıyla dikine kesilerek bir örnek %2,5'lik gluteraldehitte SEM analizi için saklandı. Diğer kesilen PRF membrane parçası patolojik inceleme için önce küçük bir bez poşete sonra kasete yerleştirildi. Diğer membran degradasyon işlemi için %7,4'lük PBS solüsyonunda 7 gün bekletildi. (Fotoğraf 3.8)



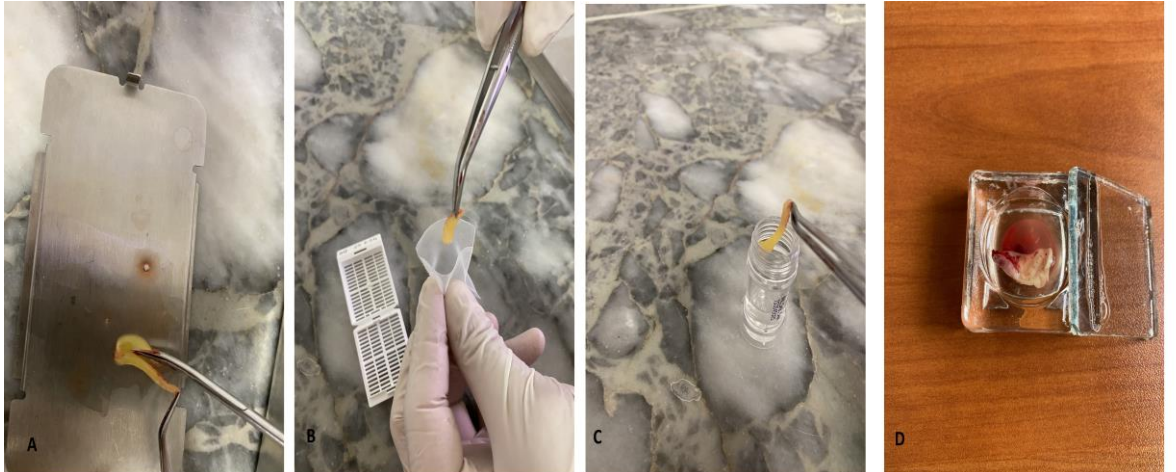
Fotoğraf 3.4:T-PRF membran eldesi



Fotoğraf 3.5: T-PRF membranların ağırlık ölçümü için kullanılan cihaz.



Fotoğraf 3.6: T-PRF membranların cetvelle en boy ölçümü



Fotoğraf 3.7: A: T-PRF'nin makas yardımıyla dikey kesimi, B: T-PRF'nin patolojik inceleme için bez poşete koyulması, C: T-PRF'nin %2,5'lik gluteraldehite alınması, D: T-PRF %7.4 PBS solüsyonuna alınışı

3.5 Histolojik inceleme

Makroskobik analizi yapılan T-PRF örneği histolojik inceleme için hücre bloğu sitolojisi yöntemiyle hazırlanmıştır.

Hücre bloğu sitolojisi yönteminde T-PRF slaytlarını elde etmek için izlenen aşamalar aşağıdaki gibidir (233):

Doku tespiti: İzole edilen T-PRF yapısı, küçük bez poşet içine koyulduktan sonra hasta numarası ile numaralandırılıp kasetler içerisine yerleştirildi. Bu kasetler, 24 saat boyunca formalin solüsyonunda sabitlendi. Doku tespitinin amacı; patolojik inceleme amacıyla alınan doku parçasının alınışından incelenmesine kadar geçen süre içinde doku parçasının bozulmasını (otoliz) engellemek ve canlı organizmadaki en yakın şeklinde kalmasını sağlamak amacıyla yapılan kimyasal korumadır.

Doku takibi: 24 saatin sonunda kasetler %10 formalin içerin kaptan alınıp delikli paslanmaz çelik başka bir kaba aktarıldı. Burada kasetler çeşitli derişimlerdeki formalinle, alkolle ve ksilenle işlendi. Bunun sonucunda kasetlerin dehidratasyonu, temizlenmesi ve parafin infiltrasyonu sağlandı. Doku takibinin amacı; suyun dokulardan uzaklaştırılması ve yerine ince bölümlerin kesilmesine imkan sağlayacak şekilde katı bir ortam koymaktır. Doku takibi Leica ASP 300S cihazında gerçekleştirilmiştir.

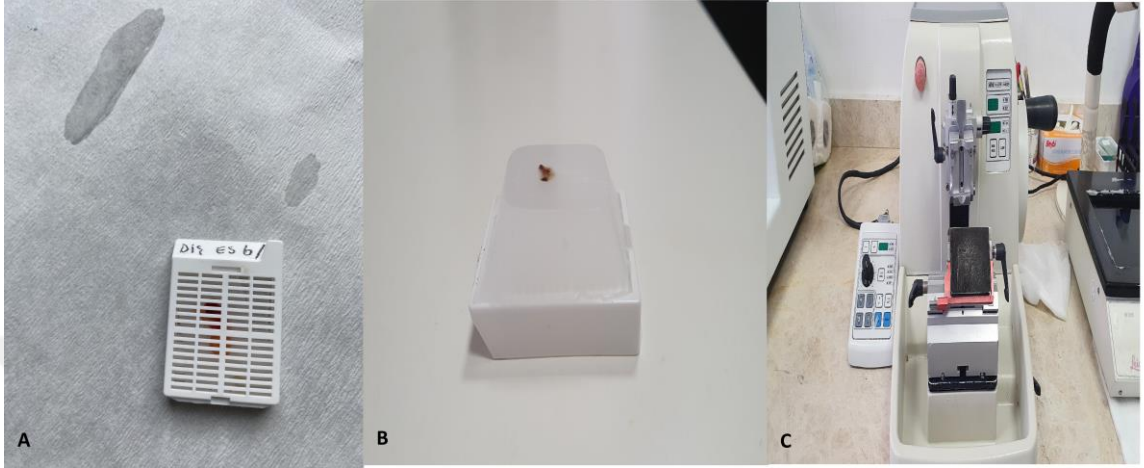
Gömme: Leuchar blokları, parafin kullanılarak yapılacak olan gömme işleminde bir kalıp olarak kullanıldı. Bu aşama doku parçasına destek olur ve bir slaytın kesilmesi, üretilmesini kolaylaştırır.

Kesit alma: Hazırlanan parafin bloklardan mikrotom (Leica RM2255) ile 3 µm kalınlığında kesitler alınmıştır.

Parafinin uzaklaştırılması (Deparafinizasyon): Deparafinizasyon, slaytların 55 °C'de ısıtılması ve ardından parafini ortadan kaldırmak için hemen

ksilene daldırılmasıyla yapıldı. Deparafinizasyonun amacı dokuyu hidrofobik ortamdan çıkararak alkol ve su bazlı boyalara hazır hale getirmektir.

Doku boyama: Kesitler alınarak hematoksilen-eozin histokimyasal boyası ile boyanmıştır. (Fotoğraf 3.8)



Fotoğraf 3.8: A:T-PRF membranin doku kasetine koyulup numaralandırılmış görüntüsü,B: Parafin bloklara gömülmüş T-PRF'nin görüntüsü,C: Parafin bloklardan kesit elde eden mikrotom cihazı (Leica RM2255)

Kesitler LEICA DM 2000 LED marka ışık mikroskopunda çeşitli büyütmeler altında patolog tarafından değerlendirilmiştir.

T-PRF pıhtısı, hematoksilen-eozin boyalı lamlarda mikroskopik olarak kan elemanları yapışma indeksi (BEAI) kullanılarak analiz edilmiştir (234).

- skor 0: fibrin ağının olmaması
- skor 1: nadiren dağılmış fibrin ağı
- skor 2: birbiri içine zayıf bir şekilde geçen ince fibrin ağı
- skor 3: birbiri içine bol miktarda geçen yoğun fibrin ağı

INFINITY 3 ANALYZE Release 6.5 görüntüleme sistemi ile hematoksilen eozin boyalı kesitler farklı büyütmelerde fotoğraflanmıştır.

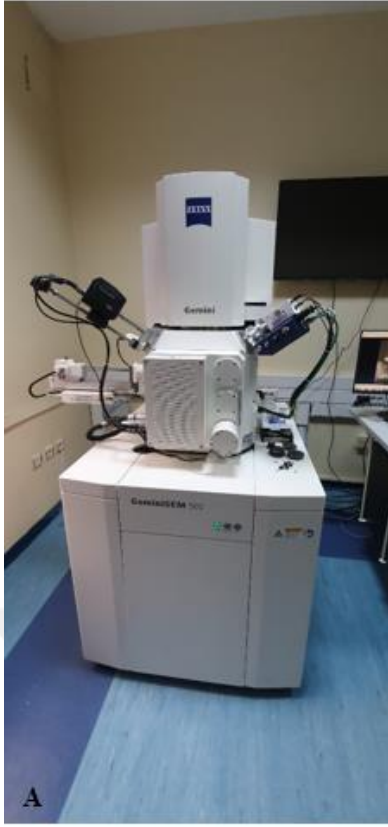
3.6 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) İncelemesi

T-PRF örneklerinin morfolojik değerlendirilmesi için taramalı elektron mikroskobu (ZEİSS GEMİNİ 500, ALMANYA) kullanıldı. T-PRF örnekleri %2,5 gluteraldehit ile sabitlendikten sonra kurutma işlemine tabi tutuldu. SEM'de fibrin

ağ yapısını açık bir şekilde görmemizi kolaylaştırmak için hastalardan elde edilen T-PRF membranlar fibrin ağ yapısının detaylı görüntülenebilmesi için bir presel yardımıyla koparılarak alındı ve bir lam yüzeyine sabitlendi.

SEM' de örneklerin yüzeyin görüntülenmesi için elektronları yansıtacak bir madde ile kaplanması gereklidir. Bunun için numuneler, 20 nm altın/paladyum püskürtmesiyle kaplandı ve ardından taramalı elektron mikroskopisinde incelemeye alındı. İşlem sırasında değişik büyütmeler altında fotoğraflar elde edildi ve kaydedildi. (Fotoğraf 3.10)





Fotoğraf 3.9: A: Numunelerin incelendiği taramalı elektron mikroskobu (ZEİSS GEMİNİ 500, ALMANYA), B: Altın/paladyum kaplanmış numunelerin görünümü, C: SEM görüntülerinin kayıt altına alındığı bilgisayar ortamı.

3.7 T-PRF'nin PBS Solüsyonunda Degredasyonu

Makroskopik analizde tartılan T-PRF membranlarından biri bozunma hızlarını değerlendirmek amacıyla %7.4'lük PBS solüsyonunda süresince orbital çalkalama cihazına (Unimax 1010 Orbital Shaker)(Fotoğraf 3.11) 1 hafta süresince yerleştirildi.(235)T-PRF membranlar bu süre boyunca cihazda sürekli çalkalama

işlemine tabi tutuldu. Membranlar 1 hafta sonunda distile su ile yıkanıp kurutuldu ve hassas terazide ağırlıkları gram cinsinden tekrar ölçüldü. Bozunma miktarları:

$$\% \text{bozunma} = \frac{\text{ilk ağırlık} - \text{son ağırlık}}{\text{ilk ağırlık}} \times 100 \text{ şeklinde hesaplandı. (236)}$$

İlk ağırlık



Fotoğraf 3.10: T-PRF membranların orbital çalkalama cihazındaki yerleşimi

3.8 İstatistiksel Analiz

Çalışma için gereken minimum örneklem sayısı literatürdeki benzer makale (232) referans alınarak tip 1 hata 0,05 ve %80 power, etki büyüklüğü 0,75 olacak şekilde her bir grup için 15 birey olarak hesaplandı.

Çalışmamızdaki verilerin istatistiksel hesaplamaları bilgisayar ortamında SPSS 21 versiyonu kullanılarak gerçekleştirildi. Ölçülen özelliklere ait verilerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Gruplar arası karşılaştırmada, normal dağılan verilerde Independent Samples T testi, normal dağılmayan veriler için Mann Whitney U testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin

analizi için Ki-Kare testi uygulandı. Grup içi zamana bağılı değişim karşılaştırmasında, normal dağılan veriler için Paired Samples T testi, normal dağılmayan veriler için Wilcoxon testi kullanıldı. Verilerin sunulmasında ve değerlendirilmesinde ortalama değer, standart sapma (ss), ortanca, sayı (%), minimum (min.) ve maksimum (maks.) gibi tanımlayıcı değerler kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

Çalışmamız vitamin D eksikliği tanımlanan ve eksiklik nedeniyle 3 ay vitamin D takviyesi alan (test) ve optimal vitamin D seviyesi sahip (kontrol) hastalar olmak üzere 2 grup olarak planlandı. Çalışmaya katılan vitamin D düzeyi ≤ 20 ng/ml olan sistemik olarak sağlıklı 24 ve vitamin D seviyesi $30 \geq$ ng/ml olan sistemik olarak sağlıklı 24 birey olmak üzere toplam 48 hasta üzerinde tamamlandı. Bu bireylere ait T-PRF membranlarının en, boy, ağırlıkları, fibrin ağ yapılarının histolojik olarak ışık mikroskopunda ve taramalı elektro mikroskopundaki (SEM) görüntüleri ve degradasyonla kimyasal bozulma miktarları değerlendirildi.

4.1 Demografik Bulgular

Çalışmamıza 22-52 yaşları arasında olan 48 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalamaları (test grubunda ortalama 31,916, kontrol grubunda ortalama 33,791) açısından iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p=0,562$) (Tablo 4.1).

Hastaların cinsiyet dağılımı da iki grup arasında (test grubunda kadın oranı %66,6, kontrol grubunda ise %62,5) benzerdi ($P=0.763$).

Tablo 4.1: Çalışmaya katılan bireylerin demografik bilgileri

	Yaş (Ortalama $\pm$ Ss)	Ortanca	Min.	Max.	Cinsiyet (K\E)
Test grubu	31,916 $\pm$ 8,672	29,5	22	52	16\8
Kontrol grubu	33,791 $\pm$ 9,495	36,5	22	51	15\9
P değeri	0,562				0,763

Veriler, ortalama $\pm$ standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir. Independent Samples t Test. Ki-Kare testi

4.2 Hastaların Kan Parametlerinin Karşılaştırılması

Çalışmamıza katılan bütün hastaların güncel tam kan sayımı ve 25 hidroksi-vitamin D değerlerinin ortalamaları alınmıştır (Tablo 4.2).

D vitamin eksikliği olan bireylerin zamana bağlı kan parametreleri açısından, vitamin D düzeyi hariç diğer kan parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.2: Vitamin D eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. ay kan parametrelerinin ortalaması

		N	Ortalama±Ss
Pair 1	VİTAMİN D T0	24	8,3±2,642
	VİTAMİN D T3	24	45,003±57,44
Pair 2	WBC T0	24	6,702±1,823
	WBC T3	24	6,903±2,125
Pair 3	RBC T0	24	4,896±0,582
	RBC T3	24	4,964±0,516
Pair 4	PLT T0	24	266,291±46,376
	PLT T3	24	269,708±38,27
Pair 5	PDW T0	24	13,225±2,598
	PDW T3	24	13,162±2,137
Pair 6	MPV T0	24	10,18±1,102
	MPV T3	24	10,387±0,945
Pair 7	MCV T0	24	85,337±5,238
	MCV T3	24	86,645±4,786
Pair 8	HCT T0	24	41,791±4,404
	HCT T3	24	41,616±3,965

(WBC: Lökosit sayısı, RBC: Eritrosit sayısı, PLT: Trombosit sayısı, PDW: Trombosit dağılım genişliği, MPV:Trombosit volümü, MCV:Ortalama eritrosit hacmi, HTC:Hemotokrit) Veriler, ortalama ± standart sapma (Ss)olarak ifade edilmektedir. Paired Sampless T testi

Tablo 4.3: D vitamin eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. Ay kan parametrelerinin karşılaştırılması

	Kan Parametreleri	Ortalama Fark	Ss	P değeri
Pair 1	VİTAMİN D T0- VİTAMİN D T3	-36,703	56,639	*<0,001
Pair 2	WBC T0 – WBC T3	-0,2	1,628	0,552
Pair 3	RBC T0 – RBC T3	-0,068	0,433	0,448
Pair 4	PLT T0– PLT T3	-3,416	42,46	#0,168

Pair 5	PDW T0– PDW T3	0,062	3,044	0,921
Pair 6	MPV T0– MPV T3	-0,206	0,87	0,257
Pair 7	MCV T0– MCV T3	-1,308	4,217	0,142
Pair 8	HCT T0– HCT T3	0,175	3,721	0,820

*: p<0,05 gruplar arası istatistiksel fark var. T0:Vitamin D eksikliği başlangıç grup T3:3 ay takviye alan grup (WBC: Lökosit sayısı, RBC:Eritrosit sayısı, PLT: Trombosit sayısı, PDW: Trombosit dağılım genişliği, MPV:Trombosit volümü, MCV:Ortalama eritrosit hacmi, HTC:Hemotokrit) Paired samples T test, #Wilcoxon test

Gruplar arasında kan parametrelerinin karşılaştırması sonucu vitamin D seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmuş, diğer parametrelerde anlamlı farklılık bulunmamıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: D vitamin eksikliği olan bireylerin kan parametrelerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

Group Statistics							
	Gruplar	N	Ortalama±Ss	Ort.	Min.	Max.	P değeri
VİTAMİN D	Test	24	8,3±2,642	8	3	13	*<0,001
	Kontrol	24	41,794±17,59	35,35	29,7	99	
WBC	Test	24	6,702±1,823	6,345	3,38	10,7	0,375
	Kontrol	24	6,326±0,954	6,06	3,38	10,7	
RBC	Test	24	4,896±0,582	4,815	3,95	6,21	0,982
	Kontrol	24	4,899±0,439	4,785	4,23	5,58	
PLT	Test	24	266,291±46,376	256	197	402	#0,635
	Kontrol	24	267,041±41,997	263	196	340	
PDW	Test	24	13,225±2,598	12,95	9,5	18	0,368
	Kontrol	24	13,942±2,863	13,3	9,4	19,67	
MPV	Test	24	10,18±1,102	10,5	7,8	12,6	#0,635
	Kontrol	24	10,332±1,962	10,25	8,32	17,7	
MCV	Test	24	85,337±5,238	83,95	77,2	93,7	0,219
	Kontrol	24	86,94±3,493	86,75	80,6	93,4	
HCT	Test	24	41,791±4,404	41,95	31,6	50,1	0,480
	Kontrol	24	42,637±3,793	42,3	37,19	49,2	

*: p<0,05 gruplar arası istatistiksel fark var. Test: Vitamin D ekikliği olan bireyler Kontrol:Vitamin D seviyesi optimal olan bireyler WBC:Lökosit sayısı, RBC:Eritrosit sayısı, PLT: Trombosit sayısı, PDW: Trombosit dağılım genişliği, MPV:Trombosit volümü, MCV:Ortalama eritrosit hacmi, HTC:Hemotokrit) Independent sample T test, #Mann Whitney U testi

4.3 Makroskopik Veriler Kimyasal Analizler

D vitamini eksikliği olan bireylerden başlangıç ve 3 ay sonra elde edilen T-PRF membranlar, kontrol grubundan elde edilen T-PRF membranlar makroskopik olarak; en, boy, ağırlık parametreleri ile kimyasal olarak ise degradasyon yüzdesi ile karşılaştırılmıştır.

Hastalardan elde edilen T-PRF membranların boyutu cm cinsinden, ağırlığı g cinsinden hesaplandı. T-PRF membranların kimyasal bozunma miktarları ise başlangıç ağırlıklarından son ağırlıklarının çıkarılması ve bu sonucun başlangıç ağırlığına bölünerek yüzdesi ile elde edildi.

Test grubunun makroskopik ve kimyasal veri ortalamaları alındı (Tablo 4.5). Test grubunun zamana bağlı değişiminde T-PRF membran ağırlığında artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,047$). Diğer parametrelerde ise zamana bağlı değişimde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı (Tablo 4.6).

Tablo 4.5: D vitamin eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. ay T-PRF'lerinin makroskopik ve kimyasal bozulma verilerinin ortalaması

Makroskopik Veriler	N	Ortalama$\pm$Ss
EN T0	24	1,383 $\pm$ 0,259
EN T3	24	1,533 $\pm$ 0,308
BOY T0	24	3,316 $\pm$ 0,927
BOY T3	24	3,445 $\pm$ 0,667
AĞIRLIK T0	24	0,342 $\pm$ 0,155
AĞIRLIK T3	24	0,582 $\pm$ 0,704
DEGREDAŞYON T0	24	37,875 $\pm$ 15,504
DEGREDAŞYON T3	24	43,791 $\pm$ 26,018

T0:Vitamin D eksikliği başlangıç gurup T3:3 ay takviye alan grup n:hasta sayısı. Veriler, ortalama $\pm$ standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir.

Tablo 4.6: Vitamin D eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. ay T-PRF'lerinin makroskopik ve kimyasal bozunma verilerinin karşılaştırılması

Makroskopik veriler	Ortalama fark	Ss	P değeri
EN T0– EN T3(cm)	-0,15	0,4	0,079
BOY T0– BOY T3(cm)	-0,129	1,103	0,572
AĞIRLIK T0 – AĞIRLIK T3(g)	-0,24	0,745	*#0,047
DEGREDAŞYON T0 – DEGREDAŞYON T3(%)	-5,916	32,668	0,384

*: $p<0,05$ gruplar arası istatistiksel fark var. T0:Vitamin D eksikliği başlangıç grup T3:3 ay takviye alan grup, Paired Sample T test, #Wilcoxon testi

Test ve kontrol grubunun makroskopik ve kimyasal verilerini karşılaştırıldığımızda yalnız membran ağırlıklarının istatistikler olarak anlamlı fark gösterdiği bulunmuştur ($p=0,013$). Diğer makroskopik ve kimyasal parametreler açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır($p>0,05$) (Tablo 4.7)

Tablo 4.7: D vitamin eksikliği olan bireylerin T-PRF'lerinin makroskopik ve kimyasal özelliklerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması

	Gruplar	N	Ortalama±Ss	Ort.	Min.	Max.	P değeri
EN(cm)	Test	24	1,383±0,259	1,35	0,9	2	0,403
	Kontrol	24	1,445±0,253	1,4	1	2	
BOY(cm)	Test	24	3,316±0,927	3,15	1,5	5	0,075
	Kontrol	24	3,725±0,587	3,7	2,3	5,1	
AĞIRLIK(g)	Test	24	0,342±0,155	0,325	0,14	0,75	*#0,013
	Kontrol	24	0,453±0,165	0,42	0,18	0,77	
DEGREDAŞYON(%)	Test	24	37,875±15,504	40	6	65	0,802
	Kontrol	24	38,262±21,332	38,2	5	85	

*: $p<0,05$ gruplar arası istatistiksel fark var. Test: Vitamin D ekikliği olan bireyler Kontrol: Vitamin D seviyesi optimal olan bireylerIndependent samples T testi #Mann Whitney U testi

4.4 Fibrin Ağ Deseni Skoru

T-PRF membranları, hematoksilen-eozin boyalı lamlarda mikroskopik olarak kan elemanları yapışma indeksi (BEAI) kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analiz sonucu membranlar fibrin yoğunluklarına göre 0-3 arasında değişen rakamlara göre skorlanmıştır.

T-PRF membranların test grubu içinde fibrin ağ desen skorlarının ortalamaları alınmıştır (Tablo 4.8). Test grubunun zamana bağlı değişim açısından fibrin skorları arasında anlamlı fark görülmüştür (Tablo 4.9).

Tablo 4.8: Vitamin D eksikliği olan hastaların başlangıç (T0) ve 3 ay sonrasındaki (T3) fibrin ağ skoru ortalaması

	N	Ortalama	Ss	Ss Error Mean
Fibrin ağ desen skoru T0	24	2,625	0,494	0,10095
Fibrin ağ desen skoru T3	24	1,833	0,481	0,09829

Tablo 4.9: Test grubu içi fibrin ağ skorunun değerlendirilmesi

	Ortalama Fark	Ortalama±Ss	P değeri
Fibrin ağ desen skoru T0- Fibrin ağ desen skoru T3	0,791	0,588	<0,001

Test: Vitamin D eksikliği olan bireyler Kontrol: Vitamin D seviyesi optimal olan bireyler. Veriler, ortalama ± standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir. Paired sample T test

Grup içi değerlendirmede vitamin D eksikliği olan hastalar ve 3 ay sonrasının fibrin ağ skorlamada dağılım olarak daha yüksek değer almıştır. Vitamin D eksikliği olan hastaların yoğun bir yapı sergilediği görüldü (Tablo 4.10)

Tablo 4.10: Fibrin ağ skorlamasındaki T0 ve T3 gurubu arasındaki dağılım

Fibrin ağ desen skoru	T0\N	T3\N	Total	P değeri
1	0 _a	5 _b	5	<0,001
2	9 _a	18 _b	27	
3	15 _a	1 _b	16	
Total	24	24	24	

T0:Vitamin D eksikliği başlangıç grup T3:3 ay takviye alan grup Ki-Kare testi

Test ve kontrol gruplarının arasında fibrin ağ desen skoru ortalaması karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu (Tablo 4.11). Kategorik olarak karşılaştırıldığında ise test grubunun anlamlı olarak yoğun fibrin deseni sergilediği görülmüştür ($p < 0,001$) (Tablo 4.12)

Tablo 4.11:Test ve kontrol gruplarının fibrin skorlamasının ortalaması

Fibrin ağ desen skoru	Grup	N	Ortalama±Ss	P değeri
	Test	24	2,625±0,494	<0,001
	Kontrol	24	1,875±0,612	

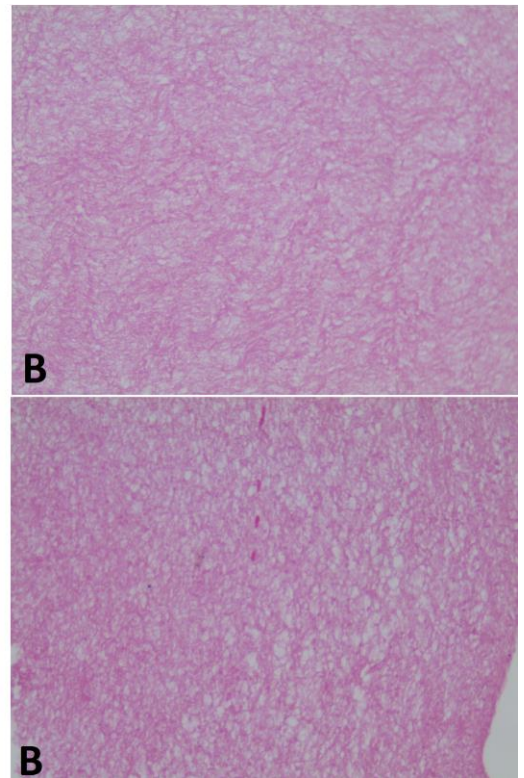
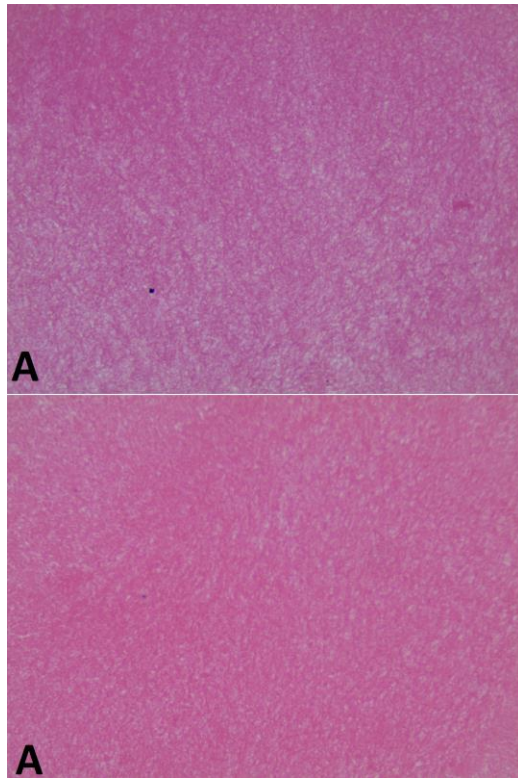
Test: Vitamin D ekikliği olan bireyler Kontrol: Vitamin D seviyesi optimal olan bireyler Veriler, ortalama ± standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir.

Tablo 4.12:Test ve kontrol gruplarının fibrin ağ desen skorlarının karşılaştırılması

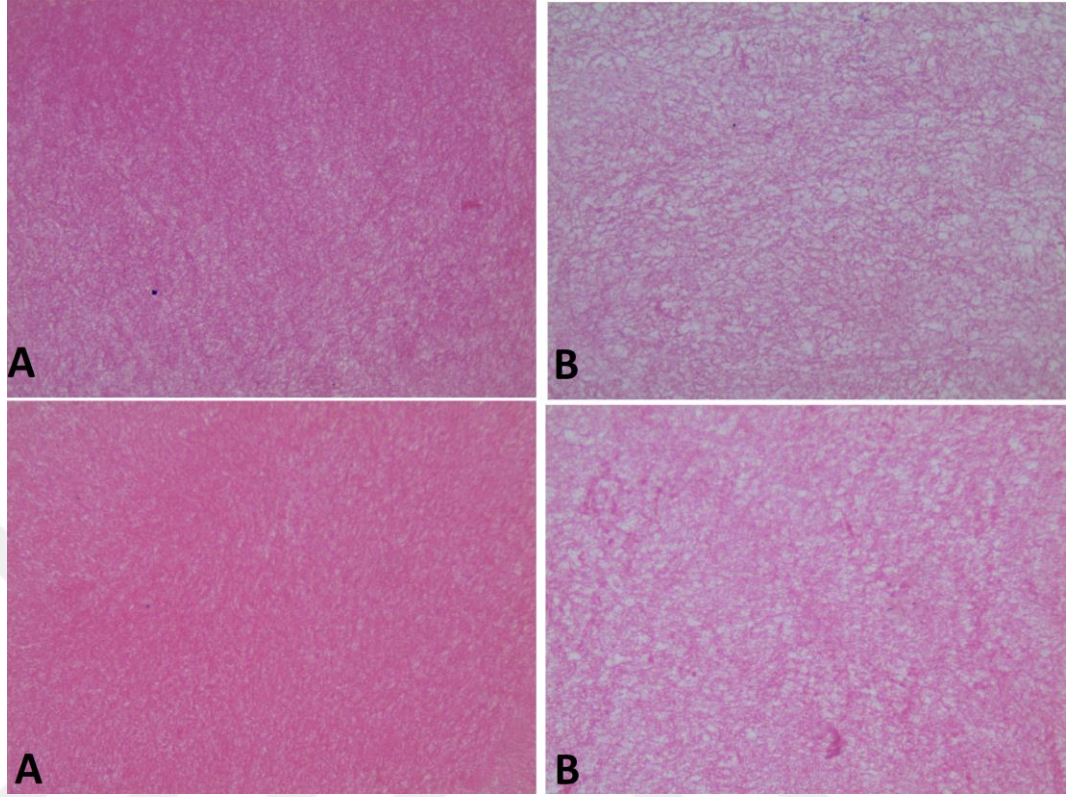
Fibrin ağ desen skoru	Grup		P değeri
	Test(n)	Kontrol(n)	
1	0	6	*#<0,001
2	9	15	
3	15	3	

Test: Vitamin D ekikliği olan bireyler Kontrol: Vitamin D seviyesi optimal olan bireyler #Ki-kare testi *: p<0,05 gruplar arası istatistiksel fark var. n: kişi sayısı.

4.4.1 Işık Mikroskobu Altında Histolojik İnceleme Sonuçları



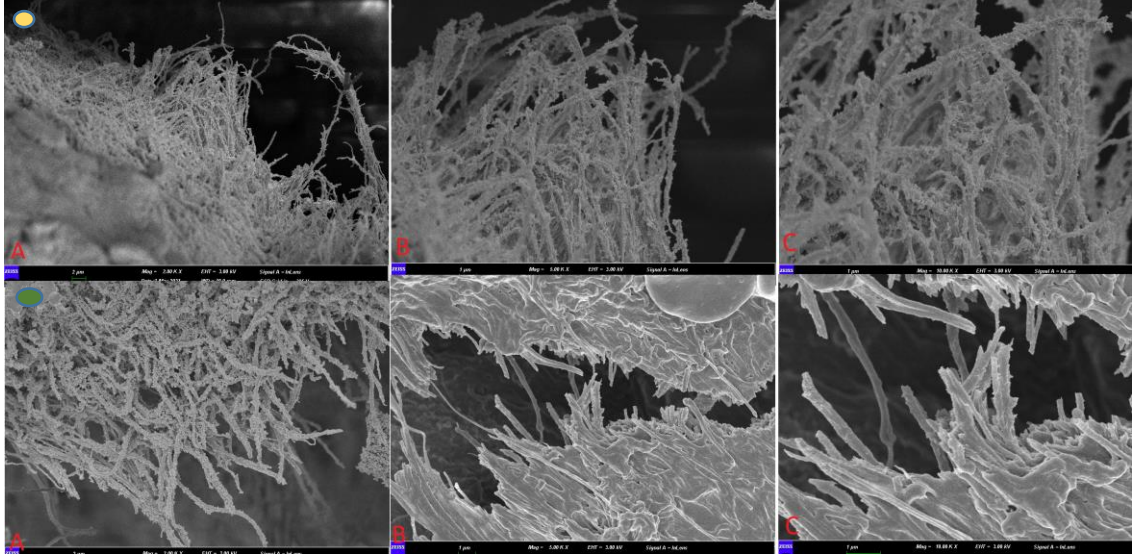
Fotoğraf 4.1: A:Vitamin D eksikliği olan bireylerin ışık mikroskopunda x400'lük büyütmedeki görüntüleri B:3 ay vitamin D takviyesi alan bireylerin ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüleri



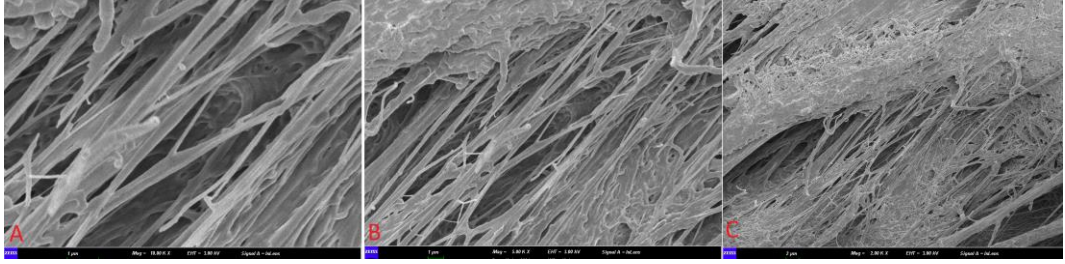
Fotoğraf 4.2: A:Vitamin D eksikliği olan bireylerin(test grubu) ışık mikroskopunda x400'lük büyütmedeki görüntüleri B:Vitamin D seviyesi optimal olan bireylerin(kontrol grubu) ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüleri

4.5 Taramalı Elektronmikroskopu (SEM) Analizi

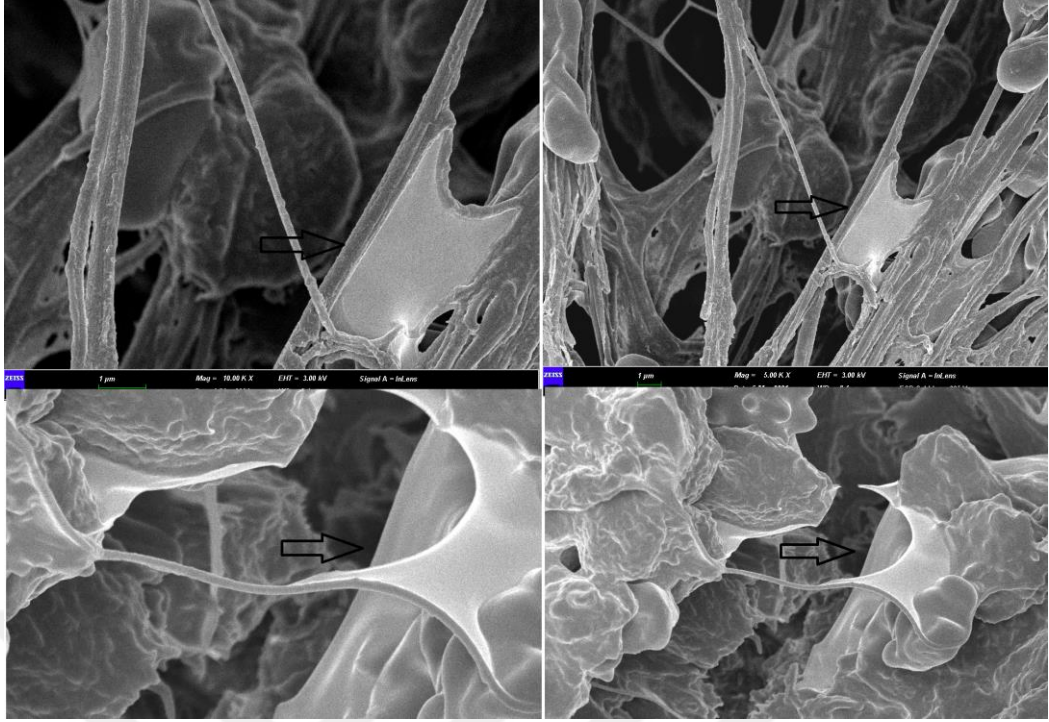
Çalışmamızda yapılan SEM incelemesi sonucu test grubundaki bireylerin T-PRF membran yapılarında kontrol grubuna kıyasla primer ve sekonder yapının görülmediği tek tip, devamlılık göstermeyen daha ince bir fibrin yapısına sahip olduğu görülmüştür (Fotoğraf 4.3 ve Fotoğraf 4.4). Bunun dışında çalışmamızda test grubumuzdaki bazı hastaların fibrin yapısında sakızimsı görüntüye sahip yapılara rastlanmıştır (Fotoğraf 4.5).



Fotoğraf 4.3: (A:X2000 büyütme görüntüleri B:X5000 büyütme görüntüleri c:10000 büyütme görüntüleri (Üst kısımda sarı olarak işaretli vitamin D eksikliği olan bireyin başlangıç görüntüsü iken alt kısımdaki yeşil işaretli görüntü 3. Ay takviye sonrasını göstermektedir.)



Fotoğraf 4.4: Kontrol grubundaki bir bireyin fibrin ağ yapısı görüntüsü sırasıyla A:X10000'lik büyütme B:x5000'lik büyütme C:2000'lik büyütme



Fotoğraf 4.5: Vitamin D eksikliği görülen bireylerde sakız benzeri yapıların okla gösterilmesi

5. TARTIŞMA

Vitamin D steroid türevli insan vücudunda sentezlenebilen bir hormondur. Ancak bazı nedenlerden ötürü vücuttaki miktarı azalmaktadır. Koyu cilt rengine sahip olmak, yaşlılık, granülomatoz hastalıklar, rikets ve osteomalazi gibi genetik hastalıklar, yeterince güneş ışığı almamak, beslenme bozukluğu ve obezite, glukokortikoid ve antikonvülzan ilaç kullanımı vitamin D eksikliğinin nedenleri arasındandır (2, 3, 182).

Literatürde yapılan çalışmalarda D vitamini eksikliğinde endotel fonksiyon bozukluğuna bağlı KVH, miyokart enfarktüsü ve felce sebebiyet verebileceği gösterilmiştir (205). Beer ve ark. kanser hastalarında yaptıkları çalışmada da, yüksek vitamin D seviyesinin tromboembolitik olayların azaltılabileceğini ortaya koymuşlardır (207). Diğer taraftan vitamin D eksikliğinde osteoblastik aktivede azalma sonucu kemik yapımında azalma ve osteokalsin sentezini azalması sonucu kemik mineral yoğunluğunda azalma meydana gelmektedir (237).

Vitamin D periodontal hastalıklarda hem kemik yapımını indüklemesi hemde sitokinleri antienflamatuvar etkiyle inhibe etmesi sonucu destekleyici niteliktedir (238). Yapılan başka bir çalışmada da, Ca ve vitamin D takviyesinin periodontal hastalıkta sığ sondalama derinlikleri, daha az kanama bölgesi, daha düşük dişeti indeksi değerleri, daha az furkasyon tutulumu, daha az ataşman kaybı ve daha az alveolar kret yüksekliği kaybına neden olduğu görülmüştür (216).

D vitamin ile ilgili ratlar üzerinde Oda ve ark. yaptığı bir çalışmada düşük Ca diyeti ile beslenen farelerin keratinositlerinden vitamin D reseptörü VDR'nin gen aktivasyonundaki değişim sonucu yara iyileşmesinin gecikmesine neden olduğu gösterilmiştir (231).

Trombositten zengin ürünler yara iyileşmesinde (131), furkasyon defektlerinde (239), dişeti çekilmelerinin tedavisinde (240), periodontal kemik içi defektlerde rejenerasyon amacıyla (45), cerrahi olmayan periodontal tedavide (41, 42), çekim soketlerinde (141) ve birçok alanda sıklıkla kullanılmaktadır.

Choukroun 2001 yılında oral maksillofasiyal bölgede kullanılmak üzere PRF'yi tanımlamıştır (117). Daha sonra Dohan ve ark. lökosit içeriği fazla olan bu yapıyı L-PRF olarak isimledirdi (17). L-PRF tıp ve diş hekimliğinde sık kullanımı

mevcuttur. Ancak O'Conelli ve ark. tüp içerisindeki silika partiküllerinin hastaya da geçebileceğini gösterdiler (20). Bunun üzerine Tunalı ve ark. 2013 yılında titanyum tüpler kullanarak daha sıkı ve matür fibrin yapısına sahip T-PRF geliştirmişlerdir (129).

T-PRF fibrin yapısı olarak L-PRF'ye benzerlik göstermektedir ancak bazı farklılıklar bulunmaktadır. Bhattacharya ve ark. 2020'de sağlıklı hastalarda yaptıkları L-PRF ve T-PRF membranların kıyaslanmasında, T-PRF'nin silika cam tüplerde hazırlanan L-PRF'ye göre periodontal rejenerasyon alanında daha avantajlı olduğunu göstermişlerdir (241). Gummaluri ve ark. kemik içi defektlerin tedavisi amacıyla T-PRF ve L-PRF'nin karşılaştırıldığı çalışmada T-PRF'nin L-PRF'ye kıyasla defekt dolumunda daha etkili olduğunu belirtmişlerdir (242). Çalışmalarda T-PRF membranının L-PRF membrana kıyasla silika cam partikülleri içermemesi, daha kalın ve belirgin fibrin ağ yapısına sahip olması, daha iyi organize fibrin ve matriks yapısı içermesi nedeniyle çalışmamızda T-PRF tercih edildi (21).

Çalışmamız bilginiz dahilinde, vitamin D eksikliği bulunan hastaların T-PRF yapılarını inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmamızda toplumda yaygın görülen vitamin D eksikliğinin diş hekimliğinde sık kullanım alanı olan T-PRF'nin makroskopik özelliğine, bozunma hızına ve fibrin ağ deseni üzerine etkilerini araştırdık.

Blondon ve ark 2019'da 44 katılımcı üzerinde gerçekleştirdiği vitamin D eksikliği bulunan hastalarda vitamin D takviyesi yapılmış, trombin oluşumu, fibrin ve pıhtı yapısı, kandaki pıhtılaşma faktörleri değerlendirilmiştir. Çalışmada takviye sonrası kan parametrelerinde, pıhtı lizis süresinde ve trombin üretiminde anlamlı farklılık olmazken thrombin oluşumu azalmıştır ve trombin oluşumunun azalması pıhtı yoğunluğunu azaltmıştır. (243)

Çalışmamıza katılan hasta popülasyonu 22-52 yaş arası bireylerden oluşmaktadır. 18 yaş altı hastalar, henüz tamamlanmamış olan büyüme gelişim döneminin getirdiği hormonal dalgalanmaların kan parametrelerini etkileyebilmesi nedeniyle, 65 yaş üstü hastalar ise sistemik hastalıklar ve ilaç kullanımı nedeniyle çalışma dışı bırakılmıştır.

Çalışma sonucumuza göre, en ve boy parametreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmazken, sağlıklı bireylerde T-PRF membran ağırlığı, vitamin D eksikliği bulunan bireylere kıyasla anlamlı düzeyde daha fazla bulunmuştur.

D vitamini eksikliği bulunan bireylerin, vitamin D seviyesi optimale geldikten sonra, fibrine ait en ve boy parametrelerinde artış olmakla birlikte anlamlı farklılık bulunmamıştır. Ağırlık parametresi açısından ise, D vitamin düzeyi optimale geldikten sonra elde edilen fibrinin ağırlığı başlangıca kıyasla anlamlı düzeyde fazla bulunmuştur. Vitamin D takviyesi alımı sonrası hastalardaki anlamlı olmayan boyut artışı, fibrin yapısının kalınlaşması ve hacminin artması ile açıklanabilir.

Literatürde D vitamin eksikliği bulunan bireylere ait T-PRF makroskopik özelliklerini inceleyen bir çalışma şu anki bilgilerimiz doğrultusunda bulunmamaktadır.

Diğer konularda yapılmış çalışmalara göz attığımızda, varfarin tedavisi gören ve sağlıklı gönüllülerden elde edilen T-PRF, makroskopik açıdan incelendiğinde, en ve boy olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır (232).

Miron ve ark sağlıklı bireylere ait PRF membran boyutlarını, cinsiyet, yaş grupları ve kan alımı ile santrifüjün başlatılması arasındaki süreye göre karşılaştırmışlardır. Kadın hastalarda erkeklere kıyasla ortalama %17 daha büyük PRF elde etmişlerdir. PRF membran boyutlarının ise, 61-80 yaşlarındaki hastalarda en büyük olup, bunu 41-60 ve 21-40 yaşlarındaki hastaların izlediğini rapor etmişlerdir. Ancak yaş grupları arasında PRF membran boyutlarındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (244).

Diğer bir çalışmada, Dohan ve ark. farklı santrifüjleme cihazları kullanılarak elde edilen L-PRF membran boyutlarını karşılaştırmışlardır. Çalışmada, dört farklı masa üstü santrifüj cihazı kullanılmış intraspın cihazında elde edilen L-PRF'nin diğer 3 farklı cihazlardan elde edilen L-PRF membranlara göre uzunluk, genişlik ve ağırlık olarak daha fazla olduğu gösterilmiştir (122).

Castro ve ark 8 sağlıklı gönüllü üzerinde farklı santrifüjleme kuvvetleri ve sürelerinin PRF membran ve pıhtı yapıları üzerine etkilerini incelemişlerdir. Üç farklı yöntem kullanarak elde ettikleri PRF membran ve pıhtıları en, boy ve ağırlıkları açısından karşılaştırdıklarında, gruplararasıda anlamlı farklılık bulunmamıştır. Cam tüplerle üretilen PRF pıhtıları, silika kaplı plastik tüplerle (ortalama $1,6 \pm 0,3$ g) karşılaştırıldığında daha yüksek ağırlık (ortalama $1,9 \pm 0,4$ g) göstermekle birlikte, bu farklılık anlamlı bulunmamıştır. Bunun nedeni, kanın silika kaplı tüpe kıyasla cam tüp kullanımında hemen pıhtılaşmaya başlaması ve bunun sonucunda elde edilen fibrinin daha büyük, daha kalın ve daha ağır olması ile açıklanmıştır (245).

Çalışmamızda fibrin ağ yapısı ışık mikroskobu altında incelendiğinde, vitamin D eksikliği bulunan gruptaki bireylere ait fibrin ağ desen skorları sağlıklı kontrole kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu. Grup içi karşılaştırmada ise D vitamin eksikliği olan bireylerin, d vitamin düzeyleri optimale geldikten sonra, fibrin ağ desen skorlarında anlamlı düzeyde düşüş gözlemlendi. Bu sonuç vitamin D eksikliği olan bireylerde fibrinolitik olayların artması sonucu, fibrin yapısındaki değişikliklerle açıklanabilir. Ancak vitamin D eksikliği olan bireylerde yoğun fibrin yapısı içermesi, fibrin kalitesinin daha iyi olduğuna işaret etmemektedir. Çünkü fibrin ağ yoğunluğunu birçok faktör etkilemektedir (246).

Literatürde vitamin D eksikliği bulunan bireylere ait T-PR'nin fibrin ağ desenini inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Yajamanya ve ark. farklı yaş gruplarında trombosit zengin fibrin (PRF) ağ modellerindeki varyasyonları değerlendirdikleri çalışmada, ilerleyen yaşla birlikte yoğun fibrin ağ tipinde belirgin bir azalma ve gevşek tipte fibrin dizilişinde artış olduğunu ortaya koymuşlardır (233).

Farklı yaş gruplarında değişken santrifüjleme hızları ve zaman süreleri kullanılarak elde edilen PRF'nin fibrin ağ modelindeki varyasyonları değerlendiren bir çalışmada da, 20-34 yaş grubundaki bireylere ait PRF'nin diğer yaş gruplarına göre daha yoğun fibrin ağına sahip olduğu bulunmuştur (247). Bu çalışmada görülen bulgular ışığında, daha ileri yaş gruplarında PRF hazırlama sürecinde

santrifüj hızı ve süresinin artırılmasının fibrin ağının yoğunluğunu üzerinde daha iyi sonuçlar verebileceğini öngörmüşlerdir.

Sağlıklı ve hipertansif rahatsızlığa sahip olup aynı zamanda sigara kullanan bireylerde yapılan bir çalışmada, L-PRF ve T-PRF üzerinde histolojik olarak hücre bloğu sitolojisi yöntemiyle fibrin ağ yapıları karşılaştırılmıştır. Değerlendirme sonucuna göre hipertansif katılımcılarda, her iki trombosit konsantrisinde de histolojik olarak gevşek fibrin ağ yapısının daha fazla olduğu görülmüştür. Sağlıklı bireylerdeki T-PRF pıhtılarının L-PRF pıhtılarına kıyasla sürekli bütünlüğe sahip, oldukça organize ve daha kalın bir fibrin ağı gösterdiği belirtilmiştir (248).

Literatürde farklı L-PRF elde edilme yöntem ve cihazlarının karşılaştırıldığı çalışmada, sağlıklı gönüllülerden alınan kan, farklı santrifüjleme protokollerine tabi tutularak L-PRF'ler elde edilmiştir. Elde edilen L-PRF'lerin ışık mikroskobu altındaki fibrin ağ desenlerinin benzer olduğu görülmüştür (122).

Shats ve ark. aterosklerozun fibrin ağları üzerine etkisini değerlendirdiği çalışmada, pH değerlerini değiştirerek, farklı fibrinler elde etmişlerdir. Düşük pH ile elde edilen fibrin ağ yapılarının kalın, yüksek pH ile elde edilen fibrin ağlarının ise daha ince olduğu bulunmuştur. Ayrıca düşük pH kullanılarak oluşturulan membranların düşük gerilme mukavemeti, daha yüksek geçirgenlik ve daha hızlı parçalanabilirlik gösterdiklerini rapor etmişlerdir (249) .

SEM, PRF pıhtılarının fibrin ağ yapısını incelemek için araştırmacılar tarafından sıklıkla kullanılmaktadır. Biz de çalışmamızda vitamin D eksikliği bulunan ve sağlıklı bireylerin T-PRF membran ağ yapılarını SEM'de karşılaştırdık ve vitamin D eksikliği olan bireylerin fibrin liflerinin sağlıklı bireylere kıyasla daha ince ve devamlılık göstermeyen yapıda olduğunu gözlemledik. Ancak vitamin D takviyesi alan hastaların fibrin ağ yapılarının, vitamin D seviyesi optimal olan bireylere benzer yapıda olduğu görüldü. Bu sonuçla vitamin D takviyesi alan hastaların fibrin ağ yapılarının, vitamin D seviyesi optimal olan hastaların fibrin yapılarına ulaşabileceğini düşünmekteyiz. Ancak literatürde bu bilgilerimizi destekleyecek, bilgimiz dahilinde bir çalışma bulunmamaktadır.

Dohan ve ark 15 sağlıklı gönüllü üzerindeki yaptığı PRF ‘nin yapısal özelliklerinin değerlendirildiği çalışmada, fibrin maturasyonunun sitokin salınımı ve hücre iskeleti olarak yara bölgesindeki iyileşme potansiyeline katkıda sağlayacağını belirtmişlerdir (50).

İki farklı PRF membran elde edilmesi yönteminin karşılaştırıldığı Kobayashi ve ark. yaptığı çalışmada, bir gruptaki PRF membranlar gazlı bezle sıkıştırılarak, diğer grupta ise özel bir aparatla elde edilmiştir. Gazlı bezle sıkıştırma sonucu elde edilen PRF membranın fibrin ağ yapılarının özel bir bastırma cihazıyla elde edilen PRF membrana göre daha SEM görüntülerinde yoğun fibrin ağ tabakası içerdiği bulunmuştur. Bunun nedeni gazlı bezle sıkıştırma kuvvetinin fazla olması sonucu azalmış kalınlığın, yoğunluğu artırması ile açıklanmıştır(122). Çalışmamızda bu gibi olumsuzlukları elimine etmek ve PRF membranların kalınlıklarını standardize etmek amacıyla, tüm T-PRF membranlar Xpression(intralook) marka PRF boxta kendi ağırlığında, 1 mm’lik metal plakalar yardımıyla membran haline getirildi.

Diğer bir çalışmada, Nagajara ve ark. yaptığı iki farklı santrifüj yöntemiyle farklı PRF’ler elde edilmiştir. PRF’lerin SEM görüntülerinde CaCl içeren tüpte tekrar santrifüjle elde edilen PRF’nin fibrin ağ yapıları 1100 g’de 6 dk santrifüjle elde edilen PRF’ye kıyasla daha yoğun fibrin matriksi içerdiğini ortaya koymuşlardır (250) .

İsobe ve ark PPTF, A-PRF, CGF yapılarını SEM üzerinde incelediklerinde, CGF pıhtılarının, A-PRF pıhtılarından daha kalın fibrin lifleri içerdiğini belirtmişlerdir. CaC ilave edilerek hazırlanır PPP pıhtılarının ise diğer pıhtılardan nispeten daha ince liflerden oluştuğunu göstermişlerdir(251).

Miron ve ark. yaptığı çalışmada piyasadaki 3 farklı santrifüj cihazında farklı rpm ve dakikalarda PRF pıhtıları elde etmişlerdir. PRF pıhtılarını; sıralı pipetleme tekniği ile hücre sayıları, ELISA ölçümü ile büyüme faktörü salınımı ve SEM ile fibrin ağ yoğunluğu açısından karşılaştırmışlardır. Yüksek merkezkaç kuvvetinde ve uzun sürelerde üretilen PRF pıhtılarının daha yoğun fibrin ağ yapısı gösterdiği, ancak daha az konsantre hücreler içerdiği ve zamanla daha az büyüme faktörü

salınımı gerçekleştirdiği gösterilmiştir. Bu çalışma artan santrifüjleme hızlarının daha yoğun fibrin pıhtıları üretimine neden olduğunu desteklemektedir.

Kobayashi ve ark. yaptığı yatay santrifüjleme ile elde edilen L-PRF ve normal prosedürle elde edilen L-PRF arasındaki farklılıkların gösterildiği çalışmada örneklerin SEM analizi ile incelemiştir. Horizontal olarak elde edilen L-PRF'nin klasik elde edilen L-PRF'ye göre buffy-coat tabakasındaki fibrin ağları daha dağınık olarak görülmüştür. Klasik yöntem ile elde edilen L-PRF protokolünde ise, yoğun fibrin ağları görülmüştür (252). Bizim çalışmamızda T-PRF elde etmek amacıyla klasik intraspın cihazını vertikal açıyla kullanılarak elde edilmiştir.

Vitamin D fibrinoliz mekanizmasını etkilediği çalışmalarda gösterilmiştir. Vitamin D vitamini seviyelerinin PAI-1 seviyeleri ile ters ilişkili olduğu t-pA ile doğru orantı gösterildiğinden, D vitamininin fibrinolitik aktivite ve vasküler endotelin bütünlüğü ile de ilişkilidir (8, 10). Dolayısıyla, D vitamininin hem tromboz hemde fibrinoliz üzerine olumlu etkilerini olması olasıdır. Bizim çalışmamızda vitamin D'nin bu etkilerini gözlemleyebilmek amacıyla fibrinoliz hızı degradasyon metoduyla ölçüldü.

Çalışma sonuçlarımıza göre vitamin D eksikliği bulunan ve sağlıklı bireylerden elde edilen T-PRF'nin degradasyon yüzdeleri arasında anlamlı fark bulunmadı. Ancak, D vitamini eksikliği bulunan bireylere ait fibrinlerin degradasyon oranı %37,87 iken, aynı bireylerin vitamin D düzeyleri optimale geldikten sonra elde edilen fibrinlerinin degradasyon oranı % 43,79' a yükseldiği tespit edilmekle birlikte, bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuçlar vitamin D takviyesiyle fibrinolizinin arttığı yönündedir. Kontrol grubuna ait T-PRF degradasyon oranı ise %38,26 olup, vitamin D eksikliği olanlara kıyasla yüksek olup anlamlılık ifade etmemektedir.

Literatürde vitamin D eksikliği bulunan bireylere ait T-PRF degradasyon oranını inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Çalışma sonuçlarımıza benzer şekilde, Sam ve ark. T-PRF nin fiziksel özelliklerini kollajen membranlarla karşılaştırdığı çalışmada, sağlıklı bireylerden elde edilen T-PRF membranın, 1 haftalık bir in vitro çalkalama testinden sonra

başlangıç ağırlığının yaklaşık %36'sı kadar bozunduğunu ortaya koymuşlardır (235).

Ravi ve ark yaptığı çalışmada A-PRF, L-PRF, T-PRF membran bozulma hızlarını değerlendirdikleri çalışmada membranlar %7,4'lük PBS solüsyonunda 50 rpmlik orbital çalkalayıcıda 1 hafta süre ile bekletilmiştir. 7. Gün sonunda bozunma hızı L-PRF membranda %85 olarak en fazla, ikinci sırada A-PRF membranda %84 ,en az bozulma ise %82 oran ile T-PRF membranında bulunmuştur (236). Bunun nedeni T-PRF membranın daha yoğun ve hacimsel olarak daha büyük olmasıyla açıklanabilir.

Bir diğer çalışmada, Saeed ve ark farklı sterilizasyon yöntemleri ile steril ettikleri PRF membranlarının bozunma miktarlarını değerlendirmişlerdir. PRF membranları PBS solüsyonunda 10 gün boyunca çalkalama cihazında bekletmişlerdir. PRF membranlarının bu süre sonunda ağırlık kayıpları kaydedilmiş ve en fazla bozunma miktarı steril edilmeyen PRF membranında (kontrol grubu) bulunmuştur (253) .

A-PRF, PPP ve PPTF membranları üzerinde yapılan çalışmada bireysel membran tiplerinin bozunabilirliği, tripsin ve EDTA içeren PBS'de incelenmiştir. PPTF membranlarının diğer kendiliğinden pıhtılaşan fibrin membranlardan daha hızlı bozunduğunu ve A-PRF ve CGF bozunma oranlarının hemen hemen aynı olduğu gösterilmiştir (251) .

Çalışmalar arasındaki bu farklılıklar PRF elde etme yöntemleri, bireysel farklılıklar gibi nedenlerden kaynaklanabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. D vitamin eksikliği olan ve sağlıklı kontrol grubundaki bireyler arasında kan parametreleri (WBC, RBC, PLT, PDW, MPV, MCV, HTC) açısından anlamlı farklılık bulunmadı. Vitamin D eksikliği olan bireylerde grup içi zamana bağlı değişimde de, hastaların kan parametrelerinde anlamlı farklılık görülmedi.
2. Vitamin D eksikliği görülen bireylerden elde edilen T-PRF membranların ağırlığı sağlıklı kontrol grubuna kıyasla daha düşük bulundu. Ancak uzunluk ve genişlik parametreleri açısından gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamıştır.
3. Vitamin D eksikliği olan bireylere, vitamin takviyesi yapıldıktan sonra elde edilen T-PRF membran ağırlıkları başlangıca kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu. En ve boy parametrelerinde ise zamana bağlı değişim açısından anlamlı farklılık bulunmadı.
4. Vitamin D eksikliği olan bireylerin fibrin ağ desen skorları, kontrol grubuna kıyasla daha yüksek bulundu. D vitamin düzeyi eksik olan bireylerin fibrin ağ desen skorları, vitamin D düzeyi optimal seviyeye geldikten sonra anlamlı düzeyde düşüş gösterdi.
5. Vitamin D eksikliği olan bireylerden ve sağlıklı bireylerden elde edilen T-PRF membranlarının degradasyon yüzdeleri karşılaştırıldığında anlamlı farklılık bulunmadı. Ayrıca D vitamin eksikliği görülen bireylerin zamana bağlı değişiminde de, degradasyon yüzdesi açısından anlamlı farklılık bulunmadı.
6. SEM incelemesinde vitamin D eksikliği olan bireylerin fibrin ağlarının kontrol grubuna kıyasla daha ince olduğu, tek tip ve devamlılık göstermediği görüldü. Grup içi zamana bağlı değişimde ise, fibrin ağ yapılarının başlangıca göre daha kalın, devamlılık gösteren ve matür yapıda olduğu gözlemlendi.
7. SEM incelemelerimiz sonucunda fibrin ağ yapısının vitamin D eksikliği görülen bireylerde daha ince ve immatür olması yara iyileşmesinin ilk basamağını oluşturan fibrini etkileyeceğinden, bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

8. Vitamin D eksikliği olan bireylerin başlangıç ve 3. Ay kontrollerinin bulunması hastalardan kaynaklı oluşabilecek farklılıkları elimine etmiştir. Ancak daha fazla örneklem büyüklüğüne sahip hasta gruplarında, yeni çalışmalara ihtiyaç vardır
9. Fibrin yapısının vitamin D eksikliği olan bireylerde etkilendiğini bulduk. Ancak yara iyileşmesi ve fibrinin yapısını etkileyen birçok faktör vardır. Bunun için birçok yeni çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.



EK 1: Bilgilendirilmiş Olur Formu Kontrol Listesi

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU KONTROL LİSTESİ

	Var	Yok	Eksik
Araştırmayla ilgili bilgiler:			
- Gönüllünün katıldığı çalışmanın bir araştırma olduğu	☐	☐	☐
- Araştırmanın amacı	☐	☐	☐
- Araştırmadaki tedaviler	☐	☐	☐
- Araştırma sırasında uygulanacak olan ve invaziv işlemleri de içeren yöntemler	☐	☐	☐
- Araştırmanın deneysel kısımları	☐	☐	☐
- Araştırma hakkında ek bilgi alınabilecek kişiler	☐	☐	☐
Gönüllü ile ilgili bilgiler:			
- Gönüllünün sorumlulukları	☐	☐	☐
- Gönüllü için söz konusu olabilecek riskler ve rahatsızlıklar	☐	☐	☐
- Gönüllü için beklenen yararlar	☐	☐	☐
- Uygulanabilecek alternatif işlemlerin de bulunduğu, bunların olası yararları ve riskleri, ancak şimdilik uygulanmayacağı	☐	☐	☐
- Araştırmaya bağlı bir zarar söz konusu olduğunda, bunun nasıl tazmin edileceği (Bakanlıktan izin alınması zorunlu araştırmalar için), tedavinin nasıl yapılacağı	☐	☐	☐
- Gönüllüler için araştırmada yer almaları nedeniyle, öngörülüyorsa, yapılacak ödeme ve/veya karşılanacak masraflar	☐	☐	☐
- Gönüllünün araştırmada yer almasının isteğine bağlı olduğu, herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilme hakkına sahip olduğu	☐	☐	☐
- Gönüllü tıbbi ve kimlik bilgilerinin gizli olduğu	☐	☐	☐
- Araştırma sırasında gönüllüyü ilgilendirebilecek herhangi bir gelişme olduğunda, bunun gönüllüye veya yasal temsilcisine derhal bildirileceği	☐	☐	☐
- Araştırmaya bağlı bir zarar olduğunda başvurulacak kişiler	☐	☐	☐
- Gönüllünün isteği dışında araştırmacı tarafından araştırmadan çıkarılabileceği ve bu durumların neler olduğu	☐	☐	☐
- Gönüllünün araştırmada yer alması öngörülen süre	☐	☐	☐
- Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı	☐	☐	☐
Çalışmaya katılma onayı:			
- Gönüllünün metni okuduğunu, kendisine yazılı ve sözlü açıklama yapıldığını, araştırmaya kendi isteği ile hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katıldığını gösteren beyan	☐	☐	☐
- Gönüllünün veya yasal temsilcisinin adı-soyadı, imzası, adresi	☐	☐	☐
- Açıklamaları yapan araştırmacının adı-soyadı, imzası, görevi, adresi	☐	☐	☐
- Olur alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin/görüşme tanığının adı-soyadı, imzası, görevi, adresi	☐	☐	☐

Yürütücülüğünü **D Vitamini Eksikliği Olan Bireylerin Titanyumla Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin Yapılarının İn Vitro Olarak İncelenmesi** başlıklı araştırmaya ait Bilgilendirilmiş Olur Formu'nu, yukarıda bulunan ve bir Bilgilendirilmiş Olur Formu'nda olması gerekli asgari bilgiler doğrultusunda hazırladım.

Araştırma Yürütücüsü

İmza

Tarih

Doç.Dr.Gülbahar USTAOĞLU

7. KAYNAKLAR

1. **Tsuprykov O, Chen X, Hoher CF, Skoblo R, Lianghong Y, Hoher B.** Why should we measure free 25(OH) vitamin D? The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. **2018**;180:87-104.
2. **Holick MF.** The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. Reviews in endocrine & metabolic disorders. **2017**;18(2):153-65.
3. **Wyskida M, Wieczorowska-Tobis K, Chudek J.** Prevalence and factors promoting the occurrence of vitamin D deficiency in the elderly. Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej (Online). **2017**;71(0):198-204.
4. **Choukroun J, Khoury G, Khoury F, Russe P, Testori T, Komiyama Y, et al.** Two neglected biologic risk factors in bone grafting and implantology: high low-density lipoprotein cholesterol and low serum vitamin D. The Journal of oral implantology. **2014**;40(1):110-4.
5. **Targher G, Pichiri I, Lippi G.** Vitamin D, thrombosis, and hemostasis: more than skin deep. Seminars in thrombosis and hemostasis. **2012**;38(1):114-24.
6. **ekim m, Ekim H.** The relationship between vitamin D deficiency and deep vein thrombosis. Van Med J. **2019**;26(4):526-31.
7. **Entezari-Maleki T, Hajhossein Talasaz A, Salarifar M, Hadjibabaie M, Javadi MR, Bozorgi A, et al.** Plasma Vitamin D Status and Its Correlation with Risk Factors of Thrombosis, P-selectin and hs-CRP Level in Patients with Venous Thromboembolism; the First Study of Iranian Population. Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR. **2014**;13(1):319-27.
8. **Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC, Jespersen J, Haverkate F, Thompson SG.** Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris. ECAT Study Group. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities. Circulation. **1996**;94(9):2057-63.
9. **Abrams C, Shattil SJ.** Immunological detection of activated platelets in clinical disorders. Thrombosis and haemostasis. **1991**;65(5):467-73.
10. **Koyama T, Hirose S.** Anticoagulant effects of synthetic retinoids and activated vitamin D3. Seminars in thrombosis and hemostasis. **1998**;24(3):217-26.
11. **Lindqvist PG, Epstein E, Olsson H.** Does an active sun exposure habit lower the risk of venous thrombotic events? A D-lightful hypothesis. Journal of thrombosis and haemostasis : JTH. **2009**;7(4):605-10.
12. **Mascitelli L, Grant WB, Goldstein MR.** The role of hypovitaminosis D in pregnancy-related venous thromboembolism. International journal of clinical practice. **2013**;67(1):97.
13. **Choukroun J, Adda F, Schoeffer C, Vervelle A.** PRF: an opportunity in perio-implantology. Implantodontie. **2000**;42:55-62.
14. **Choi BH, Zhu SJ, Kim BY, Huh JY, Lee SH, Jung JH.** Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. Int J Oral Maxillofac Surg. **2005**;34(4):420-4.
15. **Cieslik-Bielecka A, Bielecki T, Gazdzik TS, Cieslik T, Szczepanski T.** Improved treatment of mandibular odontogenic cysts with platelet-rich gel. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. **2008**;105(4):423-9.
16. **Shi B, Zhou Y, Wang YN, Cheng XR.** Alveolar ridge preservation prior to implant placement with surgical-grade calcium sulfate and platelet-rich plasma: a pilot study in a canine model. The International journal of oral & maxillofacial implants. **2007**;22(4):656-65.
17. **Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T.** Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). Trends in biotechnology. **2009**;27(3):158-67.
18. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. **2006**;101(3):e51-5.
19. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. **2006**;101(3):e37-44.

20. **O'Connell SM.** Safety issues associated with platelet-rich fibrin method. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. **2007**;103(5):587; author reply -93.
21. **Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E.** In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. The British journal of oral & maxillofacial surgery. **2013**;51(5):438-43.
22. **Lindhe J, Karring T, Araujo M.** Anatomy of the periodontium, p 3–49. Clinical periodontology and implant dentistry, 4th ed Blackwell Publishing Munksgard, Oxford, United Kingdom. **2003**.
23. **Petersen PE, Ogawa H.** Strengthening the prevention of periodontal disease: the WHO approach. Journal of periodontology. **2005**;76(12):2187-93.
24. **Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE.** Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. Journal of clinical microbiology. **2005**;43(11):5721.
25. **Sahingur SE, Cohen RE.** Analysis of host responses and risk for disease progression. Periodontology 2000. **2004**;34(1):57-83.
26. **Löe H, Theilade E, Jensen SB.** Experimental gingivitis in man. The Journal of periodontology. **1965**;36(3):177-87.
27. **Flemmig TF.** Periodontitis. Annals of periodontology. **1999**;4(1):32-8.
28. **Brown LJ, Löe H.** Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. Periodontology 2000. **1993**;2(1):57-71.
29. **Praveen N, Rajesh A, Madan M, Chaurasia VR, Hiremath NV, Sharma AM.** In vitro evaluation of antibacterial efficacy of pineapple extract (bromelain) on periodontal pathogens. Journal of international oral health: JIOH. **2014**;6(5):96.
30. **Kinane DF.** Causation and pathogenesis of periodontal disease. Periodontology 2000. **2001**;25:8-20.
31. **Loe H, Theilade E, Jensen SB.** EXPERIMENTAL GINGIVITIS IN MAN. J Periodontol. **1965**;36:177-87.
32. Newman MG, Takei H, Klokkevold PR, Carranza FA. Carranza's clinical periodontology: Elsevier health sciences; 2011.
33. **Moore WE, Moore LV.** The bacteria of periodontal diseases. Periodontology 2000. **1994**;5:66-77.
34. **Socransky SS, Smith C, Haffajee AD.** Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. Journal of Clinical Periodontology. **2002**;29(3):260-8.
35. **Page RC, Kornman KS.** The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. Periodontology 2000. **1997**;14:9-11.
36. **Dixon DR, Bainbridge BW, Darveau RP.** Modulation of the innate immune response within the periodontium. Periodontology 2000. **2004**;35:53-74.
37. Parameter on chronic periodontitis with advanced loss of periodontal support. American Academy of Periodontology. J Periodontol. **2000**;71(5 Suppl):856-8.
38. **Lang NP.** Focus on intrabony defects--conservative therapy. Periodontology 2000. **2000**;22:51-8.
39. **Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J.** Effect of nonsurgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis. J Clin Periodontol. **1981**;8(1):57-72.
40. **Schenk G, Flemmig TF, Lob S, Ruckdeschel G, Hickel R.** Lack of antimicrobial effect on periodontopathic bacteria by ultrasonic and sonic scalers in vitro. J Clin Periodontol. **2000**;27(2):116-9.
41. **Özcan E, Saygun I, Kantarcı A, Özarslantürk S, Serdar MA, Özgürtaş T.** The effects of a novel non-invasive application of platelet-rich fibrin on periodontal clinical parameters and gingival crevicular fluid transforming growth factor- β and collagen-1 levels: A randomized controlled clinical study. J Periodontol. **2020**.
42. **Vučković M, Nikolić N, Milašin J, Đorđević V, Milinković I, Asotić J, et al.** The effect of injectable platelet-rich fibrin use in the initial treatment of chronic periodontitis. Srpski arhiv za celokupno lekarstvo. **2020**;148(5-6):280-5.
43. Rose LF, Mealey BL, Genco RJ, Cohen D. Periodontics: medicine, surgery, and implants: Elsevier Mosby St. Louis^ eMissouri Missouri; 2004.
44. **Sharma A, Pradeep AR.** Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized clinical trial. J Periodontol. **2011**;82(10):1396-403.

45. **Ajwani H, Shetty S, Gopalakrishnan D, Kathariya R, Kulloli A, Dolas RS, et al.** Comparative evaluation of platelet-rich fibrin biomaterial and open flap debridement in the treatment of two and three wall intrabony defects. *Journal of international oral health : JIOH*. **2015**;7(4):32-7.
46. **Upputuri PK, Sivasubramanian K, Mark CSK, Pramanik M.** Recent developments in vascular imaging techniques in tissue engineering and regenerative medicine. *BioMed research international*. **2015**;2015.
47. **Gosain A, DiPietro LA.** Aging and wound healing. *World journal of surgery*. **2004**;28(3):321-6.
48. **Guo Sa, DiPietro LA.** Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. **2010**;89(3):219-29.
49. **Nurden AT.** Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis*. **2011**;105(S 06):S13-S33.
50. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. **2006**;101(3):e45-50.
51. **Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM.** Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *J Periodontol*. **2009**;80(12):2056-64.
52. **Blair P, Flaumenhaft R.** Platelet alpha-granules: basic biology and clinical correlates. *Blood reviews*. **2009**;23(4):177-89.
53. **Rivera J, Lozano ML, Navarro-Núñez L, Vicente V.** Platelet receptors and signaling in the dynamics of thrombus formation. *Haematologica*. **2009**;94(5):700-11.
54. **Jedlitschky G, Greinacher A, Kroemer HK.** Transporters in human platelets: physiologic function and impact for pharmacotherapy. *Blood*. **2012**;119(15):3394-402.
55. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2006**;101(3):e37-e44.
56. **Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT.** Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis*. **2004**;91(01):4-15.
57. **Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR.** Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **1998**;85(6):638-46.
58. **Mazzucco L, Balbo V, Cattana E, Borzini P.** Platelet-rich plasma and platelet gel preparation using Plateltex. *Vox sanguinis*. **2008**;94(3):202-8.
59. **Leitner GC, Gruber R, Neumüller J, Wagner A, Kloimstein P, Höcker P, et al.** Platelet content and growth factor release in platelet-rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox sanguinis*. **2006**;91(2):135-9.
60. **Mazzucco L, Balbo V, Cattana E, Guaschino R, Borzini P.** Not every PRP-gel is born equal. Evaluation of growth factor availability for tissues through four PRP-gel preparations: Fibrinet, RegenPRP-Kit, Plateltex and one manual procedure. *Vox sanguinis*. **2009**;97(2):110-8.
61. **Wasterlain AS, Braun HJ, Dragoo JL.** Contents and formulations of platelet rich plasma. *Platelet Rich Plasma in Musculoskeletal Practice*: Springer; 2016. p. 1-29.
62. **Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T.** 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 and tendons journal*. **2014**;4(1):3-9.
63. **Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM, Everts PA, Wiczowski A.** The role of leukocytes from L-PRP/L-PRF in wound healing and immune defense: new perspectives. *Current pharmaceutical biotechnology*. **2012**;13(7):1153-62.
64. **Faurschou M, Borregaard N.** Neutrophil granules and secretory vesicles in inflammation. *Microbes and infection*. **2003**;5(14):1317-27.
65. **Khan SN, Bostrom MP, Lane JM.** Bone growth factors. *The Orthopedic clinics of North America*. **2000**;31(3):375-88.
66. **Kumar RV, Shubhashini N.** Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell and tissue banking*. **2013**;14(3):453-63.

67. **Border WA, Noble NA.** Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *New England Journal of Medicine*. **1994**;331(19):1286-92.
68. **Schliephake H.** Bone growth factors in maxillofacial skeletal reconstruction. *International journal of oral and maxillofacial surgery*. **2002**;31(5):469-84.
69. **Lind M.** Growth factors: Possible new clinical tools: A review. *Acta Orthopaedica Scandinavica*. **1996**;67(4):407-17.
70. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2006**;101(3):e45-e50.
71. **Hsieh SC, Graves DT.** Pulse application of platelet-derived growth factor enhances formation of a mineralizing matrix while continuous application is inhibitory. *Journal of cellular biochemistry*. **1998**;69(2):169-80.
72. **Alvarez RH, Kantarjian HM, Cortes JE.** Biology of platelet-derived growth factor and its involvement in disease. *Mayo Clinic proceedings*. **2006**;81(9):1241-57.
73. **M Dohan Ehrenfest D, Bielecki T, Mishra A, Borzini P, Inchingolo F, Sammartino G, et al.** In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Current pharmaceutical biotechnology*. **2012**;13(7):1131-7.
74. **Antoniades HN, Hunkapiller MW.** Human platelet-derived growth factor (PDGF): amino-terminal amino acid sequence. *Science*. **1983**;220(4600):963-5.
75. **Martin P, Leibovich SJ.** Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in cell biology*. **2005**;15(11):599-607.
76. **Rosenkranz S, Kazlauskas A.** Evidence for distinct signaling properties and biological responses induced by the PDGF receptor α and β subtypes. *Growth Factors*. **1999**;16(3):201-16.
77. **Lucarelli E, Beccheroni A, Donati D, Sangiorgi L, Cenacchi A, Del Vento AM, et al.** Platelet-derived growth factors enhance proliferation of human stromal stem cells. *Biomaterials*. **2003**;24(18):3095-100.
78. **Bostrom MP, Yang X, Koutras I.** Biologics in bone healing. *Current Opinion in Orthopaedics*. **2000**;11(5):403-12.
79. **Garant PR.** Oral cells and tissues: Quintessence; 2003.
80. **Faktörü YYVEB.** Reseptörleri ve fonksiyonları. *CÜ Tıp Fakültesi Dergisi*. **2007**;29(2):7-12.
81. **Leitner G, Gruber R, Neumüller J, Wagner A, Kloimstein P, Höcker P, et al.** Platelet content and growth factor release in platelet - rich plasma: a comparison of four different systems. *Vox sanguinis*. **2006**;91(2):135-9.
82. **Nakamura K, Koshino T, Saito T.** Osteogenic response of the rabbit femur to a hydroxyapatite thermal decomposition product-fibrin glue mixture. *Biomaterials*. **1998**;19(20):1901-7.
83. **Yu J-H, Ustach C, ChoiKim H-R.** Platelet-derived growth factor signaling and human cancer. *Bmb Reports*. **2003**;36(1):49-59.
84. **Weibrich G, Kleis WK.** Curasan PRP kit vs. PCCS PRP system: Collection efficiency and platelet counts of two different methods for the preparation of platelet - rich plasma. *Clinical oral implants research*. **2002**;13(4):437-43.
85. **Weibrich G, Kleis WK, Hafner G, Hitzler W, Wagner W.** Comparison of platelet, leukocyte, and growth factor levels in point - of - care platelet - enriched plasma, prepared using a modified Curasan kit, with preparations received from a local blood bank. *Clinical oral implants research*. **2003**;14(3):357-62.
86. **Gaur U, Aggarwal BB.** Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochemical pharmacology*. **2003**;66(8):1403-8.
87. **Tamimi FM, Montalvo S, Tresguerres I, Jerez LB.** A comparative study of 2 methods for obtaining platelet-rich plasma. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. **2007**;65(6):1084-93.
88. **Ruiz de Almodovar C, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P.** Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. *Physiological reviews*. **2009**;89(2):607-48.
89. **Andrae J, Gallini R, Betsholtz C.** Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes & development*. **2008**;22(10):1276-312.
90. **Flick MJ, Du X, Degen JL.** Fibrin (ogen)- α M β 2 interactions regulate leukocyte function and innate immunity in vivo. *Experimental biology and medicine*. **2004**;229(11):1105-10.

91. **van HINSBERGH VW, Collen A, Koolwijk P.** Role of fibrin matrix in angiogenesis. *Annals of the New York Academy of Sciences.* **2001**;936(1):426-37.
92. **Ehrenfest DMD, Andia I, Zumstein MA, Zhang C-Q, Pinto NR, Bielecki T.** 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 and tendons journal.* **2014**;4(1):3.
93. **Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part IV: clinical effects on tissue healing. Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics. **2006**;101(3):e56-60.
94. **Yazigi Junior JA, Dos Santos JB, Xavier BR, Fernandes M, Valente SG, Leite VM.** Quantification of platelets obtained by different centrifugation protocols in SHR rats. *Revista brasileira de ortopedia.* **2015**;50(6):729-38.
95. **Laurens N, Koolwijk P, de Maat MP.** Fibrin structure and wound healing. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* **2006**;4(5):932-9.
96. **Matras H.** Die Wirkungen verschiedener fibrinpräparate auf kontinuierlich-streunungen der rattenhaut. *Osterr Z Stomatol.* **1970**;67(9):338-59.
97. **Gibble J, Ness P.** Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion.* **1990**;30(8):741-7.
98. **M Dohan Ehrenfest D, Bielecki T, Jimbo R, Barbé G, Del Corso M, Inchingolo F, 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). *Current pharmaceutical biotechnology.* **2012**;13(7):1145-52.
99. **Whitman DH, Berry RL, Green DM.** Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of oral and maxillofacial surgery.* **1997**;55(11):1294-9.
100. **Malhotra A, Pelletier MH, Yu Y, Walsh WR.** Can platelet-rich plasma (PRP) improve bone healing? A comparison between the theory and experimental outcomes. *Archives of orthopaedic and trauma surgery.* **2013**;133(2):153-65.
101. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A, editors. Une opportunité en parodontologie: Le PRF2001.
102. **Sacco L.** Lecture. International academy of implant prosthesis and osteoconnection. **2006**;12(4).
103. **Kim T-H, Kim S-H, Sándor GK, Kim Y-D.** Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives of oral biology.* **2014**;59(5):550-8.
104. **Ehrenfest DMD, Rasmusson L, Albrektsson T.** Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in biotechnology.* **2009**;27(3):158-67.
105. **Choukroun J.** Advanced PRF, & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates. *J Periodontal Med Clin Pract.* **2014**;1(1):3.
106. **Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandalam U, Zhang Y, Ghanaati S, et al.** Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clinical oral investigations.* **2017**;21(8):2619-27.
107. **Jameson CA.** Autologous platelet concentrate for the production of platelet gel. *Laboratory Medicine.* **2007**;38(1):39-42.
108. **Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al.** Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical oral investigations.* **2016**;20(9):2353-60.
109. **Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al.** Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *The Journal of oral implantology.* **2014**;40(6):679-89.
110. **Kim TH, Kim SH, Sándor GK, Kim YD.** Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives of oral biology.* **2014**;59(5):550-8.
111. **Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al.** Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology.* **2014**;40(6):679-89.

112. **Wend S, Kubesch A, Orlowska A, Al-Maawi S, Zender N, Dias A, et al.** Reduction of the relative centrifugal force influences cell number and growth factor release within injectable PRF-based matrices. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. **2017**;28(12):1-11.
113. **Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB.** Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *J Periodontol*. **2010**;81(4):546-55.
114. **Martin P, Leibovich SJ.** Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly. *Trends in cell biology*. **2005**;15(11):599-607.
115. **Perut F, Filardo G, Mariani E, Cenacchi A, Pratelli L, Devescovi V, et al.** Preparation method and growth factor content of platelet concentrate influence the osteogenic differentiation of bone marrow stromal cells. *Cytotherapy*. **2013**;15(7):830-9.
116. Tonnesen MG, Feng X, Clark RA, editors. *Angiogenesis in wound healing*. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*; 2000: Elsevier.
117. **Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A.** Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. *Implantodontie*. **2001**;42(55):e62.
118. **El Bagdadi K, Kubesch A, Yu X, Al-Maawi S, Orlowska A, Dias A, et al.** Reduction of relative centrifugal forces increases growth factor release within solid platelet-rich-fibrin (PRF)-based matrices: a proof of concept of LSCC (low speed centrifugation concept). *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. **2019**;45(3):467-79.
119. **Choukroun J, Ghanaati S.** 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. *European journal of trauma and emergency surgery : official publication of the European Trauma Society*. **2018**;44(1):87-95.
120. **Jain NK, Gulati M.** Platelet-rich plasma: a healing virtuoso. *Blood research*. **2016**;51(1):3-5.
121. **Maria-Angeliki G, Alexandros-Efstratios K, Dimitris R, Konstantinos K.** Platelet-rich Plasma as a Potential Treatment for Noncicatricial Alopecias. *International journal of trichology*. **2015**;7(2):54-63.
122. **Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso MD, Kang BS, 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. *Platelets*. **2018**;29(2):171-84.
123. **He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H.** A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*. **2009**;108(5):707-13.
124. **Weibrich G, Kleis WK, Hitzler WE, Hafner G.** Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*. **2005**;20(1).
125. **Sohn D-S, Heo J-U, Kwak D-H, Kim D-E, Kim J-M, Moon J-W, et al.** Bone regeneration in the maxillary sinus using an autologous fibrin-rich block with concentrated growth factors alone. *Implant dentistry*. **2011**;20(5):389-95.
126. **Yu B, Wang Z.** Effect of concentrated growth factors on beagle periodontal ligament stem cells in vitro. *Molecular medicine reports*. **2014**;9(1):235-42.
127. **Corigliano Massimo* SL, Baldoni Edoardo*.** The CGF.A therapeutic proposal for regenerative medicine. *International Academy of Implantoprosthesis and Osteoconnections*. **2006**;8:22-8.
128. **O'Connell SM.** Safety issues associated with platelet-rich fibrin method. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology Oral Radiology and Endodontology*. **2007**;103(5):587.
129. **Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Yaprak E, Toker H, et al.** A novel platelet concentrate: titanium-prepared platelet-rich fibrin. *BioMed research international*. **2014**;2014:209548.
130. **Ustaoglu G, Uğur Aydın Z, Özelçi F.** Comparison of GTR, T-PRF and open-flap debridement in the treatment of intrabony defects with endo-perio lesions: a randomized controlled trial. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*. **2020**;25(1):e117-e23.
131. **Ustaoglu G, Ercan E, Tunalı M.** The role of titanium-prepared platelet-rich fibrin in palatal mucosal wound healing and histoconduction. *Acta odontologica Scandinavica*. **2016**;74(7):558-64.

132. **Olgun E, Ozkan SY, Atmaca HT, Yalim M, Hendek MK.** Comparison of the clinical, radiographic, and histological effects of titanium-prepared platelet rich fibrin to allograft materials in sinus-lifting procedures. *Journal of investigative and clinical dentistry.* **2018**;9(4):e12347.
133. **Ustaoglu G, Paksoy T, Gümüş K.** Titanium-Prepared Platelet-Rich Fibrin Versus Connective Tissue Graft on Peri-Implant Soft Tissue Thickening and Keratinized Mucosa Width: A Randomized, Controlled Trial. *Journal of oral and maxillofacial surgery : official journal of the American Association of Oral and Maxillofacial Surgeons.* **2020**;78(7):1112-23.
134. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJ, Mouhyi J, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* **2006**;101(3):e51-e5.
135. **Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G.** 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. *Growth factors.* **2009**;27(1):63-9.
136. **Zumstein MA, Bielecki T, Ehrenfest DMD.** 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. *Operative Techniques in Sports Medicine.* **2011**;19(3):190-7.
137. **Ehrenfest DMD, Diss A, Odin G, Doglioli P, Hippolyte M-P, Charrier J-B.** In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* **2009**;108(3):341-52.
138. **Choi B-H, Zhu S-J, Kim B-Y, Huh J-Y, Lee S-H, Jung J-H.** Effect of platelet-rich plasma (PRP) concentration on the viability and proliferation of alveolar bone cells: an in vitro study. *International journal of oral and maxillofacial surgery.* **2005**;34(4):420-4.
139. **Kazakos K, Lyras D, Verettas D, Tilkeridis K, Tryfonidis M.** The use of autologous PRP gel as an aid in the management of acute trauma wounds. *Injury.* **2009**;40(8):801-5.
140. **Mehmet KIZILTOPRAK [1] MÖÜ.** Diş Hekimliğinde Trombosit Konsantrasyonlarının Tarihsel Gelişimi ve Özellikleri. *Cumhuriyet Dental Journal.* **2018**;21(2):152-66.
141. **Hoaglin DR, Lines GK.** Prevention of localized osteitis in mandibular third-molar sites using platelet-rich fibrin. *International journal of dentistry.* **2013**;2013:875380.
142. **Cieslik-Bielecka A, Bielecki T, Gazdzik TS, Cieslik T, Szczepanski T.** Improved treatment of mandibular odontogenic cysts with platelet-rich gel. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* **2008**;105(4):423-9.
143. **Elgazzar R, Mutabagani M, Abdelaal S, Sadakah A.** Platelet rich plasma may enhance peripheral nerve regeneration after cyanoacrylate reanastomosis: a controlled blind study on rats. *International journal of oral and maxillofacial surgery.* **2008**;37(8):748-55.
144. **LYNCH SE GR, MARXS RE,.** Tissue Engineering. Quintessence books. **1999**:217-26.
145. **Swennen GR, Schutyser F, Mueller MC, Kramer FJ, Eulzer C, Schliephake H.** Effect of platelet-rich-plasma on cranial distraction osteogenesis in sheep: preliminary clinical and radiographic results. *Int J Oral Maxillofac Surg.* **2005**;34(3):294-304.
146. **Tajima N, Ohba S, Sawase T, Asahina I.** Evaluation of sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using platelet-rich fibrin as sole grafting material. *The International journal of oral & maxillofacial implants.* **2013**;28(1):77-83.
147. **Simonpiéri A, Choukroun J, Del Corso M, Sammartino G, Dohan Ehrenfest DM.** Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte- and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. *Implant dentistry.* **2011**;20(1):2-12.
148. **Clark D, Rajendran Y, Paydar S, Ho S, Cox D, Ryder M, et al.** Advanced platelet-rich fibrin and freeze-dried bone allograft for ridge preservation: A randomized controlled clinical trial. *J Periodontol.* **2018**;89(4):379-87.
149. **Agarwal A, Gupta ND, Jain A.** Platelet rich fibrin combined with decalcified freeze-dried bone allograft for the treatment of human intrabony periodontal defects: a randomized split mouth clinical trail. *Acta odontologica Scandinavica.* **2016**;74(1):36-43.
150. **Elgendy EA, Abo Shady TE.** Clinical and radiographic evaluation of nanocrystalline hydroxyapatite with or without platelet-rich fibrin membrane in the treatment of periodontal intrabony defects. *Journal of Indian Society of Periodontology.* **2015**;19(1):61-5.

151. **Bajaj P, Pradeep AR, Agarwal E, Rao NS, Naik SB, Priyanka N, et al.** Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized controlled clinical trial. *J Periodontol Res.* **2013**;48(5):573-81.
152. **Pradeep AR, Karvekar S, Nagpal K, Patnaik K, Raju A, Singh P.** Rosuvastatin 1.2 mg In Situ Gel Combined With 1:1 Mixture of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Porous Hydroxyapatite Bone Graft in Surgical Treatment of Mandibular Class II Furcation Defects: A Randomized Clinical Control Trial. *J Periodontol.* **2016**;87(1):5-13.
153. **Lei L, Yu Y, Han J, Shi D, Sun W, Zhang D, et al.** Quantification of growth factors in advanced platelet-rich fibrin and concentrated growth factors and their clinical efficacy as adjunctive to the GTR procedure in periodontal intrabony defects. *J Periodontol.* **2020**;91(4):462-72.
154. **Agarwal SK, Jhingran R, Bains VK, Srivastava R, Madan R, Rizvi I.** Patient-centered evaluation of microsurgical management of gingival recession using coronally advanced flap with platelet-rich fibrin or amnion membrane: A comparative analysis. *European journal of dentistry.* **2016**;10(1):121-33.
155. **Aleksić Z, Janković S, Dimitrijević B, Divnić-Resnik T, Milinković I, Leković V.** [The use of platelet-rich fibrin membrane in gingival recession treatment]. *Srpski arhiv za celokupno lekarstvo.* **2010**;138(1-2):11-8.
156. **Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D.** Clinical evaluation of a modified coronally advanced flap alone or in combination with a platelet-rich fibrin membrane for the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a 6-month study. *J Periodontol.* **2009**;80(2):244-52.
157. **Bozkurt Doğan Ş, Öngöz Dede F, Ballı U, Atalay EN, Durmuşlar MC.** Concentrated growth factor in the treatment of adjacent multiple gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* **2015**;42(9):868-75.
158. **Moraschini V, Barboza Edos S.** Use of Platelet-Rich Fibrin Membrane in the Treatment of Gingival Recession: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Periodontol.* **2016**;87(3):281-90.
159. **Ucak Turer O, Ozcan M, Alkaya B, Surmeli S, Seydaoglu G, Haytac MC.** Clinical evaluation of injectable platelet-rich fibrin with connective tissue graft for the treatment of deep gingival recession defects: A controlled randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* **2020**;47(1):72-80.
160. **Jankovic S, Aleksic Z, Klokkevold P, Lekovic V, Dimitrijevic B, Kenney EB, et al.** Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *The International journal of periodontics & restorative dentistry.* **2012**;32(2):e41-50.
161. **Jankovic S, Aleksic Z, Milinkovic I, Dimitrijevic B.** The coronally advanced flap in combination with platelet-rich fibrin (PRF) and enamel matrix derivative in the treatment of gingival recession: a comparative study. *The European journal of esthetic dentistry : official journal of the European Academy of Esthetic Dentistry.* **2010**;5(3):260-73.
162. **Femminella B, Iaconi MC, Di Tullio M, Romano L, Sinjari B, D'Arcangelo C, et al.** Clinical Comparison of Platelet-Rich Fibrin and a Gelatin Sponge in the Management of Palatal Wounds After Epithelialized Free Gingival Graft Harvest: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* **2016**;87(2):103-13.
163. **Canellas J, da Costa RC, Breves RC, de Oliveira GP, Figueredo C, Fischer RG, et al.** Tomographic and histomorphometric evaluation of socket healing after tooth extraction using leukocyte- and platelet-rich fibrin: A randomized, single-blind, controlled clinical trial. *Journal of cranio-maxillo-facial surgery : official publication of the European Association for Cranio-Maxillo-Facial Surgery.* **2020**;48(1):24-32.
164. **Liu F, Steinkeler A.** Epidemiology, diagnosis, and treatment of temporomandibular disorders. *Dental clinics of North America.* **2013**;57(3):465-79.
165. **Buescher JJ.** Temporomandibular joint disorders. *American family physician.* **2007**;76(10):1477-82.
166. **Yuce E, Komerik N.** Comparison of the Efficiency of Intra-Articular Injection of Liquid Platelet-Rich Fibrin and Hyaluronic Acid After in Conjunction With Arthrocentesis for the Treatment of Internal Temporomandibular Joint Derangements. *The Journal of craniofacial surgery.* **2020**;31(7):1870-4.
167. **Holick MF.** Vitamin D deficiency. *New England Journal of Medicine.* **2007**;357(3):266-81.
168. **Nagpal S, Na S, Rathnachalam R.** Noncalcemic actions of vitamin D receptor ligands. *Endocrine reviews.* **2005**;26(5):662-87.

169. **Bartley J.** Vitamin D: emerging roles in infection and immunity. Expert review of anti-infective therapy. **2010**;8(12):1359-69.
170. **Norman PE, Powell JT.** Vitamin D and cardiovascular disease. Circulation research. **2014**;114(2):379-93.
171. **Vieth R.** Why "Vitamin D" is not a hormone, and not a synonym for 1,25-dihydroxy-vitamin D, its analogs or deltanoids. The Journal of steroid biochemistry and molecular biology. **2004**;89-90(1-5):571-3.
172. **de Tena JG, Abejón L, Horcajo P.** Vitamin D insufficiency. N Engl J Med. **2011**;364:1378.
173. **Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, et al.** Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. The Journal of clinical endocrinology and metabolism. **2011**;96(7):1911-30.
174. **Fraser DR.** Vitamin D. Lancet (London, England). **1995**;345(8942):104-7.
175. **Aurbach G.** Parathyroid hormone, calcitonin, and the calciferols. Textbook of endocrinology. **1992**;1397.
176. **Holick MF.** High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. Mayo Clinic proceedings. **2006**;81(3):353-73.
177. **Holick MF.** Vitamin D status: measurement, interpretation, and clinical application. Annals of epidemiology. **2009**;19(2):73-8.
178. **Heaney RP.** Functional indices of vitamin D status and ramifications of vitamin D deficiency. Am J Clin Nutr. **2004**;80(6 Suppl):1706s-9s.
179. **Misra M, Pacaud D, Petryk A, Collett-Solberg PF, Kappy M.** Vitamin D deficiency in children and its management: review of current knowledge and recommendations. Pediatrics. **2008**;122(2):398-417.
180. **Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R.** Estimates of optimal vitamin D status. Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA. **2005**;16(7):713-6.
181. **Lips P.** Relative value of 25 (OH) D and 1, 25 (OH) 2D measurements. Journal of Bone and mineral Research. **2007**;22(11):1668-71.
182. **Fidan F, Alkan BM, Tosun A.** Çağın pandemisi: D vitamini eksikliği ve yetersizliği. Türk Osteoporoz Dergisi. **2014**;20(2):71-4.
183. **Norman AW.** Sunlight, season, skin pigmentation, vitamin D, and 25-hydroxyvitamin D: integral components of the vitamin D endocrine system. Am J Clin Nutr. **1998**;67(6):1108-10.
184. **Holick MF.** McCollum Award Lecture, 1994: vitamin D--new horizons for the 21st century. Am J Clin Nutr. **1994**;60(4):619-30.
185. **Wactawski-Wende J, Kotchen JM, Anderson GL, Assaf AR, Brunner RL, O'Sullivan MJ, et al.** Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. N Engl J Med. **2006**;354(7):684-96.
186. **Hyppönen E, Power C.** Hypovitaminosis D in British adults at age 45 y: nationwide cohort study of dietary and lifestyle predictors. Am J Clin Nutr. **2007**;85(3):860-8.
187. **Bhan A, Rao AD, Rao DS.** Osteomalacia as a result of vitamin D deficiency. Endocrinology and metabolism clinics of North America. **2010**;39(2):321-31, table of contents.
188. **Joiner TA, Cowan AE, Stringer SM, Akbar J.** Primary care pediatrician knowledge of nutritional rickets. Journal of the National Medical Association. **2002**;94(11):971-8.
189. **Brown A.** Dusso A, and Slatopolsky E. Vitamin D Am J Physiol Renal Physiol. **1999**;277:F157-F75.
190. **Holick MF, Chen TC.** Vitamin D deficiency: a worldwide problem with health consequences. The American journal of clinical nutrition. **2008**;87(4):1080S-6S.
191. **Michigami T, Suga A, Yamazaki M, Shimizu C, Cai G, Okada S, et al.** Identification of amino acid sequence in the hinge region of human vitamin D receptor that transfers a cytosolic protein to the nucleus. Journal of Biological Chemistry. **1999**;274(47):33531-8.
192. **Rosen CJ, Adams JS, Bikle DD, Black DM, Demay MB, Manson JE, et al.** The nonskeletal effects of vitamin D: an Endocrine Society scientific statement. Endocrine reviews. **2012**;33(3):456-92.
193. **Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G.** Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects. Physiological reviews. **2016**;96(1):365-408.

194. **Anand N, Chandrasekaran S, Rajput NS.** Vitamin D and periodontal health: Current concepts. *Journal of Indian Society of Periodontology.* **2013**;17(3):302.
195. **Heath D.** Calcium and bone metabolism. *Clinical pediatric endocrinology.* **2001**;377.
196. **Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al.** Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature.* **1994**;367(6460):284-7.
197. **Jones G, Strugnelli SA, DeLUCA HF.** Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiological reviews.* **1998**.
198. **van Etten E, Mathieu C.** Immunoregulation by 1, 25-dihydroxyvitamin D3: basic concepts. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology.* **2005**;97(1-2):93-101.
199. **Manolagas SC, Hustmyer F, Yu X-P.** Immunomodulating properties of 1, 25-dihydroxyvitamin D3. *Kidney International, Supplement.* **1990**;38(Suppl 29).
200. **Holick MF.** Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr.* **2004**;80(6 Suppl):1678s-88s.
201. **Szodoray P, Nakken B, Gaal J, Jonsson R, Szegedi A, Zold E, et al.** The complex role of vitamin D in autoimmune diseases. *Scandinavian journal of immunology.* **2008**;68(3):261-9.
202. **Kar A, Datta S.** A study of serum Vitamin D level and its association with hypertension. *Journal of family medicine and primary care.* **2018**;7(3):546-50.
203. **Lang P, Samaras N, Samaras D, Aspinall R.** How important is vitamin D in preventing infections? *Osteoporosis International.* **2013**;24(5):1537-53.
204. **Wayse V, Yousafzai A, Mogale K, Filteau S.** Association of subclinical vitamin D deficiency with severe acute lower respiratory infection in Indian children under 5 y. *European journal of clinical nutrition.* **2004**;58(4):563-7.
205. **Muscogiuri G, Annweiler C, Duval G, Karras S, Tirabassi G, Salvio G, et al.** Vitamin D and cardiovascular disease: From atherosclerosis to myocardial infarction and stroke. *International journal of cardiology.* **2017**;230:577-84.
206. **Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, et al.** Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin d and 1,25-dihydroxyvitamin d levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Archives of internal medicine.* **2008**;168(12):1340-9.
207. **Beer TM, Venner PM, Ryan CW, Petrylak DP, Chatta G, Dean Ruether J, et al.** High dose calcitriol may reduce thrombosis in cancer patients. *British journal of haematology.* **2006**;135(3):392-4.
208. **Brøndum-Jacobsen P, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG.** 25-Hydroxyvitamin D concentrations and risk of venous thromboembolism in the general population with 18,791 participants. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH.* **2013**;11(3):423-31.
209. **Hejazi ME, Modarresi-Ghazani F, Hamishehkar H, Mesgari-Abbasi M, Dousti S, Entezari-Maleki T.** The Effect of Treatment of Vitamin D Deficiency on the Level of P-Selectin and hs-CRP in Patients With Thromboembolism: A Pilot Randomized Clinical Trial. *Journal of clinical pharmacology.* **2017**;57(1):40-7.
210. **Giovannucci E.** The epidemiology of vitamin D and colorectal cancer: recent findings. *Current opinion in gastroenterology.* **2006**;22(1):24-9.
211. **Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP.** Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr.* **2007**;85(6):1586-91.
212. **Zittermann A.** Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *The British journal of nutrition.* **2003**;89(5):552-72.
213. **Hildebolt C.** Osteoporosis and oral bone loss. *Dentomaxillofacial Radiology.* **1997**;26(1):3-15.
214. **Jeffcoat M.** The association between osteoporosis and oral bone loss. *Journal of periodontology.* **2005**;76:2125-32.
215. **Wical KE, Swoope CC.** Studies of residual ridge resorption. Part II. The relationship of dietary calcium and phosphorus to residual ridge resorption. *Journal of Prosthetic Dentistry.* **1974**;32(1):13-22.
216. **Miley DD, Garcia MN, Hildebolt CF, Shannon WD, Couture RA, Anderson Spearie CL, et al.** Cross-sectional study of vitamin D and calcium supplementation effects on chronic periodontitis. *J Periodontol.* **2009**;80(9):1433-9.

217. **Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al.** Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science (New York, NY)*. **2006**;311(5768):1770-3.
218. **Cochran DL.** Inflammation and bone loss in periodontal disease. *Journal of periodontology*. **2008**;79:1569-76.
219. **Brånemark PI, Hansson BO, Adell R, Breine U, Lindström J, Hallén O, et al.** Osseointegrated implants in the treatment of the edentulous jaw. Experience from a 10-year period. *Scandinavian journal of plastic and reconstructive surgery Supplementum*. **1977**;16:1-132.
220. **Davies JE.** Mechanisms of endosseous integration. *The International journal of prosthodontics*. **1998**;11(5):391-401.
221. **Berglundh T, Abrahamsson I, Lang NP, Lindhe J.** De novo alveolar bone formation adjacent to endosseous implants. *Clinical oral implants research*. **2003**;14(3):251-62.
222. **Murai K, Takeshita F, Ayukawa Y, Kiyoshima T, Suetsugu T, Tanaka T.** Light and electron microscopic studies of bone-titanium interface in the tibiae of young and mature rats. *Journal of biomedical materials research*. **1996**;30(4):523-33.
223. **Meyer U, Joos U, Mythili J, Stamm T, Hohoff A, Fillies T, et al.** Ultrastructural characterization of the implant/bone interface of immediately loaded dental implants. *Biomaterials*. **2004**;25(10):1959-67.
224. **Javed F, Malmstrom H, Kellesarian SV, Al-Kheraif AA, Vohra F, Romanos GE.** Efficacy of Vitamin D3 Supplementation on Osseointegration of Implants. *Implant dentistry*. **2016**;25(2):281-7.
225. **Dvorak G, Fügl A, Watzek G, Tangl S, Pokorny P, Gruber R.** Impact of dietary vitamin D on osseointegration in the ovariectomized rat. *Clinical oral implants research*. **2012**;23(11):1308-13.
226. **DeLuca HF.** Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. **2004**;80(6 Suppl):1689s-96s.
227. **McGrath J, Feron F, Eyles D, Mackay-Sim A.** Vitamin D: the neglected neurosteroid? *Trends in neurosciences*. **2001**;24(10):570-2.
228. **Fu L, Tang T, Miao Y, Hao Y, Dai K.** Effect of 1,25-dihydroxy vitamin D3 on fracture healing and bone remodeling in ovariectomized rat femora. *Bone*. **2009**;44(5):893-8.
229. **Hu L, Bikle DD, Oda Y.** Reciprocal role of vitamin D receptor on β -catenin regulated keratinocyte proliferation and differentiation. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. **2014**;144 Pt A:237-41.
230. **Razzaghi R, Pourbagheri H, Momen-Heravi M, Bahmani F, Shadi J, Soleimani Z, et al.** The effects of vitamin D supplementation on wound healing and metabolic status in patients with diabetic foot ulcer: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of diabetes and its complications*. **2017**;31(4):766-72.
231. **Oda Y, Tu CL, Menendez A, Nguyen T, Bikle DD.** Vitamin D and calcium regulation of epidermal wound healing. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. **2016**;164:379-85.
232. **Bootkrajang M, Chinkruea C, Aschaitrakool Y.** The Effect of Warfarin on the Fibrin Architecture of Platelet-Rich Fibrin. *The Journal of craniofacial surgery*. **2020**;31(1):e13-e8.
233. **Yajamanya SR, Chatterjee A, Babu CN, Karunanithi D.** Fibrin network pattern changes of platelet-rich fibrin in young versus old age group of individuals: A cell block cytology study. *Journal of Indian Society of Periodontology*. **2016**;20(2):151-6.
234. **Dohan Ehrenfest DM, Pinto NR, Pereda A, Jiménez P, Corso MD, Kang B-S, 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. *Platelets*. **2018**;29(2):171-84.
235. **Sam G, Vadakkekuttikal RJ, Amol NV.** In vitro evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination of its surface characteristics. *Journal of Indian Society of Periodontology*. **2015**;19(1):32-6.
236. **Ravi S, Santhanakrishnan M.** Mechanical, chemical, structural analysis and comparative release of PDGF-AA from L-PRF, A-PRF and T-PRF - an in vitro study. *Biomaterials research*. **2020**;24:16.
237. **Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, et al.** Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*. **1994**;367(6460):284-7.

238. **Cochran DL.** Inflammation and bone loss in periodontal disease. *J Periodontol.* **2008**;79(8 Suppl):1569-76.
239. **Sharma A, Pradeep AR.** Autologous platelet - rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: A randomized clinical trial. *Journal of periodontology.* **2011**;82(10):1396-403.
240. **Agarwal SK, Jhingran R, Bains VK, Srivastava R, Madan R, Rizvi I.** Patient-centered evaluation of microsurgical management of gingival recession using coronally advanced flap with platelet-rich fibrin or amnion membrane: A comparative analysis. *European journal of dentistry.* **2016**;10(1):121.
241. **Bhattacharya HS, Gummaluri SS, Astekar M, Gummaluri RK.** Novel method of determining the periodontal regenerative capacity of T-PRF and L-PRF: An immunohistochemical study. *Dental and medical problems.* **2020**;57(2):137-44.
242. **Gummaluri SS, Bhattacharya HS, Astekar M, Cheruvu S.** Evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin and leucocyte platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: A randomized clinical trial. *Journal of dental research, dental clinics, dental prospects.* **2020**;14(2):83-91.
243. **Blondon M, Biver E, Braillard O, Righini M, Fontana P, Casini A.** Thrombin generation and fibrin clot structure after vitamin D supplementation. *Endocrine connections.* **2019**;8(11):1447-54.
244. **Miron RJ, Dham A, Dham U, Zhang Y, Pikos MA, Sculean A.** The effect of age, gender, and time between blood draw and start of centrifugation on the size outcomes of platelet-rich fibrin (PRF) membranes. *Clinical oral investigations.* **2019**;23(5):2179-85.
245. **Castro AB, Andrade C, Li X, Pinto N, Teughels W, Quirynen M.** Impact of g force and timing on the characteristics of platelet-rich fibrin matrices. *Scientific reports.* **2021**;11(1):6038.
246. **Wolberg AS.** Plasma and cellular contributions to fibrin network formation, structure and stability. *Haemophilia : the official journal of the World Federation of Hemophilia.* **2010**;16 Suppl 3:7-12.
247. **Mamajiwala AS, Sethi KS, Raut CP, Karde PA, Mangle NM.** Impact of different platelet-rich fibrin (PRF) procurement methods on the platelet count, antimicrobial efficacy, and fibrin network pattern in different age groups: an in vitro study. *Clinical oral investigations.* **2020**;24(5):1663-75.
248. **Chatterjee A, Debnath K, Ali MM, Babu C, Gowda PL.** Comparative histologic evaluation of titanium platelet-rich fibrin and platelet-rich fibrin in hypertensive and smoker participants: A cell cytology study. *Journal of Indian Society of Periodontology.* **2017**;21(3):195-200.
249. **Shats EA, Nair CH, Dhall DP.** Interaction of endothelial cells and fibroblasts with modified fibrin networks: role in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* **1997**;129(1):9-15.
250. **Nagaraja S, Mathew S, Rajaram RB, Pushpalatha C, Abraham A, Chandanala S.** Evaluation of Histological and pH Changes in Platelet-Rich Fibrin and Platelet-Rich Fibrin Matrix: A In vitro Study. *Contemporary clinical dentistry.* **2019**;10(4):652-7.
251. **Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, Kitamura Y, Okudera T, Okudera H, et al.** Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). *International journal of implant dentistry.* **2017**;3(1):17.
252. **Fujioka-Kobayashi M, Kono M, Katagiri H, Schaller B, Zhang Y, Sculean A, et al.** Histological comparison of Platelet rich fibrin clots prepared by fixed-angle versus horizontal centrifugation. *Platelets.* **2021**;32(3):413-9.
253. **Akbari Saeed T, Ahmadi ZeydAbadi M, Fatemi A, Farsinejad A.** In vitro evaluation of decontamination effects on mechanical properties of fibrin membrane. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran.* **2018**;32:2.

ÖZGEÇMİŞ

1992 yılında Bolu’da doğdum. İlkokul ve ortaokul öğrenimimi Ankara\Beypazarı Gazipaşa İlköğretim Okulu’nda, lise öğrenimimi Bolu Anadolu Öğretmen Lisesi’nde tamamladım. 2016 yılında İstanbul Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi’nden mezun oldum. 2018 yılında Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı’nda uzmanlık eğitimine başladım. O tarihten itibaren aynı bölümde araştırma görevlisi olarak çalışmakta ve uzmanlık öğrenimine devam etmekteyim.

