



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ENJEKTE EDİLEBİLİR TROMBOSİTTEN
ZENGİN FİBRİNİN ORAL MİKROBİYAL
PATOJENLER ÜZERİNDEKİ
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO
ORTAMDA ARAŞTIRILMASI**

Turgay MUTLU

UZMANLIK TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Erkan ŞÜKÜROĞLU

TRABZON-2021



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ

PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**ENJEKTE EDİLEBİLİR TROMBOSİTTEN
ZENGİN FİBRİNİN ORAL MİKROBİYAL
PATOJENLER ÜZERİNDEKİ
ANTİMİKROBİYAL ETKİNLİĞİNİN İN VİTRO
ORTAMDA ARAŞTIRILMASI**

Turgay MUTLU
ORCID: 0000-0002-3402-0283

UZMANLIK TEZİ

Dr. Öğr. Üyesi Erkan ŞÜKÜROĞLU
ORCID: 0000-0002-4422-1855

TRABZON-2021

ONAY SAYFASI

Bu Tez Uzmanlık Tezi Standartlarına Uygun Bulunmuştur.

Prof. Dr. Esra BALTACIOĞLU

Periodontoloji Anabilim Dalı Başkanı

Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Anabilim Dalı Uzmanlık öğrencisi Dt. Turgay MUTLU'nun hazırladığı "Enjekte Edilebilir Trompositten Zengin Fibrinin Oral Mikrobiyal Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinliğinin İn Vitro Ortamda Araştırılması" Başlıklı Tez Tıpta ve Diş Hekimliğinde Uzmanlık Eğitimi Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek oy birliği ile Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir

Danışman Dr. Öğr. Üyesi Erkan ŞÜKÜROĞLU

Jüri üyesi Prof. Dr. Esra BALTACIOĞLU

Jüri üyesi Doç. Dr. Oğuz KÖSE

Bu tez KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nın 25.01.2021 tarih ve 108 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Tamer TAŞDEMİR

DEKAN

ŞUBAT-2021

TRABZON

BEYAN

Bu tez çalışmasının Karadeniz Teknik Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Hazırlama ve Yazım Kılavuzu standartlarına uygun olarak hazırlanarak yazıldığını, tezin akademik ve etik kurallara bağlı kalınarak gerçekleştirilmiş özgün bir bilimsel araştırma eseri olduğunu, tezde yer alan ve bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen tüm bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve kullanılan kaynakların kaynaklar listesinde yer aldığını, tezin çalışılması ve yazımı aşamalarında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, tezimin Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TDH-2020-8801 proje kodu ile desteklendiğini beyan ederim.

2021

Turgay Mutlu

(İmza)

İthaf

Bu uzmanlık tezimi, benim bu günlere gelmem için hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan ve sevgileriyle her zaman yanımda olan canım aileme ithaf ediyorum...

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca büyük bir özveri ile bana her zaman destek olan, akademik deneyimi ve tecrübesi ile her daim yol gösteren, öğrencisi olmaktan büyük gurur ve onur duyduğum danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Erkan Şüküroğlu'na,

Tezimde birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum ve tezimin laboratuvar aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Celal Kurtuluş Buruk'a,

Uzmanlık sürecimde değerli bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan, tez süreci boyunca fikir ve önerileri ile destek olup eğitimime büyük katkıda bulunan değerli hocalarım Prof. Dr. Esra Baltacıoğlu'na ve Dr. Öğr. Üyesi Malike Aslan Kehribar'a,

Tezimin istatistiksel analiz aşamasında yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Tamer Tüzüner'e,

Asistanlığa başladığım ilk günden beri hep yanımda olan, her zaman yardımına koşan, uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca desteğini esirgemeyen canım dostlarım Özlem Kaya, Gizem Ömeroğlu ve Bergin Gökdeniz Toprakçeken'e,

Asistanlık hayatımızda birbirimize hep destek olduğumuz, bu şehri ve hastaneyi sevgileri ve varlıkları ile anlamlı kılan canım arkadaşlarım Beyza Zaim, Esmahan Okur, Merve Salmanlı, İrem Karatepe ve Yusuf Karatepe'ye,

Mesafelere rağmen her zaman yanımda olduklarını bildiğim canım dostlarım Baturalp, Çağatay, Özgün, Kaan, Merve, Eren, Sevi, Özge Deniz ve Ömer'e,

Yoğun çalışma hayatında birbirimizden yardımlarımızı esirgemediğimiz Anıl, Ufuk, Çağatay, Emre, Ayşin, Kübra, Elvin, Elif, Ulfat, Merve, Ayfer, Mihriban ve Mert'e,

Yardımları ve güler yüzleri ile beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum bölüm personelimiz Nadiye İnce, Zeynep Taflan, Fatma İskender ve Zeynep Akyüz'e,

Bu noktaya gelmemde en büyük payı olan beni sonsuz sevgi ve şefkatleri ile her zaman destekleyen, canım annem Nadriye Mutlu'ya, canım babam Tuncay Mutlu'ya ve tez çalışmam sırasında beni destekleyen, yüreklendiren, daima yanımda olan canım eşim Sinem Esen Mutlu'ya,

Tüm kalbimle teşekkür ederim...

Arş. Gör. Turgay Mutlu

İÇİNDEKİLER

Sayfa

İÇ KAPAK SAYFASI

ONAY

BEYAN

İthaf

TEŞEKKÜR

İÇİNDEKİLER

vi

TABLolar DİZİNİ

ix

ŞEKİLLER DİZİNİ

x

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

xii

ÖZET

xiv

ABSTRACT

xv

1. GİRİŞ ve AMAÇ

1

2. GENEL BİLGİLER

5

2.1. Yara İyileşmesi

5

2.1.1. Yara İyileşmesinin Aşamaları

5

2.1.1.1. İnflamasyon Aşaması

5

2.1.1.2. Proliferasyon Aşaması

6

2.1.1.3. Remodelasyon Aşaması

6

2.1.2. Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler

7

2.1.2.1. Lokal Faktörler

7

2.1.2.2. Sistemik Faktörler

7

2.1.2.3. Ağız İçerisinde Yara İyileşmesine Etkileyen Faktörler

8

2.2. Trombositler	9
2.2.1. Trombositlerin Genel Özellikleri	9
2.2.2. Trombositlerin Mikrobiyal Tehlikeleri Tanınması	10
2.2.3. Trombositlerin Konak Savunmasındaki Roller	11
2.2.3.1. Trombosit Mikrobisidal Proteinler ve Kinoidinler	11
2.2.3.2. Trombositlerin Amplifikasyon Basamağı	12
2.2.4. Trombositlerin Mikroorganizmalarla Etkileşimleri	12
2.2.4.1. Trombositler ve Bakteriyel Patojen Etkileşimleri	13
2.2.4.2. Mantarlar ve Trombositlerin Etkileşimleri	15
2.3. Beyaz Kan Hücreleri (Lökositler, Akyuvarlar)	15
2.3.1. Lökositlerin Genel Özellikleri	15
2.3.2. Lökositlerin Konak Savunmasındaki Roller	17
2.4. Trombosit Konsantrlerinin Gelişimi	18
2.4.1. Trombositten Zengin Plazma	18
2.4.2. Trombositten Zengin Fibrin	19
2.4.2.1. Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin	22
2.4.2.2. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin	22
2.5. Oral Florada Bulunan Mikroorganizmalar	24
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Hasta Seçimi	27
3.2. Besiyerlerinin Hazırlanması	27
3.2.1. Kanlı Agarın (KA) Hazırlanışı	27
3.2.2. Saboraoud Dextrose Agarın (SDA) Hazırlanışı	27
3.3. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması	28

3.4. e-TZF ve Kan Örneklerinin Hazırlanması ve Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması	29
3.5. İstatistiksel Analiz	34
4. BULGULAR	35
4.1. Demografik Bulgular	35
4.2. Koloni Sayılarının Zamana Bağlı Değişiminin Gruplar Arası Değerlendirilmesi	35
4.3. Koloni Sayılarının Zamana Bağlı Değişiminin Grup İçi Değerlendirilmesi	38
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	48
7. KAYNAKLAR	49
EKLER	67
EK 1. Etik Kurul Onay Belgesi	67
ÖZGEÇMİŞ	68

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
Tablo 1.	Çalışma örneklerinin gruplandırılması	30
Tablo 2.	<i>E.faecalis</i> ile hazırlanan Test 1 ve Kontrol 1 grubu örneklerinin farklı zamanlardaki koloni sayılarının değerlendirilmesi	35
Tablo 3.	<i>C.albicans</i> ile hazırlanan Test 2 ve Kontrol 2 grubu örneklerinin farklı zamanlardaki koloni sayılarının değerlendirilmesi	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
Şekil 1.	Agranüler ve granüler beyaz kan hücreleri	16
Şekil 2.	TZP hazırlanışının şematik gösterimi	19
Şekil 3.	TZF hazırlandıktan sonra tabakaların görünümü	20
Şekil 4.	Düşük hızda santrifüj konseptinin farklı TZF ürünlerinin elde edilmesine katkısı	21
Şekil 5.	Trombosit ve lökosit hücre sayıları açısından TZF ve e-TZF'nin karşılaştırmalı grafiği	23
Şekil 6.	e-TZF ve Kan örneklerinin hazırlanışının şematik gösterimi	30
Şekil 7.	<i>E.faecalis</i> koloni sayılarının gruplar arası karşılaştırmalı grafiği	36
Şekil 8.	<i>C.albicans</i> koloni sayılarının gruplar arası karşılaştırmalı grafiği	37
Şekil 9.	<i>E.faecalis</i> ile hazırlanan Test 1 (e-TZF) ve Kontrol 1 (Kan) grubu örneklerinin koloni sayılarının zamana bağlı değişimi	38
Şekil 10.	<i>C.albicans</i> ile hazırlanan Test 2 (e-TZF) ve Kontrol 2 (Kan) grubu örneklerinin koloni sayılarının zamana bağlı değişimi	39

RESİMLER DİZİNİ

Resim No		Sayfa
Resim 1.	Besi yerlerinin hazırlanışında kullanılan otoklav ve besi yeri tozları	28
Resim 2.	Çalışmamızda kullanılan kan alma tüpleri	31
Resim 3.	Çalışmada hazırlanan ependorf tüplerdeki Test ve Kontrol grubu örnekleri	31
Resim 4.	<i>E.faecalis</i> örneklerinin inkübasyon sonrası görünümü	32
Resim 5.	<i>C.albicans</i> örneklerinin inkübasyon sonrası görünümü	33

KISALTMALAR, SİMGELER ve FORMÜLLER DİZİNİ

Kısaltmalar

TZP	Trombositten Zengin Plazma
TZF	Trombositten Zengin Fibrin
PDGF	Trombosit kaynaklı büyüme faktörü
VEGF	Vasküler endotelyal büyüme faktörü
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
EGF	Epidermal büyüme faktörü
TGF	Dönüştürücü büyüme faktörü
L-TZP	Lökosit ve trombosit zengin plazma
L-TZF	Lökosit ve trombosit zengin fibrin
g-TZF	Geliştirilmiş trombosit zengin fibrin
e-TZF	Enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin
TNF- α	Tümör nekrozis faktör α
PMP	Trombosit mikrobisidal protein
IL-1	İnterlökin 1
IL-6	İnterlökin 6
TLR	Toll benzeri reseptör
RCF	Göreceli santrifüj kuvveti
Rpm	Devir/Dakika (Round per minute)
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
dk	Dakika
ark.	Arkadaşları
KA	Kanlı agar
SDA	Saboraoud dextrose agar

gr	Gram
mL	Mililitre
µL	Mikrolitre
mm	Milimetre
kob	Koloni oluşturan birim

Simgeler

<	Küçük
>	Büyük
°C	Santigrat derece
%	Yüzde
=	Eşit
+	Artı
±	Eksiği veya fazlası

ÖZET

Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrinin Oral Mikrobiyal Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinliğinin İn Vitro Ortamda Araştırılması

Bu çalışmanın amacı, e-TZF'nin *E.faecalis* ve *C.albicans* üzerindeki muhtemel antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değişimini araştırmaktır. Çalışmada Ağustos ve Kasım 2020 tarihleri arasında Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji bölümüne başvuran sistemik olarak sağlıklı 50 hastadan alınan kan örneklerinden elde edilen e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliği değerlendirildi. Çalışma için önceden hazırlanan 50 µl 'lik *E.faecalis* mikroorganizma süspansiyonlarının 450 µl e-TZF ve 450 µl tam kan ile ayrı ayrı karıştırılarak 500 µl 'lik Test 1 ve Kontrol 1 grubu örnekleri hazırlandı. Benzer şekilde 50 µl 'lik *C.albicans* mikroorganizma süspansiyonlarının, 450 µl e-TZF ve 450 µl tam kan ile ayrı ayrı karıştırılarak 500 µl 'lik Test 2 ve Kontrol 2 grubu örnekleri hazırlandı. Örneklerden başlangıç, 30., 60., 120., 180. ve 240. dakikalarda besi yerlerine ekim yapıldı ve inkübasyondan sonra ekimi yapılan besi yerlerinde oluşan koloni sayıları incelendi. Test ve kontrol grupları arasında yapılan karşılaştırmada, başlangıç dışındaki diğer tüm zamanlarda, Test 1 ve Test 2 grubu örneklerinde oluşan koloni sayılarının Kontrol 1 ve Kontrol 2 grubuna kıyasla anlamlı derecede düşük olduğu bulundu ($p<0.001$). Grup içi değerlendirmelerde, Test 1 grubu ve Test 2 grubu örneklerinde başlangıç değerlerine kıyasla diğer tüm zamanlarda oluşan koloni sayılarının anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$). e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değişimi incelendiğinde, *E.faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğin 60. dk'da, *C.albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğin ise 30. dk'da en yüksek olduğu tespit edildi. Zamana bağlı olarak azalma göstermesine rağmen, e-TZF'nin *E.faecalis* ve *C.albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin 240. dk'ya kadar devam ettiği gözlemlendi. Çalışmamızdan elde edilen veriler sonucunda e-TZF'nin *E.faecalis* ve *C.albicans* üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiği saptandı. e-TZF'nin farklı oral patojenler üzerindeki zamana bağlı etkinliğinin değerlendirildiği ileri klinik ve laboratuvar çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

Anahatar Kelimeler: Enjekte edilebilir Trombositten Zengin Fibrin, Antimikrobiyal etkinlik, *E.faecalis*, *C.albicans*

ABSTRACT

Investigation Of Antimicrobial Activity Of Injectable Platelet-Rich Fibrin On Oral Microbial Pathogens In Vitro

The aim of this study is to investigation of time-dependent change of antimicrobial efficacy of i-PRF on *Enterococcus faecalis* and *Candida Albicans*. In this study, the antimicrobial efficacy of i-PRF obtained from blood samples taken from 50 systemically healthy patients who applied to Karadeniz Technical University Faculty of Dentistry Department of Periodontology between August and November 2020 was evaluated. For the study, 500 µl Test 1 and Control 1 group samples were prepared by mixing 50 µl *E.faecalis* microorganism suspensions with 450 µl e-TZF and 450 µl whole blood separately. Similarly, 500 µl of Test 2 and Control 2 group samples were prepared by mixing 50 µl *C.albicans* microorganism suspensions with 450 µl e-TZF and 450 µl whole blood separately. The samples were inoculated at the beginning, 30th, 60th, 120th, 180th and 240th minutes and the number of colonies formed after the incubation in the cultivated mediums were examined. In comparison between test and control groups, it was found that the number of colonies formed in the Test 1 and Test 2 groups were significantly lower than the Control 1 and Control 2 groups at all times except the baseline ($p<0.001$). In-group evaluations, the number of colonies formed in Test 1 group and Test 2 groups samples were found to be significantly lower at other times compared to baseline values ($p<0.001$). When the time-dependent change of antimicrobial efficacy of i-PRF on *E.faecalis* and *C.albicans* was examined, it was found that the antimicrobial activity on *E.faecalis* was the highest at the 60th minute and the antimicrobial activity on *C.albicans* at the 30th minute. Although it decreased depending on the time, it was observed that the antimicrobial activity of i-PRF on *E.faecalis* and *C.albicans* continued until the 240th minute. As a result of the data obtained from our study, it was found that i-PRF showed antimicrobial activity on *E.faecalis* and *C.albicans*. Further clinical and laboratory studies are needed to evaluate the time-dependent effectiveness of e-TZF on different oral pathogens.

Keywords: Injectable Platelet-Rich Fibrin, Antimicrobial efficacy, *E.faecalis*, *C.albicans*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yara iyileşmesi, diş hekimliği ve tıpta önemli bir konu olmuştur ve olmaya devam etmektedir. Yapılan klinik ve laboratuvar çalışmalarında, birtakım biyomateryallerin yara iyileşmesi üzerine fayda sağlayabildiği gösterilmiştir (1). Yara iyileşmesini hızlandırmak, inflamasyonu düzenlemek ve rejenerasyonu arttırmak için yeni biyomateryallerin bulunmasını amaçlayan sayısız çalışma yapılmıştır. Trombosit konsantrelerinin bu hedeflere ulaşmadaki etkileri daha önce spor hekimliği ve ortopedi alanlarında araştırılmıştır. Trombosit konsantrelerinin, rejenerasyona katılan hücrelerin toplanmasını, çoğalmasını ve olgunlaşmasını kolaylaştırarak, yara iyileşmesini arttırdığı açıkça gösterilmiştir (2).

1997'de Whitman, Berry, Green ve 1998'de Marx ve arkadaşları, trombosit zengin plazmanın (TZP) çene-yüz cerrahisinde kullanılmasını teşvik eden ilk araştırmacılar (3, 4). TZP, hastadan alınan kanın santrifüje edilmesi ile elde edilen büyüme faktörlerinin otolog bir konsantresidir. TZP'nin tıpta kullanılmasının yararları yoğun bir şekilde incelenmektedir. TZP, doku rejenerasyonunu uyaran otolog büyüme faktörlerinin bir konsantresi olarak rejeneratif diş hekimliğinde de kullanılmaktadır. Ancak, yara iyileşmesini engellediği bilinen antikoagülan ajanlar kullanılarak hazırlanması nedeniyle dental dokulardaki rejeneratif kapasitesi oldukça sınırlıdır (5). Bununla birlikte hazırlık protokolünün pahalı ve karmaşık olması, pıhtılaştırıcı ajan olarak hayvan trombinine ihtiyaç duyulması gibi dezavantajları da bulunmaktadır (6).

TZP'nin dezavantajlarının üstesinden gelebilmek için yeni teknikler araştırılmıştır. Bunun sonucunda da trombosit zengin fibrin (TZF) Choukroun ve arkadaşları tarafından 2001'de tanıtılmıştır. TZF ilk olarak oral ve maksillofasiyal cerrahilerde kullanılmak üzere geliştirilmiştir (7). TZF, yoğun bir fibrin ağına sahip, sıkışmış trombositler, lökositler, büyüme faktörleri, yapısal glikoproteinler ve sitokinlerle bir zar oluşturan, ikinci nesil bir trombosit konsantresidir. TZF, kök hücrelerini toplayabilmekte, hücre göçünü ve farklılaşmasını uyaramaktadır. Bunlara ek olarak, fizyolojik mimari yapısı yara iyileşmesini desteklemektedir (8).

TZF, yüksek trombosit ve lökosit konsantrasyonuna sahip, yapısında trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve dönüştürücü büyüme faktörü (TGF) dahil olmak üzere yüksek konsantrasyonlarda büyüme faktörü içeren fibrin matriksinden yapılmış otolog bir biyomateryaldir (9).

TZF diş hekimliğinde, periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde, furkasyon defektlerinin rejenerasyonunda, diş eti çekilmesi olan dişlerin kök yüzeylerinin kapatılmasında, çekim soketlerinde ve sinüs boşluğunda yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu operasyonlarında tek başına veya greft materyalleri ile birlikte kombine olarak kullanılmaktadır (10). TZF'nin günümüzde geliştirilmiş trombosit zengin fibrin (g-TZF) ve enjekte edilebilir trombosit zengin fibrin (e-TZF) olarak bilinen iki tipi bulunmaktadır. e-TZF'nin diğer TZF çeşitlerinden farkı daha kısa sürede ve daha düşük hızda santrifüj edilmesinden dolayı enjekte edilebilir sıvı bir formda olmasıdır (11).

e-TZF, herhangi bir katkı maddesi içermeyen cam kaplı plastik tüplerde alınan kan örneklerinin oda sıcaklığında 700 rpm'de 3 dk (60g kuvvet ile) santrifüj edilmesiyle elde edilmektedir. Santrifüj işleminden sonra tüpün üst kısmında kolaylıkla seçilebilen turuncu renkte bir katman (e-TZF) ve tüpün alt kısmında kanın diğer elementlerinin bulunduğu kırmızı renkte bir katman oluşmaktadır. Materyalin homojenizasyonunu engellemek için tüp dikkatli bir şekilde açılmakta ve en üstte yer alan e-TZF kısmı 20 ml'lik enjektör (18G iğneli) yardımıyla çekilmektedir (11).

e-TZF, TZF ile benzer konseptte dayanır, ancak daha yavaş bir hızda ve daha kısa sürede santrifüj edilerek elde edilmesi sayesinde diğer TZF tiplerinden daha fazla sayıda rejeneratif hücre ve daha yüksek miktarda büyüme faktörü içerdiği düşünülmektedir. Bu durum Ghanaati ve arkadaşları tarafından yapılan "düşük hızda santrifüj konsepti" çalışmasıyla açıklanabilmektedir (12). Bu konseptte santrifüj hızının ve süresinin azaltılmasının, bir fibrin pıhtısı oluşmadan önce e-TZF içerisinde lökositler de dahil olmak üzere daha fazla sayıda hücrenin toplandığı gösterilmiştir. Yapılan hücre içeriği analizlerinde, periferik kanla kıyaslandığında e-TZF'nin daha yüksek konsantrasyonlarda trombosit ve lökosit içerdiği tespit edilmiştir (13). Aynı zamanda, güçlü bir vasküler büyüme faktörü olan VEGF'yi de daha yüksek oranda içerdiği ve yara iyileşmesi sürecindeki anjiyogenezin ve immün yanıtın gelişimini aynı anda destekleyebildiği gösterilmiştir (14). e-TZF'nin hücresel içeriği, bu biyolojik materyalin kandan türetilmiş canlı bir doku olduğunu göstermektedir. Bu hücresel içeriği canlı ve stabil tutmak için dikkatli bir şekilde kullanılması gerekmektedir.

Günümüzde diş hekimliği ve birçok tıp alanında rejeneratif cerrahi tedavilerde kullanımı popüler hale gelmiş olan otolog trombosit konsantrelerinin aynı zamanda cerrahi sonrası yara iyileşmesi, rahatsızlık ve enfeksiyonun kontrolü üzerine yararlı etkilerinin de olduğu gözlenmiştir. Farklı trombosit konsantrelerinin antiinflamatuvar ve antimikrobiyal etkinlikleri, bu alanda yapılan araştırmalar ile de desteklenmiştir (15–17).

Trombosit konsantrelerinin antimikrobiyal etkinliğinden esas sorumlu olan hücrelerin, içerisinde bulunan trombositler ve lökositler olduğu düşünülmektedir. TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinde, içerisinde bulunan lökositlerin mikroorganizmalar üzerindeki doğrudan etkisinin, trombositlerin bakteriler ile doğrudan etkileşime girerek bakterilere yapışmasının ve antikora bağımlı hücre sitotoksitesine katılmasının rol oynadığı düşünülmektedir. Buna rağmen TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinden esas sorumlu olan mekanizmaların neler olduğu henüz tam olarak belirlenememiştir (18).

Trombosit konsantrelerinin farklı mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı çalışmalarda hem gram pozitif (bazı streptokok ve stafilokok türleri) hem de gram negatif (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) bazı bakteriler, periodontal patojenler (*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* ve *Porphyromonas gingivalis*) ve oral mukozadan sıklıkla izole edilen fırsatçı patojenler (*Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans*) üzerinde antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (17–20).

Enterokoklar tek başına, çiftler halinde veya kısa zincirler halinde bulunabilen gram pozitif koklardır. Oksijen varlığında veya yokluğunda büyüme yeteneğine sahip fakültatif anaerob mikroorganizmalardır. Son yıllarda enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar oldukça artmış olup, özellikle hastane enfeksiyonlarına neden olan etkenler arasında ön sıralarda yer almaktadır. Tüm enterokok enfeksiyonlarının %80-90'ından *E.faecalis*, %5-15'inden ise *E.faecium* sorumludur. Diş hekimliğinde *Enterococcus* türlerinin, özellikle *E.faecalis*'in kronik periodontitis ve kronik apikal periodontitisi içeren başarısız kök kanal tedavileri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (21).

Kandida türleri sağlıklı hastaların ağız boşluğunda %35-60 arasında değişen oranlarda bulunabilmektedir. *C.albicans* oral mikrobiyatada en yaygın bulunan kandida türüdür. Toplam izolatların %60-70'ini *C.albicans* oluşturmaktadır. *C.albicans*, ağız içinde tükürükte ve kök kanalında oldukça yaygın bulunan bir mantar türüdür. Sadece pulpa nekrozu ve apikal periodontitisli dişlerde değil, aynı zamanda patolojik periodontal cep içerisinde de bulunabilen ve periodontal hastalığın patogeneğinde rol oynayabilen fırsatçı bir

mikroorganizma olarak kabul edilir. Ağız boşluğunda bulunan kandida, konak savunma mekanizmasını değiştirdiğinden patojenik mikroorganizmaların oral florada artmasını da kolaylaştırabilir (22).

Çalışmamızın amacı son zamanlarda periodontal tedavilerin birçok aşamasında kullanılmaya başlanan e-TZF'nin, ağız içerisinde kolonize olabilen ve yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkileri bulunabilen *Enterococcus faecalis* ve *Candida albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin araştırılmasıdır. e-TZF'nin muhtemel antimikrobiyal etkinliğinin bulunduğu düşünüldüğünde, cerrahi bölgeye e-TZF ile birlikte uygulanan greft materyallerinin operasyon sırasında ve sonrasında oral patojenlerle kontamine olmasının engellenmesi ve yara bölgesinde oluşabilecek enfeksiyon riskinin azaltılması sayesinde iyileşme sürecine olumlu etkilerinin olacağı düşünülmektedir.

Konuyla ilgili bir ön çalışma yapıldı ve bu çalışma neticesinde tam kan (Kontrol grubu) örneklerine kıyasla e-TZF (Test grubu) örneklerinin antimikrobiyal etkinliklerinin daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bu farklılıkların kantitatif olarak ölçülebilmesi ve zamana bağlı değişiminin değerlendirilebilmesi için bu çalışmanın yapılmasına karar verildi.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara İyileşmesi

Vücudun herhangi bir bölgesinde travma nedeniyle veya cerrahi işlem sonucu doku devamlılığının bozulması yara olarak tanımlanmaktadır. Yara iyileşmesi, erken ve geç dönemde karşılaşılan komplikasyonlar ve bunlara bağlı oluşan morbidite ve mortalite nedeniyle günümüzde hala zorlayıcı bir klinik problem olmaya devam etmektedir. Yara bölgesindeki biyolojik yükün azaltılması üzerine yapılan çalışmalarda, akut ve uzun dönemde yara bölgesinin idamesi için sürekli yeni teknolojilerin ve yeni terapötik yaklaşımların geliştirilmesine vurgu yapılarak iyileşmenin ve yara bakımının fizyolojisine odaklanılmıştır (23, 24).

Yara iyileşmesinin genel prensipleri ve ağız dışı bölgelerde gözlenen hücrel ve moleküler olaylar, periodontal cerrahiden sonra gerçekleşen iyileşme süreçleri için de geçerlidir. Cerrahi yaralanma, kılcal hasara ve kanamaya neden olur ve sonuç olarak bir kan pıhtısı oluşur. Kan pıhtısı, kırmızı ve beyaz kan hücreleri (lökositler) ile trombositler dahil olmak üzere kanın tüm hücrel komponentlerini içerir. Pıhtı iki işleve sahiptir; travmaya uğrayan dokuların geçici olarak korunması ve hücre göçü için geçici bir matriks görevi görmesidir. Pıhtı oluşumu, herhangi bir travmaya karşı dokuda oluşan anlık cevaptır. Pıhtı oluşumundan sonra dokuda çeşitli hücrelerin sırayla görev yaptığı iyileşme aşamaları meydana gelmektedir (25).

2.1.1. Yara İyileşmesinin Aşamaları

Her ne kadar dokular benzersiz iyileşme özelliklerine sahip olsalar da temelde tüm dokular birbirlerine benzer iyileşme mekanizmalarını takip ederler. Yara iyileşmesi süreci, günlerce devam eden aşamalardan oluşmaktadır. Bu aşamalar, dokuların başarılı bir şekilde yenilenmesi için gerekli anahtar bileşenler olarak tanımlanmıştır. Yara iyileşmesinin aşamaları inflamasyon, proliferasyon ve remodelasyon olarak 3'e ayrılmaktadır ve her aşama çeşitli hücre tiplerini kapsamaktadır (26).

2.1.1.1. İnflamasyon aşaması

İnflamasyon, yara iyileşme sürecinde gerçekleşen ilk aşamadır. Bu aşamada hemostazın sağlanması, bakteriyel invazyonun önlenmesi ve ölü dokuların ortamdaki uzaklaştırılması gerçekleşmektedir. İnflamasyon aşaması 24-48 saat sürer ve sıcaklık artışı, ödem, kızarıklık ve ağrı ile karakterizedir (27). Yara iyileşmesinin akut fazı, hemostazı ve

inflamatuvar yanıtı kolaylaştırdığı bilinen PDGF'nin, prostaglandinlerin ve lökotrienlerin salınması yoluyla trombositlerin aktivasyonu ile kısmen tetiklenir. Trombositler, yara iyileşmesinin temel komponentleri olan büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin doğal sağlayıcısı olarak erken dönemde yara iyileşmesini desteklemektedir. Trombositlerden salınan PDGF, fibroblastlar, düz kas hücreleri, makrofajlar, monositler ve nötrofiller üzerindeki kemotaktik ve mitojenik etkilerden sorumlu olan bir büyüme faktörüdür. Bu aşamada nötrofiller, yaralanma bölgesine hızla göç eder ve yaralanmadan iki gün sonra maksimum düzeye ulaşır. Ek olarak, nötrofiller fibroblastların, epitel hücrelerinin ve vasküler endotel hücrelerinin hasarlı dokuya göçünü uyaran büyüme faktörlerinin salınmasına yardımcı olur. Yaklaşık 48 saat sonra, makrofajlar yara yatağındaki baskın inflamatuvar hücreler haline gelirler. Makrofajlar bakteri ve doku kalıntılarını temizlemeye ve nötrofillerin yok edilmesine hizmet ederler. Yara iyileşme süreci ilerledikçe yaradaki makrofajların sayısı azalır ve fibroblastlar yara yatağının ana bileşeni haline gelirler (28, 29).

2.1.1.2. Proliferasyon aşaması

Yara iyileşmesinin proliferasyon aşamasında hücrel aktivite ve hasarlı dokunun onarımı hakimdir. 48-72 saat içinde fibroblastlar hasarlı bölgeye göç ederler ve fibroplazi olarak tanımlanan yapısal proteinlerin sentezlenmesinde, yara matriksinin yeniden düzenlenmesinde ve yaranın kontraksiyonunda rol oynarlar. Fibroplazi sırasında yeni dermal matriks ve granülasyon dokusu oluşur. Fibroplazi gerçekleştikçe, temel fibroblast büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerinin salınmasıyla anjiyogenez süreci başlar. Anjiyogenez, yara boşluğunda yeni damarların üretilmesini veya önceden var olan damarlara anastomoz ile yeni kan damarlarının oluşumunu içerir. Makrofajlar tarafından salınan tümör nekroz faktör- α (TNF- α) da anjiyogenezi ve yeni kan damarlarının oluşumunu destekler (30).

2.1.1.3. Remodelasyon aşaması

Yara iyileşmesinin son aşaması olan remodelasyon, kasılma ve yara boyutunun küçültülmesini içerir. Birkaç ay devam eden bu aşamada inflamatuvar hücreler giderek azalır ve yara normal dokuyu taklit etmeye başlar. Anjiyogenez sonlanır, kollajen lifler kalıcı hale gelir. Bu lifler yaraya direnç ve bütünlük kazandırır. Sonuç olarak, sürekli bir kollajen döngüsünü ve matriksin yeniden şekillenmesini içeren stabil bir hal alır (27).

2.1.2. Yara İyileşmesine Etki Eden Faktörler

Yara iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik faktörler olarak iki başlık altında incelenebilir (31).

2.1.2.1. Lokal Faktörler

- Vasküler bozukluklar
- Yanlış cerrahi teknik
- Doku iskemisi
- Enfeksiyon
- Hemostatik ilaç kullanımı
- Yabancı cisim reaksiyonu
- Yara bölgesine bağlı özellikler (dokunun kanlanması, rejenerasyon kapasitesi, hareketliliği vb.)

2.1.2.2. Sistemik Faktörler

- Protein ve vitamin eksiklikleri (Özellikle A ve C Vitaminleri)
- Sistemik ilaç kullanımı (NSAİİ, kortikosteroidler)
- Malnutrisyon ve beslenme problemleri
- Sistemik vasküler hastalıklar
- Kronik ve endokrin hastalıklar (Kardiyovasküler, Otoimmün hastalıklar, Diabetes Mellitus vb.)
- Sigara kullanımı
- Alkol kullanımı
- Radyoterapi ve kemoterapi
- İleri yaş

Yara bölgesinde meydana gelen enfeksiyon, inflamasyon sürecini uzatarak yaranın iyileşmesini geciktirir. Yara bölgesinde enfeksiyon meydana geldiğini anlamak için bakteriyel kültürden çok klinik bulgulara bakılarak karar verilir (32). Klinik olarak enfeksiyon meydana gelebilmesi için gram başına 100.000'den fazla bakterinin dokuda bulunması gerekmektedir. Enfeksiyon sonucunda dokuda proteolitik enzimler açığa çıkar ve hücre lizisine yol açarak lokal doku hipoksisi gerçekleşir. Tüm bunların sonucu olarak yara iyileşmesinin inflamatuvar fazı uzar ve doku yıkımı meydana gelir (32).

2.1.2.3. Ağız İçerisinde Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Cerrahi operasyon sonrası ya da travma sonrası ağız içerisinde meydana gelen yaralanmaların iyileşmesini etkileyen faktörler lokal ve sistemik olarak ikiye ayrılır (33).

Lokal Faktörler

- Cerrahi bölgede enfeksiyon olması
- Flep tasarımı ve dikiş yöntemi
- Flep kenarlarının beslenmesi
- Flep kalınlığı ve gerginliği
- Operasyon sonrası kanama

Sistemik Faktörler

- Sigara kullanımı
- Diyabet
- İmmüsupresyon
- HIV-AİDS

Ağız içerisinde cerrahi işlem sonrası sağlıklı yara iyileşmesi, altta sağlıklı bir kemik varlığında damak ve dişeti dokusunun skar oluşmaksızın iyileşmesi ile karakterizedir (34). Periodontal cerrahi işlemler sonrası yara iyileşmesi sırasında, dişeti kenarlarında ve interdental papiller bölgede doku bütünlüğünün bozulma riski bulunmaktadır. Bu riski en aza indirmek için spesifik bazı flep teknikleri, doğru insizyonların yapılması ve bölgenin enfeksiyondan korunması çok önemlidir (35).

Ağız içerisinde meydana gelen bir diğer iyileşme çeşidi dental implant yüzeylerinde gerçekleşmektedir. Dental implant cerrahilerinde implant doğrudan kemik içerisine yerleştirilir. İmplant yerleştirildikten sonra kapatma vidasının üzeri yumuşak doku ile kaplanır. Kemikte iyileşme, hazırlanan implant yuvası ve implant yüzeyi arasında gerçekleşir (35). İmplant yivleri arasında ilk olarak kan pıhtıları oluşur ve daha sonra pıhtı makrofajlar ve granülositler tarafından ortamdan uzaklaştırılır. Fibroblastik progenitör hücreler tarafından bölgede granülasyon dokusu oluşumu gerçekleştirilir. Son olarak, granülasyon dokusundaki hücreler kemik oluşturan osteoblastlara dönüşür. Bu kemik oluşumu implantın yerleştirilmesinden 4 gün sonra başlar ve 3 ay içerisinde maksimum kemik-implant teması sağlanır (36).

Periodontal cerrahi işlemler veya travma sonucu yaralanma meydana geldiği zaman yüzeye tutunabilen mikroorganizmalar doku içerisine giriş imkanı bulmaktadır. Patojen mikroorganizmaların dokuya girmesi ve çoğalması sonucunda da enfeksiyon gerçekleşmektedir. Mikroorganizmalar ve endotoksinleri, interlökin-1 (IL-1) ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin yara bölgesinde uzun süre yüksek seviyelerde kalmasına neden olarak inflamasyon aşamasını uzatmaktadır. Bu durumun uzun süre devam etmesi yarayı kronik bir hale getirerek iyileşmeye engel olmaktadır (37, 38).

Kandaki trombosit hücreleri ve nötrofil, monosit, lenfosit gibi lökosit hücreleri aracılığıyla dokudaki enfeksiyon önlenmeye çalışılır. Trombositler, reseptörleri aracılığıyla dolaylı olarak veya trombosit mikrobisidal proteinleri (PMP) sayesinde direkt olarak dokuya giren bakterilerle etkileşime girebilmektedir. Bu etkileşimler, yalnızca trombozu veya hemostazı sağlamanın ötesinde enfeksiyonla mücadelede trombosit hücrelerinin önemini göstermektedir (39).

2.2. Trombositler

2.2.1. Trombositlerin Genel Özellikleri

Trombositler, megakaryositlerden köken alan, ortalama yaşam süreleri 7 ila 10 gün olan, renksiz, 2-4 μ m çapında küçük, çekirdeksiz ve küresel hücrelerdir. Sitoplazmadaki aktif moleküllerin dış ortama atılmasını sağlayan parmak şeklinde uzantılardan oluşan bir kanal sistemine sahiptirler. Morfolojik olarak hücre duvarında sahip oldukları veziküller ve girinti, çıkıntılar nedeniyle deniz süngerine benzetilirler. Trombositlerin kandaki toplam sayısı 150.000-400.000/ μ l'dir. Kanda en çok bulunan hücrelerdendir ve sensörleri sayesinde doku hasarını tanırlar (40).

Esas görevleri hasarlı endotel yüzeyine yapışarak hemostazı sağlamaktır. Bu görevlerinin yanında trombositler, granüllerinden serbest bıraktıkları büyüme faktörleri ve sitokinler aracılığıyla anjiyogenezi, matriks remodelasyonunu ve hücre çoğalmasını sağlayarak yara iyileşmesi aşamasında önemli bir rol oynarlar (41, 42). Vasküler sistemin koruyucuları olarak da işlev gören trombositler, bakteriyel reseptörleri açığa çıkarırlar, bakterileri absorbe etme yeteneğine sahiptirler ve bir dizi konak savunma fonksiyonu sağlayan çeşitli molekülleri serbest bırakırlar (43).

Trombositler, yapısında granüller içerdği için granülositler arasında sayılabilmektedir. Trombositlerde genel olarak 3 tip granül bulunmaktadır (41, 44):

1. Dens (delta) granüller; damar tonusu ile ilgili mediyatörleri içerirler. Bu mediyatörler nükleotidler, biyoaktif aminler ve minerallerdir.

2. Alfa granüller; PMP'ler, kinosidinler, mitojenik faktörler, koagülasyon faktörleri ve proteaz inhibitörlerinden oluşan beş çeşit protein içerirler.

3. Lizozomal granüller; proteazlar ve glikozidazlar gibi trombosit fibrin tıkaç oluşumuyla doku yenilenmesini ve yara iyileşmesini sağlayan çeşitli enzimleri içeren granüllerdir (41, 45).

Trombositler enfeksiyona ve damar hasarına müdahalede ilk görev alan hücrelerdir. Patojen mikroorganizmaların erken tespit edilmesine katkı sağladıkları gibi konak savunmasının iyileştirilmesini ve aktive edilmesini de sağlarlar (45). Trombositler çeşitli mikrobiyal patojenlerle doğrudan veya dolaylı olarak etkileşime girerek kan dolaşımında bulunan patojenleri temizlerler (46). Makrofajların yaptığına benzer bir şekilde kan dolaşımında ve dokularda bulunan patojen mikroorganizmaları içerisine alarak fagosite ederler. Ancak bu işlemin gerçek bir fagositoz olup olmadığı net olarak gösterilememiştir (42, 45).

2.2.2. Trombositlerin Mikrobiyal Tehlikeleri Tanınması

Trombositlerin mikroorganizmalara bağlı oluşan tehlikeleri tanınması ve yanıt vermesi ile ilgili mekanizmalar henüz tam olarak açıklanamamıştır. İn vitro ve hayvan çalışmalarında, trombositlerin bakterilere özgü proteinden zengin alanları hedef aldığı gösterilmiştir (42). Bakterilere özgü bu peptitlerin trombositleri, toll benzeri (TLR) reseptörler ve IL-1 ailesinden diğer sitokinler yoluyla uyardığı ve bu uyarılma sonucunda da reseptörlerin sayısında önemli miktarda artış olduğu düşünülmektedir. Trombositlerin, bakteriyel enfeksiyon kaynaklı aktivasyonunda TLR1 ve TLR6 artışı olurken, trombin ile aktivasyonu sonucunda önemli miktarda TLR9 artışı olmaktadır (47).

Trombositlerin enfeksiyona karşı konak savunmasına katkıda bulunduğu kavramı, trombosit yapısı ve işlevi ile ilgili bir dizi kanıtla doğrulanmaktadır. Örneğin trombositler, nötrofiller ve monositler gibi fagositoz özelliğine sahip hücreler ile ortak yüzey antijenlerine sahiptirler ki bunlar; 40-kDa FcγRII reseptörü (48), IgE için FcεRI reseptörü (49), C-reaktif protein reseptörü (50) ve trombospondin reseptörü CD36'dır (51). Bununla birlikte

trombositler, C3a ve C5a reseptörleri de içerirler ve lökositlerin konak savunmasında oynadığı role benzer şekilde TNF- α , IL-1, IL-6 sitokinlerine karşı duyarlılık gösterirler (44).

2.2.3. Trombositlerin Konak Savunmasındaki Roller

Trombositlerin konak savunmasına önemli ölçüde katkı sağlayan çeşitli yapılara ve fonksiyonlara sahip olduğu günümüzde açıkça bilinmektedir. Trombositler, patojen mikroorganizmaların erken aşamada tespit edilmesini, konak savunmasının aktivasyonunu ve arttırılmasını sağlamaktadır. Son yıllarda trombositlerin konak savunmasına katkı sağlayan moleküllerini ve mekanizmalarını tanımlamak amacıyla pek çok çalışma yapılmıştır (52, 53).

2.2.3.1. Trombosit Mikrobisidal Proteinler (PMP) ve Kinositinler

İnsan trombositlerindeki antimikrobiyal peptitleri ilk olarak Tang ve ark. tanımlamışlardır. Günümüzde, aktive olmuş trombositlerin granüllerinden bir dizi efektör peptidin serbest bırakıldığı bilinmektedir (52). PMP olarak bilinen bu peptitler direkt olarak mikrobisidal etkilere sahiptir (54).

Trombositlerin antimikrobiyal etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda, PMP'nin bir alt tipi olan klasik kemokinlerin mikrobisidal aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Kemokinin etkileri ile birlikte mikrobisidal etkinliğe sahip olduğu anlaşılan bu peptitler, kinositinler olarak adlandırılmıştır (54). Trombositlerin aktivasyonu sonucunda granüllerden hızla salınan kinositinler, bakteriyel patojenler üzerinde güçlü bir antimikrobiyal aktivite gösterirler. Kinositinler, kan dolaşımında inaktif olarak bulunan klasik antimikrobiyal proteinlerden farklı olarak doku hasarı sonucu kan dolaşımına girerler (55).

Konak savunmasındaki mikrobisidal proteinlerin ve kinositinlerin antimikrobiyal etkinliğinin çeşitli aşamalar sonucunda gerçekleştiği tespit edilmiştir. Mikroorganizma ile karşılaştıktan sonra trombosit hücreleri aktive olur ve granüllerinden PMP'ler, kinositinler ve ADP/ATP molekülleri salınır. Açığa çıkan ADP uyarılmamış komşu trombositlerde P2X₁/P2Y₁₂ reseptörlerine bağlanarak komşu trombosit hücrelerinin de aktive olmasını sağlar. Bunun sonucunda aktive olmuş trombosit hücrelerinden tekrar PMP'ler ve kinositinler degranüle olurlar. Gerçekleşen bu döngü, vücutta oluşan enfeksiyon sınırlanana kadar artarak devam eder (56).

2.2.3.2. Trombositlerin Amplifikasyon Basamağı

Trombosit amplifikasyonu, uyarılmış trombosit hücrelerinin granüllerinden salınan proteinlerin komşu trombosit hücrelerini aktive ederek uyarılan trombosit hücre miktarının artmasıdır. Trombositlerin amplifikasyon basamağı vücudun konak savunma sisteminin uyarılması açısından önemli bir aşamadır. Trombosit hücrelerinin mikroorganizma ile etkileşime girmesini takiben granüllerinden PMP'lerin ve kinosidinlerin salındığı bilinmektedir (57).

Trombosit-mikroorganizma etkileşim mekanizması, birbirini takip eden ve tekrarlayan bir dizi aşamaları içermektedir (45, 57):

- Mikroorganizmaya yanıt olarak trombositlerin aktivasyonu,
- PMP'lerin, kinosidinlerin ve ADP/ATP'nin degranülasyonu,
- İnaktif halde bulunan komşu trombositler üzerindeki $P2X_1/P2Y_{12}$ reseptörlerinin aktivasyonu,
- Birbirine komşu trombositlerden PMP ve kinosidin salınmasının tekrarlama

2.2.4. Trombositlerin Mikroorganizmalarla Etkileşimleri

Trombositler ve trombositlerden salınan mikrobisidal proteinler ile kinosidinler, viral, bakteriyel, fungal ve protozoal patojenlerin tümü ile etkileşime girebilmektedir. Ancak bu etkileşim her mikroorganizma için farklı şekillerde meydana gelmektedir ve trombositlerin patojen mikroorganizmalar ile etkileşimleri doğrudan veya dolaylı olarak gerçekleşmektedir (44, 58–60).

PMP'lerin ve kinosidinlerin konak savunmasındaki önemi son yıllarda daha çok dikkat çekmeye başlamıştır. Yapılan in vitro, ex vivo ve in vivo çalışmalarda PMP'lerin, kinosidinlerin ve sentetik türevlerinin, gram pozitif ve gram negatif bakteriler ile mantarlar üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiği bildirilmiştir (44, 61).

PMP'ler ve kinosidinler, doğrudan antimikrobiyal etkilerinin yanında, nötrofil ve monosit gibi konak savunmasında görevli hücreler ile etkileşime girerek dolaylı yoldan konak savunma hücrelerinin antimikrobiyal etkinliklerini de uyarırlar ve antimikrobiyal yanıtın artmasını sağlarlar. Bu anlamda nötrofil ve trombosit hücrelerinin etkileşimleri vücudun bakteriyel enfeksiyona karşı savunmasında oldukça önemlidir. Mikroorganizma ile etkileşime girdikten sonra trombositlerden salınan PMP'ler ve kinosidinler özel bazı reseptörler aracılığıyla nötrofillere ve monositlere bağlanırlar. Bu bağlantı nötrofillerin

fagositozunu ve hücre içi öldürme mekanizmalarını artırır (62). Aynı zamanda trombositler gram pozitif ve gram negatif bakterilere yanıt olarak nötrofillerin oksidatif patlama aktivitesini de güçlendirirler (63).

2.2.4.1. Trombositler ve Bakteriyel Patojen Etkileşimleri

Trombositler ve bakteriyel patojen etkileşimleri ile ilgili yapılan en eski metodik araştırmalar Clawson ve White'in yapmış olduğu araştırmalardır. Bu araştırmalarda bakteriyel patojenlerin, insan ve diğer memelilerin trombositlerine yapıştığı ve toplandığı, trombositleri aktive ettiği ve trombositlerin degranülasyonunu hızlandığı gösterilmiştir (64–67). Genel olarak bakteri-trombosit etkileşimi birbirini takip eden bir dizi aşama ile gerçekleşmektedir (68):

- Direkt temas
- Morfogenez
- Erken agregasyon
- Geri dönüşümsüz agregasyon

Bakteriler ve trombositler arasındaki etkileşimin başlamasını sağlayan ilk aşama, bakterilerin direkt olarak trombosit hücreleri ile temasa geçmesi sonucunda gerçekleşir. Bu aşama birkaç dakika içinde tamamlanarak trombositlerde morfogenez aşamasının tetiklenmesini sağlar. Morfogenez aşamasında trombosit hücreleri şekil değiştirerek diskoid formdan daha düzensiz bir yapıya dönüşürler. Bu aşamada granüller organize olarak sitoplazmaya doğru hareket ederler. Granüllerin organizasyonunu takiben trombosit hücrelerinde degranülasyon gerçekleşir ve granüllerden salınan trombospondin ve fibrinojen gibi mediyatörler trombosit hücrelerinin erken agregasyonunu uyarır (67). Bakteri ve trombositler arasındaki agregasyon için eşik bir bakteri konsantrasyon değeri mevcuttur. Her mikroorganizma için farklılık gösteren bu eşik konsantrasyonun altındaki miktarlarda agregasyon devam etmezken, üstündeki miktarlarda geri dönüşümsüz agregasyon meydana gelir (68). Trombositler ve bakteriler arasındaki agregasyon gerçekleşmeden önce belirgin bir gecikme süresi vardır. Bakteri konsantrasyonunun yüksek olması bu süreyi kısaltsa da tamamen ortadan kaldırmaz. Bazı bakteriler için gecikme süresi 90-120 saniye kadar kısa olmasına rağmen bazı bakteriler için 20 dakikaya kadar uzayabilir (68).

Farklı bakteri cinsleri, hatta aynı cinsin farklı türleri, farklı şekilde trombositlere yapışabilir, onları aktive edebilir, kümelenebilir ve trombositlerin degranulasyonunu indükleyebilir. Örneğin, *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis* ve *Escherichia coli* in vitro olarak insan trombositlerine hızla yapışır ve trombosit agregasyonu oluştururken (64–67), *Staphylococcus epidermidis* ve *Streptococcus pneumoniae* gibi kan dolaşımına giren bazı bakteriler, trombosit agregasyonu oluşturmamaktadır (64).

Trombositler ile Gram Pozitif Bakterilerin Etkileşimleri

Trombositler ile gram pozitif bakteriler arasındaki mekanizmaları göstermek amacıyla çeşitli bakteri grupları ile çalışmalar yapılmıştır. Gram pozitif bakteriler ve trombositler arasındaki etkileşimi en iyi *Staphylococcus* türleri üzerine yapılan çalışmalar tanımlamıştır. Genel olarak bu çalışmalar, mikroorganizmanın toksinleri ve kapsül bileşenleri ile trombosit aktivasyonunu sağlayan yüzey proteinleri üzerine odaklanmıştır (69–71).

Staphylococcus türleri enfektif endokarditin etiyolojileri arasında en sık rastlanan etkindir (72) ve aynı zamanda ikinci en sık görülen bakteriyemi etkenidir (73). *Staphylococcus* türleri arasından özellikle *S.aureus*'un kapsül bileşenleri ve toksinleri üzerine araştırmalar yapılmıştır. Trombositler ile etkileşime giren *S.aureus* toksinleri arasında en kapsamlı çalışmalar alfa toksin üzerine yapılmıştır. Bu ekzotoksinin trombositlerin, eritrositlerin ve hatta bazı lökositlerin hücre zarı ile etkileşime girerek hücrede hasara ve sonunda hücrenin lizisine neden olduğu bildirilmiştir (44). Trier ve ark., *S.aureus* ve trombosit etkileşimi üzerine yaptıkları çalışmada, trombosit/*S.aureus* konsantrasyonunun 10:1 veya daha yüksek olduğu durumlarda trombositlerin *S.aureus*'un çoğalmasını önemli derecede azalttığını göstermişlerdir (57).

Trombositler ile Gram Negatif Bakterilerin Etkileşimleri

Gram pozitif mikroorganizmalar ile kıyaslandığında gram negatif mikroorganizmalar ve trombosit etkileşimleri hakkında literatürde nispeten daha az bilgi bulunmaktadır (41, 58, 74). Bu etkileşimler ile ilgili en iyi örnekler, trombositler ile *Pseudomonas aeruginosa* veya *Yersinia* türleri arasındaki etkileşimleri değerlendiren çalışmalardır (75, 76). Coutinho ve ark., *P.aeruginosa* kaynaklı majör virülans faktör fosfolipaz C'nin doza bağımlı olarak trombosit agregasyonuna neden olduğunu bildirmişlerdir (75).

2.2.4.2. Mantarlar ile Trombositlerin Etkileşimleri

PMP'lerin ve kinosidinlerin immün savunma fonksiyonları bakteriyel patojenlere karşı olduğu gibi mantarlara ve bazı protozoalara karşı da etkilidir (45). Trombositler, granüllerinden salınan proteinleri aracılığıyla *Zygomycetes* üzerinde antifungal etkiye sahiptir ve mantarların büyümesini ve yayılmasını önemli ölçüde azaltmaktadır. Trombositlerin, mantarların (*Rhizopus spp.*, *Rhizomucor spp.*, *Mucor spp.* ve *Absidia spp.*) konidya ve hiflerle çoğalmasında ciddi ölçüde azaltarak fungal büyümenin güçlü bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir (77). Aynı zamanda çeşitli çalışmalarda PMP'lerin *Candida* türleri üzerinde antifungal aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (78–80).

2.3. Beyaz Kan Hücreleri (Lökositler, Akyuvarlar)

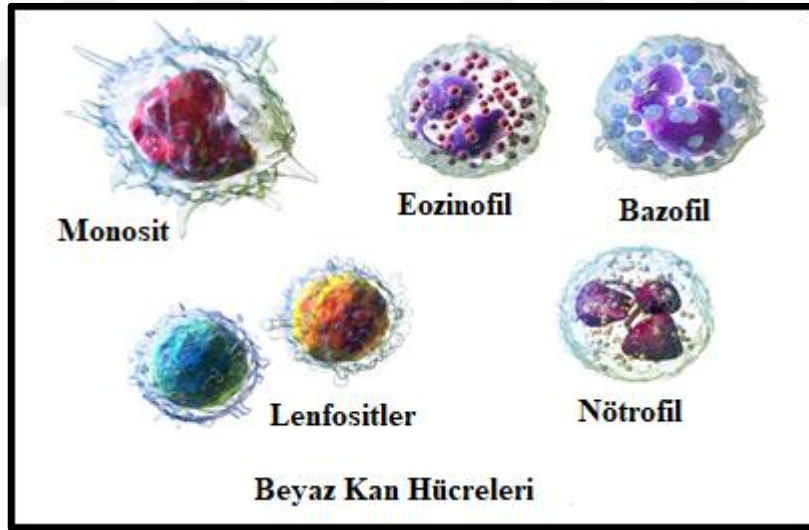
2.3.1. Lökositlerin Genel Özellikleri

Lökosit kelimesi Yunanca lökos (beyaz) ve kito (hücre) kelimelerinden köken alır, dolayısıyla da beyaz kan hücresi terimi yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu hücreler hemopoietik hücre hattından gelişir. Hemopoietik kök hücreler yetişkinlerde kemik iliğinde ve ayrıca az miktarda kanda bulunurlar (81).

Lökositler, sitoplazmalarında granüller olan granüler hücreler (granülositler) ve nispeten temiz sitoplazmalı agranüler hücreler (lenfositler ve monositler) olarak ikiye ayrılırlar (Şekil 1).

Granüler hücreler nötrofiller, eozinofiller ve bazofillerden oluşmaktadır. Polimorfonükleer lökositler, PMN, PML olarak da adlandırılan granülositler, doğuştan gelen bağışıklık sisteminin merkezi hücreleridir. Nötrofiller, güçlü fagositoz yapan inflamasyonun en önemli hücreleridir ve bakteriyel enfeksiyonlarda kandaki sayıları belirgin şekilde artmaktadır. Eozinofiller, fagositoz kapasiteleri sınırlı hücrelerdir ve genellikle vücudun alerjenlere ve parazitlere karşı reaksiyonlarından sorumludurlar. Granüllerinde bulunan proteinler ve oksijen metabolitleri sayesinde parazit membranını parçalayarak etki göstermektedirler. Bazofiller, kandaki sayıları en düşük olan lökosit hücrelerdir ve fagositoz yetenekleri olmamasına rağmen dokulara göç edebilirler. Dokulara geçen bazofil hücreleri mast hücresi olarak adlandırılmaktadır. Mast hücreleri sitokin sentezler ve IgE ile oluşan alerjik reaksiyonlara katılırlar (82–84).

Agranüler hücreler ise monositler ve lenfositlerden oluşur. Monositler kemik iliğinde olgunlaşıp kana geçerek yaklaşık 8 saat dolaşımda kalırlar ve daha sonra dokuya yerleşerek olgun makrofaj halini alırlar. Temel işlevleri fagositoz, antijen sunma ve sekresyondur (85). Lenfositler, çapları ve sitoplazma miktarlarına göre T lenfositler, B lenfositler ve doğal öldürücü hücreler (Natural Killer) olarak üç alt tipe ayrılırlar ve toplam lökosit hücrelerinin %20-40 kadarını oluştururlar. Lenfosit hücrelerinin %80'ini oluşturan T lenfositler, kemik iliğindeki kök hücrelerin timüse gelip olgunlaşması sonucu oluşurlar. T lenfositler timusta olgunlaşma aşamasında yüzey antijenleri kazanarak alt tiplere ayrılırlar ve genellikle hücresel bağışıklıktan sorumludurlar (84, 86). B lenfositler toplam lenfosit hücrelerinin %10'unu oluştururlar ve T lenfositlerden farklı olarak kemik iliğinde olgunlaşırlar. Antijen ile uyarılmaları sonucunda iki alt tipe ayrılırlar ve temel olarak antikor üretimi ile humoral immün yanıtta sorumludurlar (87, 88). Doğal öldürücü hücreler kemik iliğinden köken alan ve virüslere karşı doğal bağışıklık yanıtta ilk görev alan hücrelerdir. Büyük granüllü lenfosit olarak da adlandırılmaktadırlar ve tüm lenfositlerin %10'unu oluştururlar (89).



Şekil 1. Agranüler ve granüler beyaz kan hücreleri.

2.3.2. Lökositlerin Konak Savunmasındaki Rolü

Granülositler oldukça kısa ömürlü hücrelerdir ve kan dolaşımında bulunan lökositlerin %60-70'ini oluştururlar. Granülosit hücrelerden biri olan nötrofiller lökositlerin %60'ını, granülositlerin %90'ını oluşturmaktadır (90).

Nötrofiller bağışıklık sisteminin temel unsurlarından biridir ve iyileşme sürecinde önemli rol oynarlar. Nötrofillerin başlıca fonksiyonları fagositoz ve hücre içi öldürme aktivitesidir. Enfeksiyon bölgesinde lokalize olan nötrofiller uygun şekilde opsonize edilmiş yapılara bağlanıp onları fagosit ederler (90).

Nötrofillerin granülleri, çeşitli antimikrobiyal peptitler ve enzimler içermektedir ve büyük ölçüde fagozom içerisinde degranüle edilerek yutulan mikroorganizmalar üzerinde etki göstermektedirler (82). Bu peptitlerden bazıları özellikle araştırılmıştır ki bunlar; laktoferrin, defensinler, bakterisidal/gerçirgenlik arttıran protein (BPI), azurosidin/heparin bağlayıcı protein, katelisinler, fosfolipaz A2, kalprotektindir. Antimikrobiyal peptitler genellikle yapısal olarak hidrofobik ve hidrofilik yanlara sahip olacak şekilde düzenlenir. Bu özellik hem su içeren hem de lipid bakımından zengin membranla etkileşime girmelerini sağlamaktadır (91, 92).

Lizozomal katyonik proteinler olarak da adlandırılan defensinler, doğuştan gelen bağışıklığın oluşması açısından hem nötrofiller hem de trombositler için oldukça önemlidir. İçeriğinde bulunan moleküller sadece antibakteriyel değil, aynı zamanda antiviral, antiparazitik ve antifungal etki de gösterirler. Defensinlerin antimikrobiyal aktivitesinin mekanizması, bir mikroorganizmanın hücre zarı ile birleşmeleri ve ardından apoptozise yol açan birkaç metabolik süreci başlatmasıyla gerçekleşmektedir (93).

Lökositler, antienfeksiyöz etkilerinin yanı sıra IL-1 β , IL-6, IL-4 ve TNF- α gibi önemli immün sitokinlerin salınması yoluyla yara iyileşmesinde de anahtar rol oynayan hücrelerdir. Konak savunmasındaki rollerinin iyi tanımlanmasıyla birlikte lökositler, biyomateryallerin konak dokuya uyum sağlama yeteneğini kontrol eden düzenleyiciler olarak da işlev görmektedirler.

2.4. Trombosit Konsantrelerinin Gelişimi

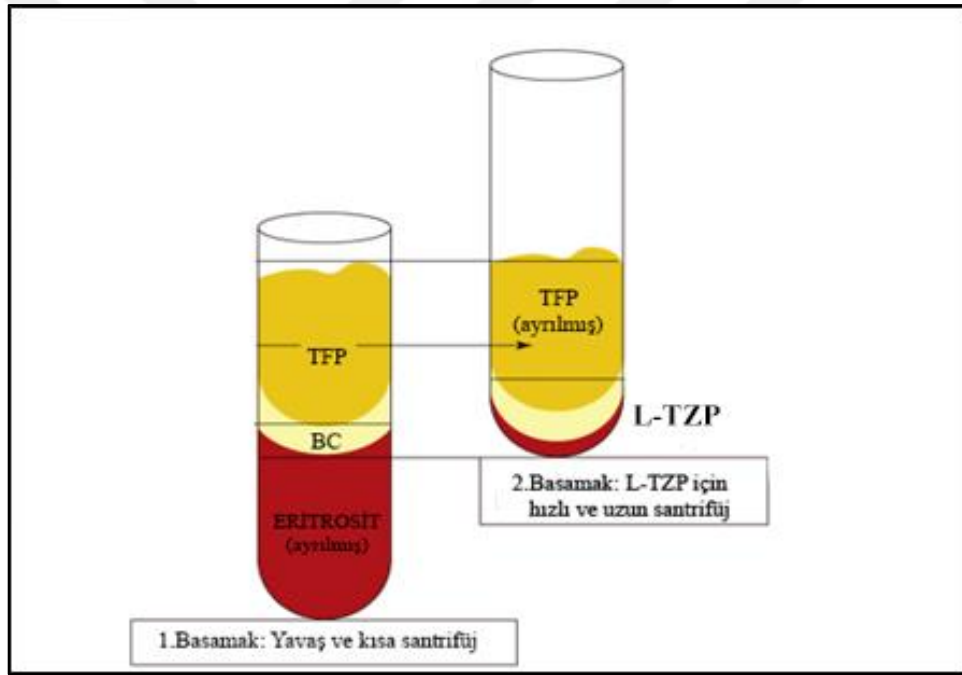
Dokuda meydana gelen yaralanmalarda iyileşmeyi arttırmak ve enfeksiyonu engellemek için uygun biyomateryallerin geliştirilmesine yönelik klinik araştırmalar uzun süredir devam etmektedir. Hekimler yapılan cerrahi müdahalelerden sonra dokunun yeniden şekillenme süreci ve sağ kalımı üzerine sonuçları iyileştirmek için son 50 yılda fibrin yapıştırıcıları ve buna benzer ürünleri kullanmaktadır. Kan türevlerinin kullanımı ilk kez 1972 yılında Matras ve ark. tarafından tanımlanmış ve konsantre fibrinojenden (trombin ve kalsiyumun indüklediği polimerizasyon) oluşan fibrin yapıştırıcılar yaraları kapatmak ve iyileşmeyi uyarmak amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (94). Üretim protokollerinin karmaşık olması ve çapraz enfeksiyon riski taşımaları nedeniyle, fibrin yapıştırıcıların klinik kullanımları oldukça sınırlı kalmıştır (95). Benzer etkilerin sağlanması amacıyla fibrin yapıştırıcıların yerine trombosit konsantrelerinin kullanımı ilk olarak 1997 yılında Whitman ve ark. tarafından ortaya atılmış (3) ve son yirmi yılda önemli bir araştırma konusu haline gelmiştir. Farklı sistemler ve protokoller ile oluşturulan trombosit konsantrelerinin hepsi, orijinal transfüzyon trombosit konsantreleriyle aynı adı taşıyan trombosit zengin plazma (TZP) olarak adlandırılmıştır (96).

2.4.1. Trombosit Zengin Plazma

TZP'nin gelişimi ilk olarak 1980'li yıllarda başlamıştır. Farklı TZP hazırlama protokolleri bulunmasına rağmen, bu protokollerin ortak noktası, hastadan alınan kanın basit ve otomatik makineler kullanılarak hemen trombosit konsantresi haline dönüştürülmesidir (97). Cerrahi işlem öncesinde veya cerrahi sırasında trombosit aktivasyonunu veya degranülasyonunu önlemek için antikoagülan içeren tüplerde hastadan alınan venöz kan hemen santrifüj edilmektedir. İlk santrifüj (yumuşak döndürme), alınan kanın üç farklı katman şeklinde ayrılmasını sağlar. Tüpün alt kısmında kırmızı kan hücreleri yer alır ve toplam hacmin %55'ini oluşturur. Tüpün tepe kısmında trombosit açısından fakir plazma (TFP) olarak adlandırılan aselüler plazma yer alır. Bu iki tabaka arasında trombosit konsantrasyonunun büyük ölçüde arttığı ara katman olan “buffy coat” yer alır ve toplam hacmin sadece %5'ini oluşturur. İlk tüpte oluşan TFP katmanı ile buffy coat denilen kısım ve az miktarda kırmızı kan hücresi enjektör kullanılarak antikoagülan içermeyen başka bir tüpe aktarılır. İkinci tüp daha hızlı ve uzun süreli (sert döndürme) bir ayarlama ile santrifüj edilir. Bu ikinci santrifüj aşamasından sonra tüpün üst kısmında biriken TFP kısmı atılarak altında toplanan lökosit ve trombosit açısından zengin plazma (L-TZP) elde edilir (Şekil 2).

Elde edilen TZP; sığır trombini ve/veya kalsiyum klorit ile karıştırılarak trombosit aktivasyonu sağlanır ve jel formuna getirilir (97, 98).

Trombositten zengin plazma doku rejenerasyonunu uyarabilen bir otolog biyomateryal olarak tıp ve diş hekimliğinde sıklıkla kullanılmıştır. Ancak yapılan çalışmalarda TZP'nin rejeneratif kapasitesinin sınırlı olduğu gösterilmiştir (99, 100). TZP'nin hazırlanması için kullanılan antikoagülan ajanların dokunun rejenerasyonunu baskıladığı bildirilmiştir (101). Bununla birlikte hazırlık protokolünün pahalı ve karmaşık olması pıhtılaştırıcı ajan olarak hayvan trombini kullanılması gibi dezavantajlarının bulunması nedeniyle diş hekimliğinde özellikle de rejeneratif işlemlerde kullanımı giderek azalmıştır.



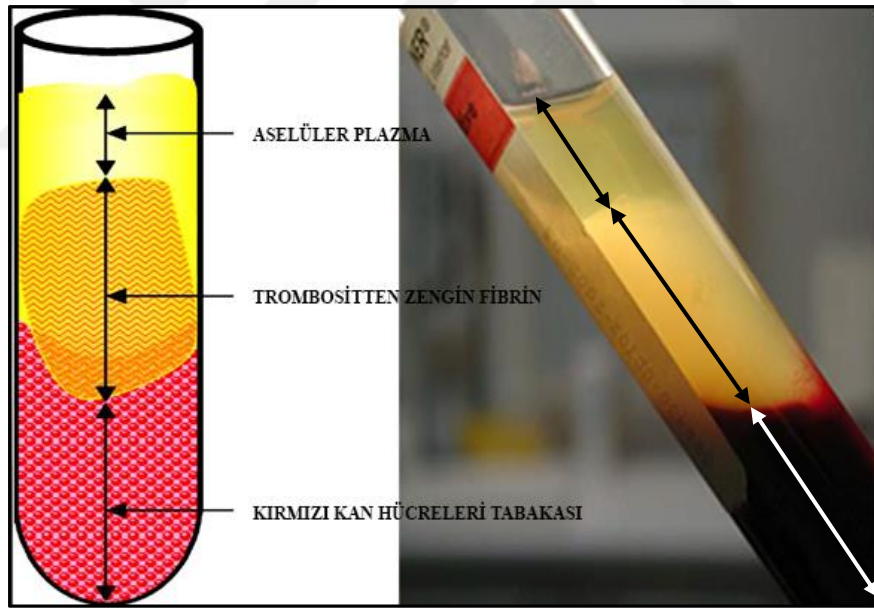
Şekil 2. TZP hazırlanışının şematik gösterimi (96).

2.4.2. Trombositten Zengin Fibrin

2000'li yılların başında yara iyileşmesi üzerinde olumsuz etkileri olduğu bilinen antikoagülanlar kullanılmadan yeni bir trombosit konsantresinin geliştirilmesi hedefiyle Choukroun ve arkadaşları tarafından şimdilerde ikinci nesil trombosit konsantresi olarak bilinen trombositten zengin fibrin (TZF) geliştirildi (7). TZF, antikoagülan ya da trombin

gerektirmeksizin kanın santrifüjlenmesi ile elde edilir. TZP'nin elde edilme aşamalarına kıyasla TZF'nin hazırlanması daha basit ve güvenli kabul edilmektedir (102).

TZF hazırlamak için hastadan alınan venöz kan antikoagülan içermeyen boş cam tüplerde 2700 rpm'de 12 dakika boyunca santrifüj edilir (102). Santrifüj işlemi sonucunda 3 tabakalı bir yapı oluşur (Şekil 3). Tüpün alt kısmında kırmızı kan hücreleri çökerken üst kısımda aselüler plazma tabakası oluşur. Bu tabakaların ortasında trombositlerin ve lökositlerin çoğunun konsantre halde olduğu 3 boyutlu mimariye sahip güçlü bir fibrin tabaka oluşur (103, 104). Bu fibrin tabaka TZF ya da aynı zamanda lökosit ve trombosit zengin fibrin (L-TZF) olarak adlandırılır. TZF hazırlama protokolünün başarılı bir şekilde tamamlanması hastadan alınan kanın hızlıca santrifüj edilmesiyle doğrudan ilişkilidir. Elde edilen TZF jel şeklinde yada iki gazlı bez arasında hassas bir şekilde sıkıştırılarak elde edilen güçlü bir membran şeklinde oral (8), maksillofasiyal (14, 105), kulak burun boğaz (106) ve plastik cerrahi (107) alanlarında kullanılmaktadır.

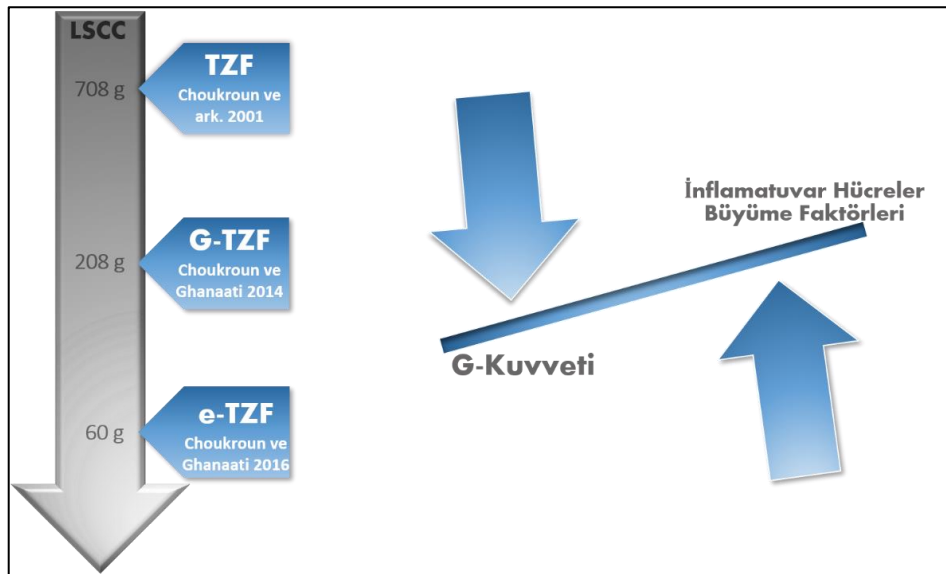


Şekil 3. TZF hazırlandıktan sonra tabakaların görünümü (102).

TZF, yara iyileşmesinde önemli etkileri olan çeşitli büyüme faktörlerine sahiptir ve bu sayede hücre proliferasyonunu ve doku rejenerasyonunu önemli miktarda arttırmaktadır. TZF'nin içerisinde, PDGF, VEGF, IGF, EGF ve TGF- β gibi rejenerasyonun sağlanması için çok önemli olan büyüme faktörleri yoğun olarak bulunmaktadır (108). Bu büyüme faktörleri yara iyileşmesinin erken döneminde inflamatuvar yanıtı düzenlerler, anjiyogenezi uyarırlar,

hücre farklılaşmasına yardımcı olurlar, osteogenezi stimule ederler, kollajen sentezini ve remodelasyonu artırırlar. TZF, içerisindeki büyüme faktörleri sayesinde yara iyileşmesini hızlandırdığı gibi, trombosit, lökosit, monosit ve granulosit hücreleri sayesinde konağın bağışıklık yanıtını da destekler. TZP'ye kıyasla TZF'nin içeriğinde daha yüksek oranda bulunan trombosit ve lökosit hücreleri, antienfeksiyöz etkinlik ile birlikte interlökin ve tümör nekroz faktör gibi immün sitokinlerin salımını sağlayarak konak savunmasını arttırmaktadır (109). Bu nedenle yapılan cerrahi işlemlerde TZF kullanımı, patojen mikroorganizmalara karşı gelişmiş bir savunma oluşturmakta ve bu durum daha düşük enfeksiyon oranlarının elde edilebilmesini sağlamaktadır (110–112).

Choukroun ve arkadaşları tarafından hazırlanan klasik TZF protokolünde yüksek göreceli santrifüj kuvveti (708 g) (Relative centrifugation force, RCF) uygulanmaktadır (7). Uygulanan RCF'nin azaltılmasıyla gelişmiş trombositten zengin fibrin (g-TZF; 208 g kuvveti) (11) ve enjekte edilebilir trombositten zengin fibrin (e-TZF; 60 g kuvveti) (113) olarak tanımlanan yeni iki tip TZF elde edilmiştir. Prensip olarak santrifüj kuvvetinin azaltılması, kandaki hücrelerin tüpün aşağı kısmına çökmesini azaltıp üst kısımda toplanan hücre sayısını artırarak TZF matriksi içerisinde hapsedilen lökosit sayısının da artmasını sağlamaktadır. Bu prensip düşük hızda santrifüj konsepti (low-speed centrifugation concept) olarak adlandırılmaktadır (113) (Şekil 4). Çeşitli in vitro araştırmalarda uygulanan göreceli santrifüj kuvvetinin azaltılması sayesinde trombosit konsantrelerindeki hücresel içeriğin ve trombositlerden salınan büyüme faktörü miktarının artış gösterdiği bildirilmiştir (12).



Şekil 4. Düşük hızda santrifüj konseptinin farklı TZF ürünlerinin elde edilmesine katkısı (12).

2.4.2.1. Geliştirilmiş Trombositten Zengin Fibrin (g-TZF)

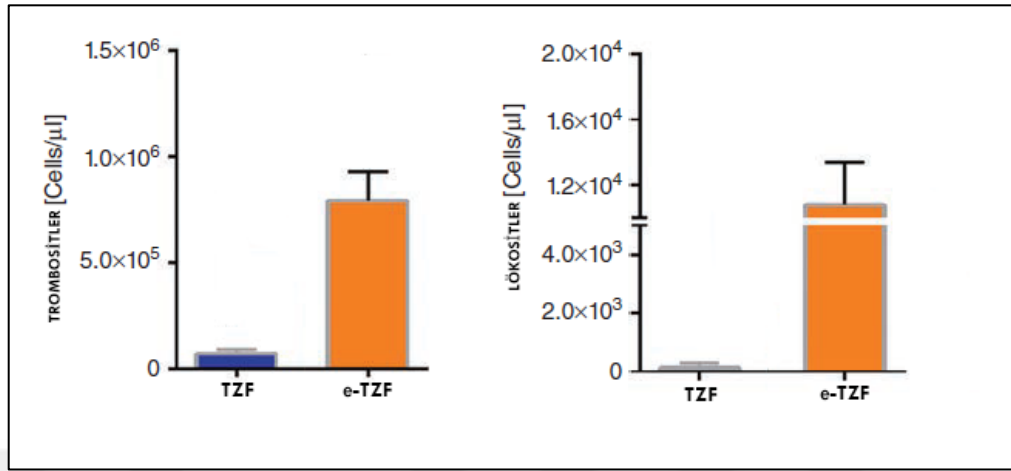
Geliştirilmiş trombositten zengin fibrin (g-TZF), Choukroun tarafından hazırlanan TZF protokolündeki göreceli santrifüj kuvvetinin 208g'ye düşürülmesi sonucu elde edilmektedir. g-TZF, kanın cam tüplerde 1500 rpm'de 14 dk santrifüj edilmesi ile hazırlanmaktadır. Hazırlık protokolünde yapılan değişiklikler sayesinde g-TZF'de, trombosit ile lökosit hücre sayısında ve büyüme faktörlerinin salımında bir artış olduğu gözlenmektedir. TZF'den daha geniş ve daha gözenekli bir fibrin yapıya sahip olan g-TZF, cerrahi bölgede hücrel penetrasyonu önemli ölçüde kolaylaştırmaktadır (11). Ancak yapısı gereği membran formunda olduğu için kemik greftleri ile kombine kullanımında homojen bir yapı oluşturulamamakta ve klinik olarak uygulanması sırasında zorluklar yaşanmaktadır.

2.4.2.2. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (e-TZF)

Yapılan çalışmalarda, TZF'nin yara iyileşmesinde ve rejeneratif işlemlerde TZP'ye kıyasla daha etkili olduğu gösterilmiştir (114). Bu daha üstün özelliklere sahip TZF'nin klinik işlemlerde enjekte edilerek kullanılabilmesi için sıvı formda bir TZF'nin geliştirilmesi fikri doğmuştur. Ayrıca yapılan çalışmalarda santrifüj kuvvetinin düşürülmesi ile TZF içerisinde daha fazla hücre ve büyüme faktörü toplanarak rejeneratif kapasitesinin de arttırılabileceği düşünülmüştür. Bu amaçla santrifüj kuvvetinin azaltılması, santrifüj süresinin kısaltılması ve antikoagülan içermeyen plastik tüplerin kullanılması ile enjekte edilebilir bir TZF (e-TZF) elde edilmiştir (12). Sıvı formdaki TZF'nin elde edilmesi, enjekte edilerek kullanımının yanında kemik greftleri ile birlikte karıştırılarak homojen bir yapı halinde kullanılabilmesini de kolaylaştırmıştır.

e-TZF hazırlama protokolünde, herhangi bir katkı maddesi içermeyen plastik tüpteki kanın 700 rpm'de 3 dakika (60g) boyunca santrifüj edilmesinden sonra tüpün üst kısmında sarı turuncu bir sıvı halinde olan e-TZF ve alt kısımda kırmızı bir yapı halinde olan kırmızı kan hücreleri oluşur. Materyalin homojenizasyonunu engellemek için tüp dikkatli bir şekilde açılır ve en üstte yer alan e-TZF kısmı 20 ml'lik enjektör (18G iğneli) yardımıyla çekilir (11). Santrifüj işleminden sonra 10-15 dakikaya kadar sıvı formunu korumaya devam eden e-TZF daha sonra katı fibrin haline gelmektedir (12). Santrifüj kuvvetinin azalması, dikkat çekici bir şekilde, e-TZF içeriğinin trombosit ve lökosit açısından daha da zenginleşmesini sağlamaktadır. Akış sitometrisi ile yapılan analizler, e-TZF'nin tüm katı TZF bazlı matriksler arasında en yüksek trombosit ve lökosit sayısına sahip olduğunu göstermektedir (Şekil 5). Dahası, e-TZF ve diğer sıvı kan konsantrelerindeki toplam hücre sayısının

karşılaştırmalı analizlerinde e-TZF’de anlamlı ölçüde daha yüksek sayıda trombosit, lökosit, monosit ve granulosit olduğu gösterilmiştir (113).



Şekil 5. Trombosit ve lökosit hücre sayıları açısından TZF ve e-TZF’nin karşılaştırmalı grafiği (12).

e-TZF yapısı gereği kemik greft materyalleri ile kombine kullanıldığında greft partiküllerinin blok greft benzeri homojen bir yapı haline gelmesini sağlar. Bu homojen yapı “sticky bone” olarak adlandırılır. Kemik grefti ile bir bütün haline gelen e-TZF, hücre içeriği sayesinde greft materyalinin uygulandığı bölgedeki rejeneratif kapasitesini artırır. Bununla birlikte greft partiküllerinin dağılmasını da önleyerek bölgeden uzaklaşmasını engeller (115).

Alveoler kretlerdeki atrofinin önlenmesi, yara iyileşmesinin desteklenmesi, diş çekimi sonrası soketin korunması ve maksiller sinüs tabanının yükseltilmesi işlemlerinde kemikte rejenerasyon sürecini hızlandırmak ve rejenerasyonu arttırmak için kemik greft materyalleri ile birlikte e-TZF’nin kombine kullanımı oldukça yaygınlaşmıştır (116, 117). Ayrıca, TZF bazlı materyallerin sıklıkla kullanıldığı periodontal yumuşak doku rejenerasyonu işlemlerinde e-TZF de kullanılmaya başlanmıştır. Bu anlamda kronik periodontitis tedavisinde (118) ve dişeti çekilmelerinin rejenerasyonunda (119) TZF bazlı materyallerin klinik kullanımı oldukça artış göstermiştir.

e-TZF’nin sıvı formda olması sayesinde klinik kullanımı ortopedik cerrahide (120), artritlik eklem tedavilerinde(121) ve spor hekimliğinde yeni bir bakış açısı sağlamış ve uygulama alanları genişlemiştir. Temporomandibular eklem (TME) disfonksiyonuna bağlı kronik ağrı görülen hastalarda, e-TZF’nin TME içerisine enjeksiyonu ile ağrının azaldığı bildirilmiştir (109). Ayrıca e-TZF, estetik tıp alanında otolog materyal olarak cilt

gençleştirme amacıyla, yabancı materyallere bağlı gelişebilen kontaminasyonun önlenmesi ve enfeksiyon riskinin azaltılması amacıyla da kullanılmaktadır (12).

2.5. Oral Florada Bulunan Mikroorganizmalar

Oral flora, 300'den fazla farklı mikroorganizma türünün bulunduğu kompleks bir ekosistemdir. Ağız boşluğunda, farklı mikroorganizma topluluklarının kolonize olabileceği dişler, ağız mukozası, dil ve dişeti sıvısı gibi farklı ortamlar mevcuttur (122).

Oral flora mikroorganizmaların ilk yerleşimi doğumla birlikte başlamaktadır. Yapılan çalışmalarda *Streptococcus salivarius*'un oral flora ilk yerleşen bakteri türü olduğu bildirilmiştir (123). Dişler sürmeden önce genellikle Stafilokoklar, *Neisseria sp.*, *Corynebacterium sp.*, nadiren *Lactobacillus sp.* bulunurken, dişler sürdükten sonra anaerob spiroketler, *Bacteroides sp.*, Fusiform basiller, *Lactobacillus sp.*, *Candida sp.* ve *Actinomyces sp.* daha yoğun halde bulunurlar. Dişlerin çıkmasından sonra yerleşen mikroorganizmalar, kalıcı oral florayı meydana getirirler (124).

Çocukluk dönemindeki flora, yeni mikroorganizma türlerinin gelmesiyle birlikte erişkinlik döneminde değişir. Bu dönemde oral flora, gram pozitif mikroorganizma olarak; *Staphylococcus sp.*, *Enterococcus sp.*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Peptostreptococcus sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Nocardia sp.*, gram negatif mikroorganizma olarak; *Neisseria sp.*, *Veillonella sp.* *Bacterioides sp.* gibi bakteri türleri bulunur (125).

Erişkinlik döneminde diş, diş plağı, diş eti ve dil yüzeyinde yerleşik halde bulunan bakteriler kalıcı florayı oluştururlar. Normalde kalıcı flora ile vücut arasında bir denge bulunurken bu dengenin bozulması durumunda kalıcı flora bulunan bazı mikroorganizmalar bölgeye kolonize olup hastalık oluşturabilirler. Ağız içindeki normal flora bulunan bakteriler, enfeksiyon ve hastalığa neden olabilecek patojeniteye sahiptirler. Bu bakteriler çürük, dişeti iltihabı, perikoronit ve periodontal hastalıklar gibi ağız içerisinde gözlenen çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Oral flora patojeniteye sahip türler, *Streptococcus sp.*, *Peptostreptococcus sp.*, *Bacteroides sp.*, *Camphylobacter sp.*, *Actinomyces sp.*, *Eubacterium sp.*, *Lactobacillus sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Veillonella sp.*, *Enterobacter sp.*, *Bifidobacterium sp.* 'dur. (125).

Enterokoklar, insanlarda gastrointestinal sistemde, oral kavitede ve genital bölgede kommensal bir mikroorganizma olarak bulunan gram pozitif koklardır (126). İnsanlarda idrar yolunu, kan dolaşımını, endokardiyumu, safra yollarını, yanık yaralarını ve kalıcı yabancı cihazları (stent, kalp pili gibi) enfekte ederek çeşitli hastalıklara neden olabilirler. Enterokoklar nozokomiyal enfeksiyona neden olan bakteriyel patojenler arasında ilk üçte yer almaktadır (127).

Son yıllarda enterokokların neden olduğu enfeksiyonlar oldukça artmış olup, insanlarda enterokok enfeksiyonlarının yaklaşık %90'ı *E.faecalis* 'ten kaynaklanmaktadır (128). *E.faecalis*, hareketsiz, planktonik formda, çiftler ve zincirler halinde görünür (129).

E.faecalis'in oral floradan izole edilmesi, bu mikroorganizmaya bağlı gelişen enfeksiyonlar için ağız boşluğunun bir kaynak olup olamayacağı sorularını da beraberinde getirmiştir. Dahası, ağız sağlığının doğrudan veya dolaylı olarak *E.faecalis*'in kolonizasyonunu etkileyebileceği düşünülmüştür. Yapılan çalışmalarda çürük aktivitesi yüksek olan okul çağı çocuklarının %60'ının ve endodontik enfeksiyonu bulunan hastaların %75'inin ağız boşluğunun çeşitli yerlerinden alınan örneklerinde enterokoklar tespit edilmiştir (130).

E.faecalis sıklıkla kanal tedavisi görmüş dişlerin kanallarında ve kök çevresinde bulunmaktadır. Endodontik tedavinin başarısız olduğu dişlerde en yaygın bulunan inatçı mikroorganizmadır (131, 132). *E.faecalis* kanal tedavisi başarısız olmuş dişlerin çekimi sonrasında trabeküler kemikte canlılığını sürdürebilmektedir. Bu nedenle bu bölgelere uygulanan implant tedavilerinde gözlenen başarısızlıkların başlıca sorumlusunun *E.faecalis* olabileceği düşünülmektedir (133, 134). Hayatta kalmasını sağlayan virulans faktörlere sahip olan *E.faecalis*, çeşitli antibiyotiklere karşı duyarlıdır. Çoğu *E.faecalis* suşu amoksisiline duyarlı olmasına rağmen bazı türleri rifampisin, eritromisin, ve azitromisine karşı direnç gösterebilmektedir (135).

Bakteri türleri ile birlikte fırsatçı patojen olarak *Candida* türleri de oral florada enfeksiyon ve hastalıklara neden olabilmektedir. *Candida* cinsi maya mantarları, insanlarda deri, gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem ve solunum sistemi mukozalarının normal florasında bulunmaktadır. Ek olarak toprak ve besinlerde de *candida* türlerine rastlanmaktadır. *Candida* türleri arasında invaziv olmayan, mukoza ve deri lezyonlarına en sık neden olan *C.albicans* 'tır (136, 137).

C.albicans, insan mukozal yüzeyleri ve biyomateryal yüzeylerinde kolonize olabilen fırsatçı patojen bir mantar türüdür (138, 139). *C.albicans*'ın virülans faktörleri arasında; farklı substratlara yapışması, hif üretmesi, hidrolitik enzimlere sahip olması, dokuları istila etmesi ve inflamatuvar yanıtı aktive etmesi gösterilmektedir (140, 141).

C.albicans enfeksiyonlarında süreci başlatan kritik adım, *C.albicans*'ın konak epitel hücrelerine adezyonudur. İlk iki saat içerisinde yüzeye yapışan *Candida*, 1-11 saat içerisinde biyofilm gelişiminin ilk aşamasını tamamlar (142). Biyofilm içindeki *Candida*'nın antifungal ilaçlara karşı direnç gösterdiği ilk olarak Hawser ve Douglas tarafından gösterilmiş ve biyofilm gelişimi boyunca antifungal ilaç direncinin arttığı bildirilmiştir (143).

C.albicans sağlıklı bireylerde ağız boşluğunda %45-65 oranında bulunan kommensal bir mantardır. *C.albicans*'ın protezlerin akrilik yüzeylerine karşı afinitesi bulunmaktadır (144). Parsiyel protez kullanan hastalarda ağız boşluğunda *C.albicans* görülme sıklığı %60-100'e yükselmektedir. Bu hastalarda, protezlerin altında kalan dokuda oksijen miktarı ve tükürük akışı azalarak mantarların büyümesi için ideal anaerobik mikro çevre oluştuğu zaman kandida enfeksiyonları görülebilmektedir (145, 146). Parsiyel protez kullanan hastaların ağız boşluğunda bulunan *Candida* türlerinin, sürekli yutulması ve aspirasyonu nedeniyle bağışıklığı baskılanmış yaşlı hastalarda beklenmedik enfeksiyonlara yol açabilmektedir (147).

Candida türü mantarların yalnızca oral kandidal lezyonlarla değil aynı zamanda periodontitis ve periimplantitis ile de ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Petrovic ve ark. yaptıkları çalışmada, kronik periodontitis hastalarının subgingival plak örneklerinde *Candida* kolonizasyonu tespit etmişlerdir (148). Başka bir çalışmada da, sağlıklı implantların subgingival plak örneklerine kıyasla periimplantitis görülen implantların plak örneklerinden daha yüksek miktarlarda *C.albicans* izole edilmiştir (149).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Karadeniz Teknik Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı ve Tıp Fakültesi Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'nda ortak yürütülen çalışmamıza etik kurul onayı (2020/21) alınarak başlandı. İn vitro olarak gerçekleştirilen çalışmamızda hastalardan alınan kanlardan elde edilen e-TZF ile önceden hazırlanan mikroorganizma süspansiyonları karıştırılarak belirli zamanlarda ilgili besi yerlerine ekilip inkübasyondan sonra oluşan koloni sayıları değerlendirildi.

3.1. Hasta Seçimi

Ağustos ve Kasım 2020 tarihleri arasında polikliniğimize başvuran sistemik olarak sağlıklı olduğunu beyan eden hastalar gönüllü onam formu eşliğinde çalışmaya dahil edildi. Sistemik bir hastalığa sahip olan, son 3 ay içerisinde antibiyotik kullanan, sigara içen, antikoagülan ilaç kullanan, gebelik ve laktasyon döneminde bulunan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

3.2. Besiyerlerinin Hazırlanışı

3.2.1. Kanlı Agarın (KA) Hazırlanışı

Blood agar base (Neogen, Lansing, ABD) : 37 gr

Distile su : 1000 ml

Besi yeri içeriği distile suda çözüldü, otoklavda 121 °C'de 15 dk süreyle sterilize edildi, 50 °C'ye kadar soğutuldu. Üzerine steril %5 koyun kanı (Kalibre, Sivas, Türkiye) eklendi. Steril petri kutularına ortalama 20 ml (4 mm kalınlığında) olacak şekilde döküldü (Resim 1).

3.2.2. Saboraoud Dextrose Agarın (SDA) Hazırlanışı

SDA (Neogen, Lansing, ABD) : 62 gr

Distile su : 1000 ml

Besi yeri içeriği distile suda çözüldü, otoklavda 121 °C'de 15 dk süreyle sterilize edildi, 50 °C'ye kadar soğutuldu. Steril petri kutularına ortalama 20 ml (4 mm kalınlığında) olacak şekilde döküldü (Resim 1).



Resim 1. Besi yerlerinin hazırlanışında kullanılan otoklav ve besi yeri tozları

3.3. Mikroorganizma Süspansiyonlarının Hazırlanması

Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı stoklarında bulunan bir standart bakteri suşu olan *E. feacalis* ATCC 29212 %5 koyun kanı ilaveli KA'da atmosferik koşullarda bir gece 37°C'de inkübe edildi. Ertesi gün, üreyen kolonilerden steril öze ile alınan bakteri, fosfat-tamponlu tuzlu su (Phosphate Buffered Saline, PBS, (pH 7.2) Oxoid, Birleşik Krallık) içinde McFarland'ın 0.5 no'lu tüpünün bulanıklığına eşdeğer bulanıklıkta olacak şekilde süspanse edildi (yaklaşık 1.5×10^8 bakteri/ml). Üç adet steril 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine 900'er µl PBS eklendi. Bakteri süspansiyonundan 100 µl alınarak bu tüplerden ilkinde eklendi ve vortekslelendikten (ISOLAB Laborgeräte GmbH, Eschau, Almanya) sonra buradan 100 µl bir sonraki tüpe aktarıldı. İşleme aynı şekilde devam edildiğinde son tüpte bakteri konsantrasyonu yaklaşık 1.5×10^5 bakteri/ml olan bakteri çalışma süspansiyonu elde edildi. Bu süspansiyondan 50 µl steril 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine alikotlanarak -20°C'de stoklandı.

Aynı şekilde Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı stoklarında bulunan bir standart maya suşu olan *C. albicans* ATCC 60193 SDA'da atmosferik koşullarda 35°C'de inkübe edildi. Üreyen kolonilerden steril öze ile alınan maya, fosfat-tamponlu tuzlu su (Phosphate Buffered Saline, PBS, (pH 7.2) Oxoid, Birleşik Krallık) içinde McFarland'ın 0.5 no'lu tüpünün bulanıklığına eşdeğer bulanıklıkta olacak şekilde süspanse edildi (yaklaşık 1×10^6 maya/ml). Bir adet steril 1,5 ml'lik santrifüj tüpüne 900 µl PBS eklendi. Maya

süspansiyonundan 100 µl alınarak bu tüpe eklendikten sonra vortekslemek (ISOLAB Laborgeräte GmbH, Eschau, Almanya) suretiyle konsantrasyonu yaklaşık 1×10^5 maya/ml olan maya çalışma süspansiyonu elde edildi. Bu süspansiyondan 50 µl, steril 1,5 ml'lik santrifüj tüplerine alikotlanarak -20°C'de stoklandı.

3.4. e-TZF ve Kan Örneklerinin hazırlanması ve Antimikrobiyal Etkinliklerinin Araştırılması

Çalışmaya dahil olan her hastadan 10ml'lik katkı maddesi içermeyen plastik tüplerde (Becton Dickinson, BD, New Jersey, ABD) (Resim 2a) toplam 20 ml (iki tüp) kan örneği alındı. Daha sonra bu tüpler oda sıcaklığında santrifüj cihazında (PR-Fix, İstanbul, Türkiye) 700 rpm'de 3 dk (60 g kuvvet altında) santrifüj edildi. Santrifüj işleminin ardından tüpün alt kısmında kırmızı kan hücreleri, üst kısmında ise turuncu renkte sıvı haldeki e-TZF oluştu. Tüp dikkatli bir şekilde açıldıktan sonra üstte yer alan e-TZF 20 ml'lik steril enjektör (18G iğneli) yardımıyla çekilerek her hastadan ortalama 2 ml e-TZF elde edildi. Buna ek olarak hastalardan kontrol grubunu oluşturması amacıyla lityum heparin kaplı plastik tüpler (Becton Dickinson, BD, New Jersey, ABD) (Resim 2b) kullanılarak 2 ml tam kan örneği alındı. e-TZF ve tam kan örnekleri numaralandırılarak her bir steril endorf tüpünde 450 µl örnek olacak şekilde hazırlandı.

Çalışma bağlamında önceden hazırlanan ve -80°C buzdolabında (Ilshin Lab Co., Ltd., Seoul, Kore) saklanan 1.5×10^5 koloni oluşturan birim (kob)/ml *E.faecalis* içeren süspansiyondan 50 µl otomatik pipet ile çekilip 450 µl e-TZF örneğine eklenerek 1.5×10^4 kob/ml *E.faecalis* bakterisi içeren Test 1 grubu örnekleri hazırlandı. Aynı şekilde -80°C buzdolabında saklanan 1×10^5 kob/ml *C.albicans* içeren süspansiyondan 50 µl otomatik pipet ile çekilip 450 µl e-TZF örneğine eklenerek 1×10^4 kob/ml *C.albicans* mayası içeren Test 2 grubu örnekleri hazırlandı. Test grubu örneklerinin hazırlanışında olduğu gibi e-TZF yerine tam kan kullanılarak, 50 µl *E.faecalis* bakterisi ve 50 µl *C.albicans* mayası ilgili süspansiyonlardan otomatik pipetler ile çekilip her birinde 450 µl tam kan bulunan endorf tüplerine ayrı ayrı eklenerek 1.5×10^4 kob/ml bakteri içeren Kontrol 1 grubu ve 1×10^4 kob/ml maya içeren Kontrol 2 grubu örnekleri hazırlandı (Tablo 1) (Resim 3).

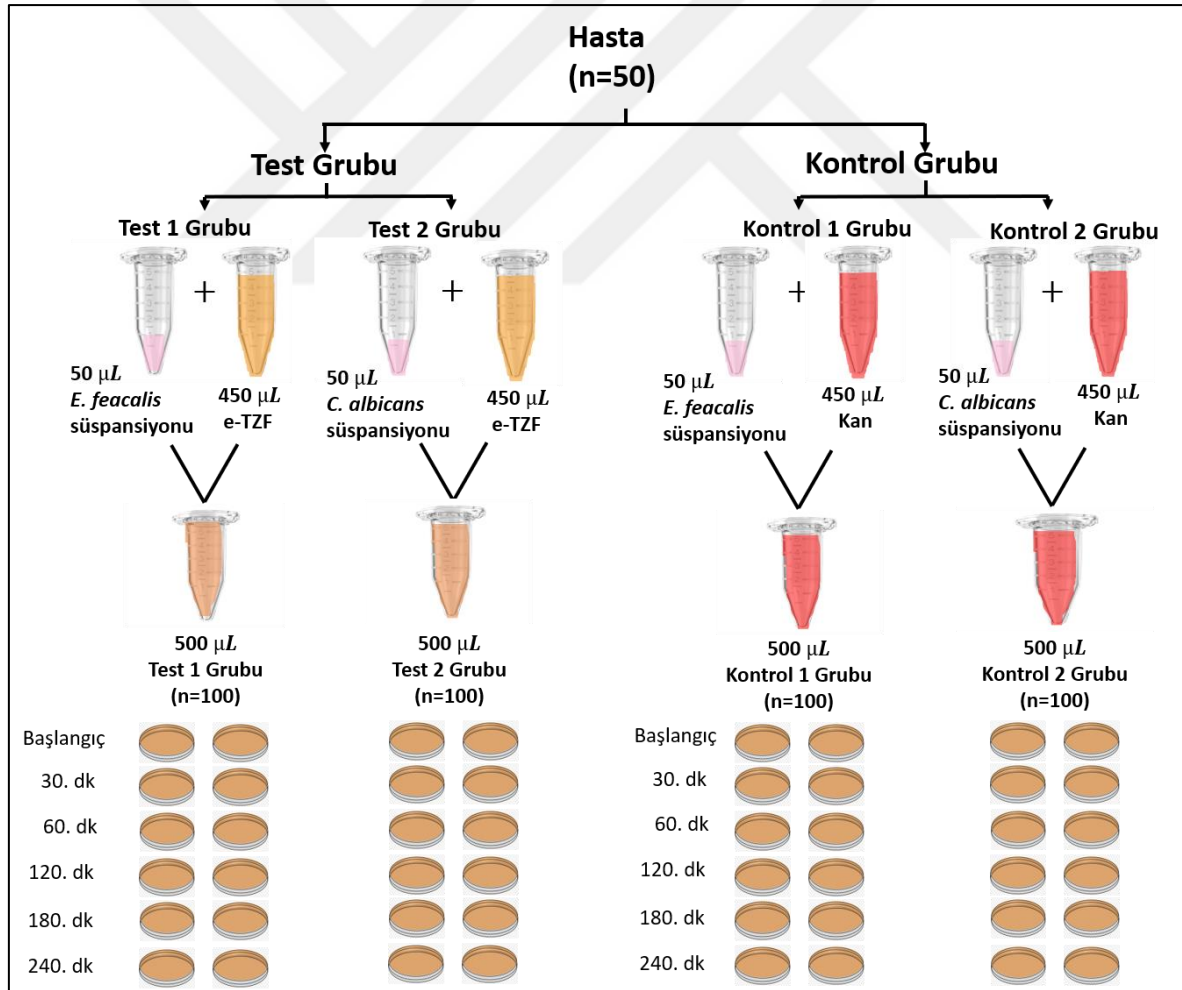
Hazırlanan e-TZF örneklerinin antimikrobiyal etkileri Tanrıverdi ve ark.'nın (150) yaptıklarına benzer şekilde zamana karşı mikroorganizma sayısının ölçüldüğü yöntemle araştırıldı. Test ve kontrol grupları için hazırlanan örneklerden başlangıç, 30., 60., 120., 180. ve 240. dakikalarda 10 µl hacimli otomatik pipetler ve plastik özeler kullanılarak dublike

ekimler yapıldı. *E.faecalis* içeren Test 1 grubu ve Kontrol 1 grubu örnekleri KA besi yerlerine ekildi ve 37°C’de 18-24 saat inkübe edildi. *C.albicans* içeren Test 2 grubu ve Kontrol 2 grubu örnekleri SDA besi yerlerine ekildi ve 35°C’de 18-24 saat inkübe edildi.

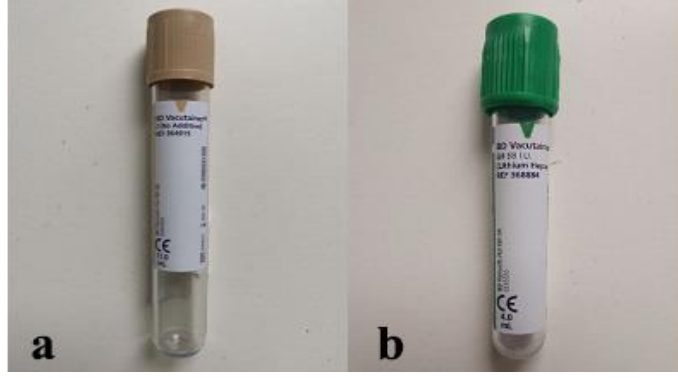
Ekimi yapılan besi yerlerinin inkübasyonu tamamlandıktan sonra çıkarılarak ışık altında büyüteç kullanılarak oluşan koloniler sayıldı (Resim 4 ve Resim 5). Dublike ekimlerin aritmetik ortalaması alınarak istatistiksel değerlendirmeler yapıldı.

Tablo 1. Çalışma örneklerinin gruplandırılması

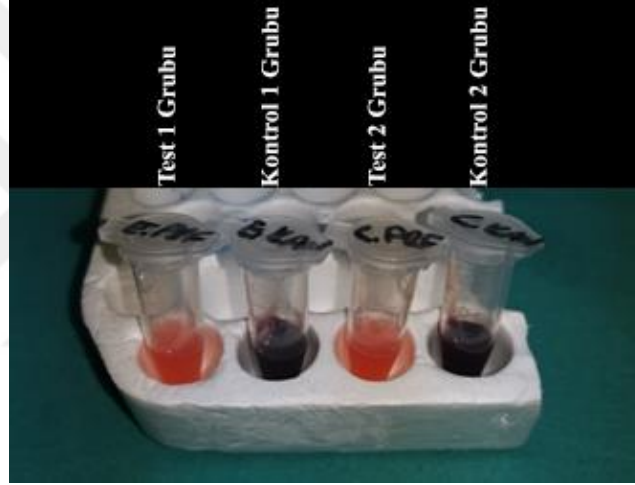
TEST 1 GRUBU	KONTROL 1 GRUBU	TEST 2 GRUBU	KONTROL 2 GRUBU
e-TZF/ <i>E.faecalis</i>	Kan/ <i>E.faecalis</i>	e-TZF/ <i>C.albicans</i>	Kan/ <i>C.albicans</i>



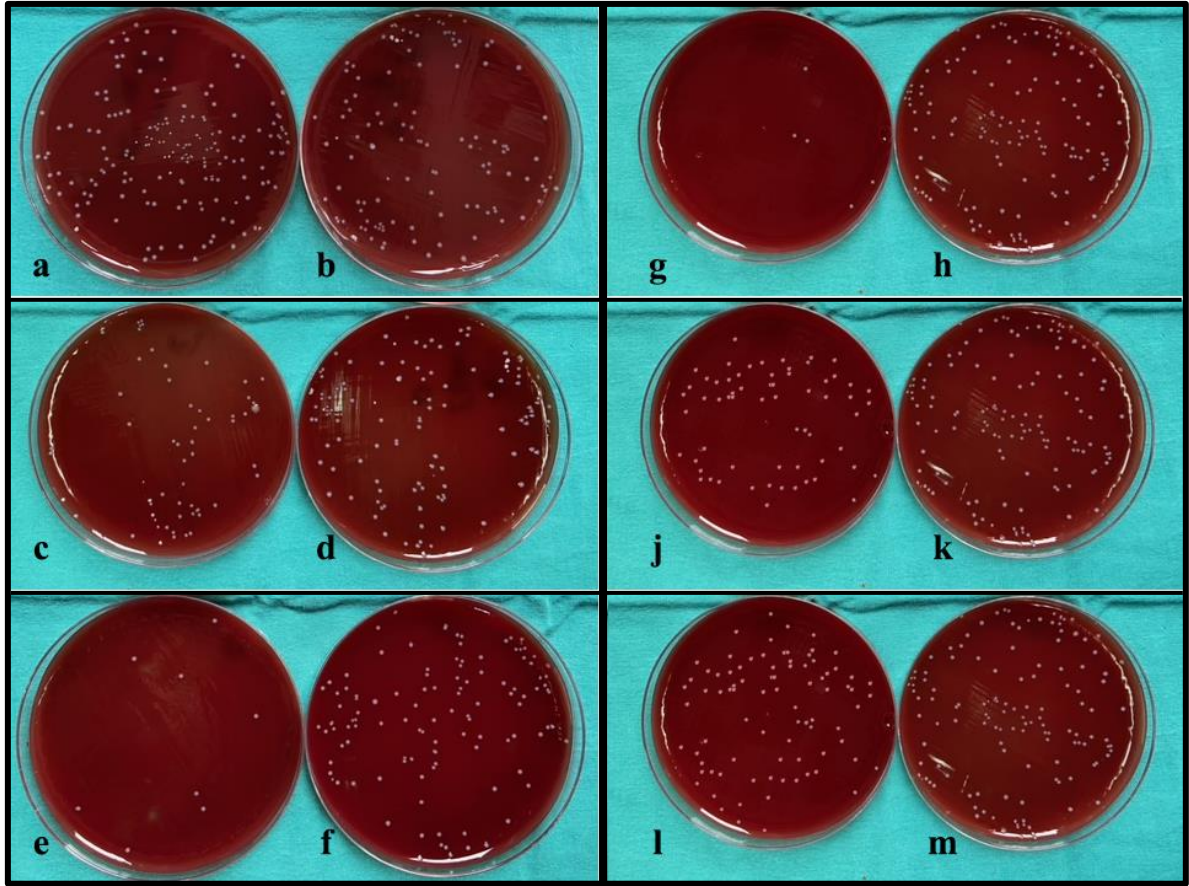
Şekil 6. e-TZF ve Kan örneklerinin hazırlanışının şematik gösterimi



Resim 2. Çalışmamızda kullanılan kan alma tüpleri **a)** e-TZF'nin hazırlanışında kullanılan kan alma tüpü. **b)** Kontrol grubu kan örneklerinin alınmasında kullanılan kan alma tüpü

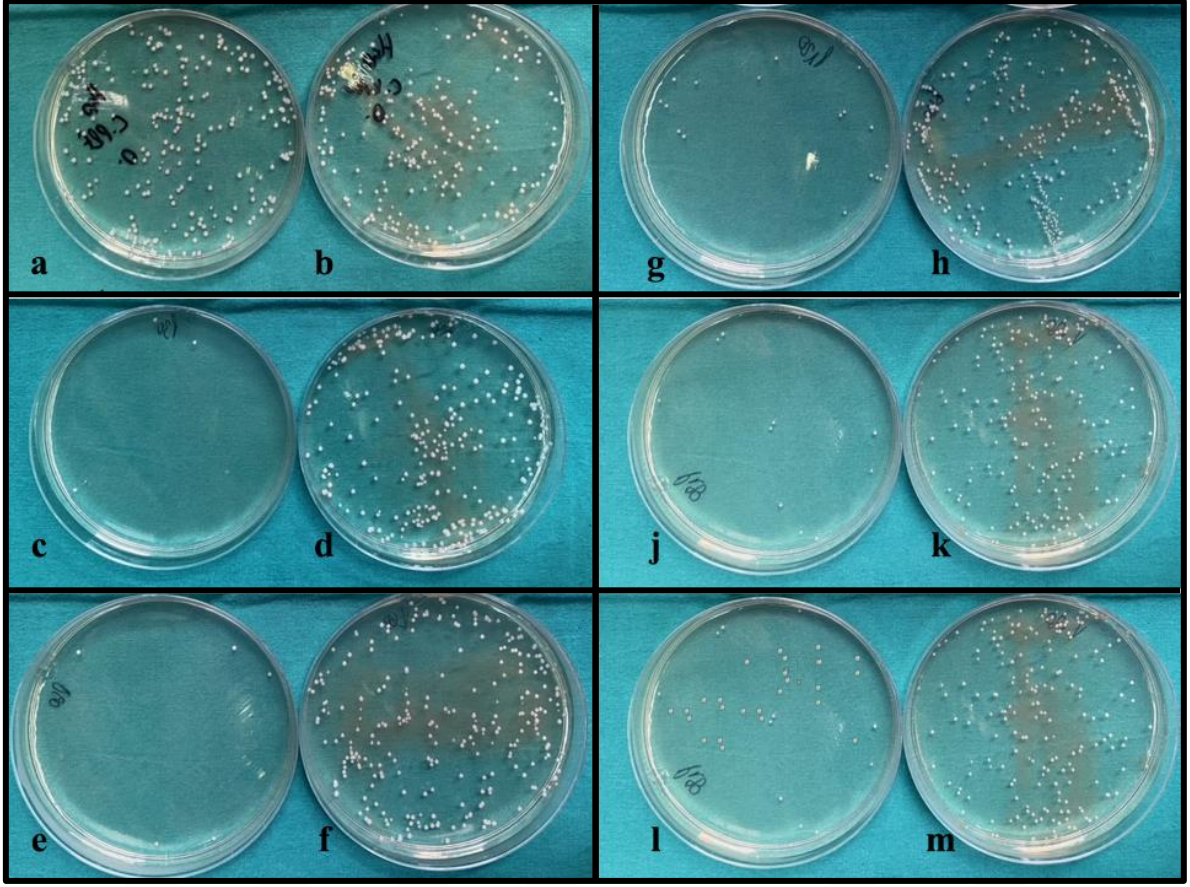


Resim 3. Çalışmada hazırlanan ependorf tüplerdeki Test ve Kontrol grubu örnekleri



Resim 4. *E.faecalis* örneklerinin inkübasyon sonrası görünümü

- a.** Başlangıç Test 1 grubu ekimlerinin görünümü **b.** Başlangıç Kontrol 1 grubu ekimlerinin görünümü
c. 30. dk Test 1 grubu ekimlerinin görünümü **d.** 30. dk Kontrol 1 grubu ekimlerinin görünümü
e. 60. dk Test 1 grubu ekimlerinin görünümü **f.** 60. dk Kontrol 1 grubu ekimlerinin görünümü
g. 120. dk Test 1 grubu ekimlerinin görünümü **h.** 120. dk Kontrol 1 grubu ekimlerinin görünümü
j. 180. dk Test 1 grubu ekimlerinin görünümü **k.** 180. dk Kontrol 1 grubu ekimlerinin görünümü
l. 240. dk Test 1 grubu ekimlerinin görünümü **m.** 240. dk Kontrol 1 grubu ekimlerinin görünümü



Resim 5. *C.albicans* örneklerinin inkübasyon sonrası görünümü

a. Başlangıç Test 2 grubu ekimlerinin görünümü **b.** Başlangıç Kontrol 2 grubu ekimlerinin görünümü
c. 30. dk Test 2 grubu ekimlerinin görünümü **d.** 30. dk Kontrol 2 grubu ekimlerinin görünümü
e. 60. dk Test 2 grubu ekimlerinin görünümü **f.** 60. dk Kontrol 2 grubu ekimlerinin görünümü
g. 120. dk Test 2 grubu ekimlerinin görünümü **h.** 120. dk Kontrol 2 grubu ekimlerinin görünümü
i. 180. dk Test 2 grubu ekimlerinin görünümü **k.** 180. dk Kontrol 2 grubu ekimlerinin görünümü
l. 240. dk Test 2 grubu ekimlerinin görünümü **m.** 240. dk Kontrol 2 grubu ekimlerinin görünümü.

3.5. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizde SPSS for Windows 17.0 (IBM, New York, ABD) kullanıldı. Tanımlayıcı istatistikler ortalama $\pm$ standart sapma ve frekans (%) değerleri olarak verildi. Normal dağılıma uygunluk analizi Kolmogorov Smirnov testi ile gerçekleştirildi. Gruplar arası karşılaştırmada Mann Whitney U testi ve Grup içi zamana bağlı değişimlerin analizleri için Friedman, Wilcoxon testleri ve Bonferroni düzeltmesi uygulandı. $p < 0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Demografik Bulgular

Çalışmamıza yaş ortalaması $31,72 \pm 8,75$ olan 24'ü kadın (%48), 26'sı erkek (%52) toplam 50 hasta dahil edilmiştir. Ekimler dublike yapıldığı için her bir çalışma grubunda tek bir ölçüm zamanında 100 örnek olacak şekilde toplamda 2400 örnek değerlendirilmiştir.

4.2. Koloni Sayılarının Zamana Bağlı Değişiminin Gruplar Arası Değerlendirilmesi

E.faecalis ile hazırlanan Test 1 ve Kontrol 1 grubu örneklerinin başlangıç, 30., 60., 120., 180. ve 240. dk'da yapılan ekimlerinden elde edilen koloni sayılarının ortalama değerleri Tablo 2, Şekil 7 ve Şekil 9'de verilmiştir.

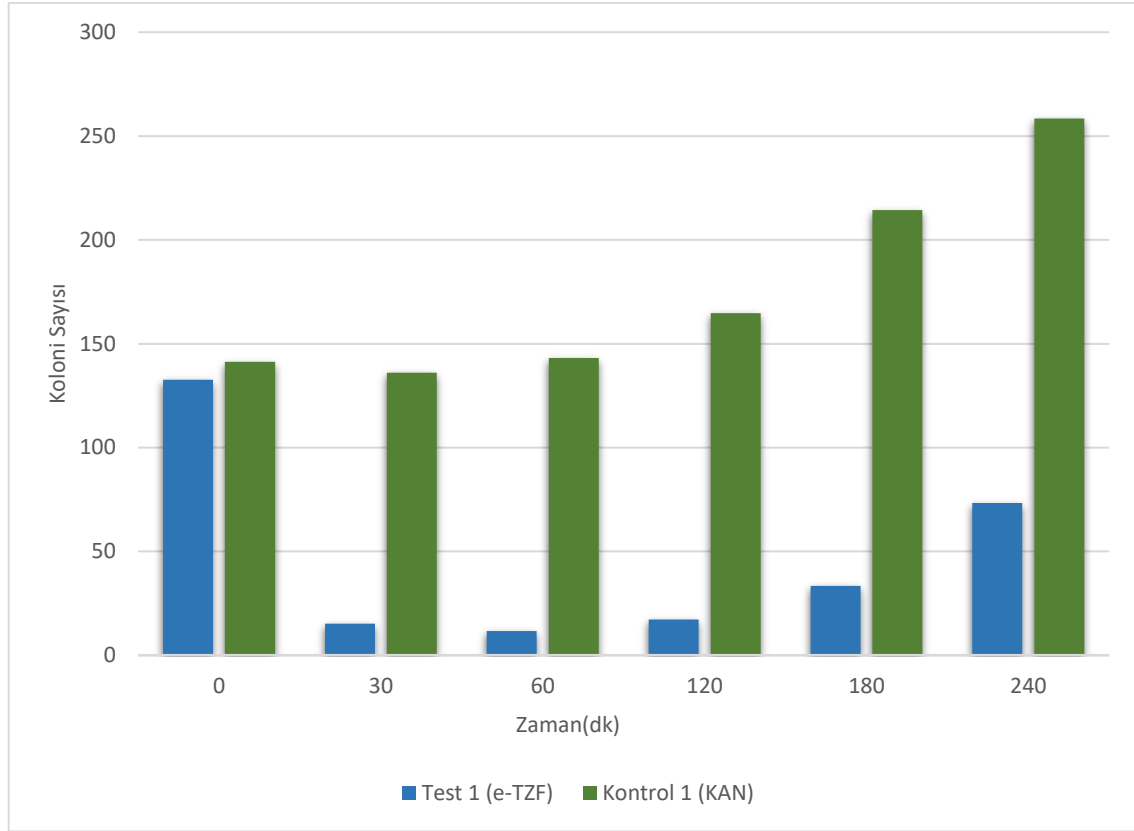
E.faecalis ile hazırlanan Test 1 ve Kontrol 1 örneklerinin koloni sayıları incelendiğinde başlangıç değerleri dışındaki tüm zamanlarda test grubundaki örneklerin koloni sayılarının kontrol grubundakilere kıyasla daha düşük olduğu saptandı. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Tablo 2. *E.faecalis* ile hazırlanan Test 1 ve Kontrol 1 grubu örneklerinin farklı zamanlardaki koloni sayılarının değerlendirilmesi

<i>E.faecalis</i>	TEST 1 GRUBU Koloni Sayıları (n=100) Ortalama $\pm$ SS	KONTROL 1 GRUBU Koloni Sayıları (n=100) Ortalama $\pm$ SS	P
Başlangıç	$132,7 \pm 29,28^A$	$141,25 \pm 25,03^a$	$p > 0.05$
30. dk	$15,20 \pm 13,92^{B,C}$	$136,03 \pm 28,62^a$	$p < 0.001$
60. dk	$11,65 \pm 10,56^B$	$143,10 \pm 33,96^a$	$p < 0.001$
120. dk	$17,20 \pm 12,78^C$	$164,65 \pm 43,13^b$	$p < 0.001$
180. dk	$33,32 \pm 23,38^D$	$214,43 \pm 45,72^c$	$p < 0.001$
240. dk	$73,26 \pm 42,91^E$	$258,380 \pm 39,76^d$	$p < 0.001$

* Aynı sütunda yer alan farklı üst karakterler arasında $p < 0.001$ seviyesinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir.

* $p < 0.001$ olan değerler gruplar arasında anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir.



Şekil 7. *E. faecalis* koloni sayılarının gruplar arası karşılaştırmalı grafiği.

C. albicans ile hazırlanan Test 2 ve Kontrol 2 grubu örneklerinin başlangıç, 30., 60., 120., 180. ve 240. dk'da yapılan ekimlerinden elde edilen koloni sayılarının ortalama değerleri Tablo 3, Şekil 8 ve Şekil 10'da verilmiştir.

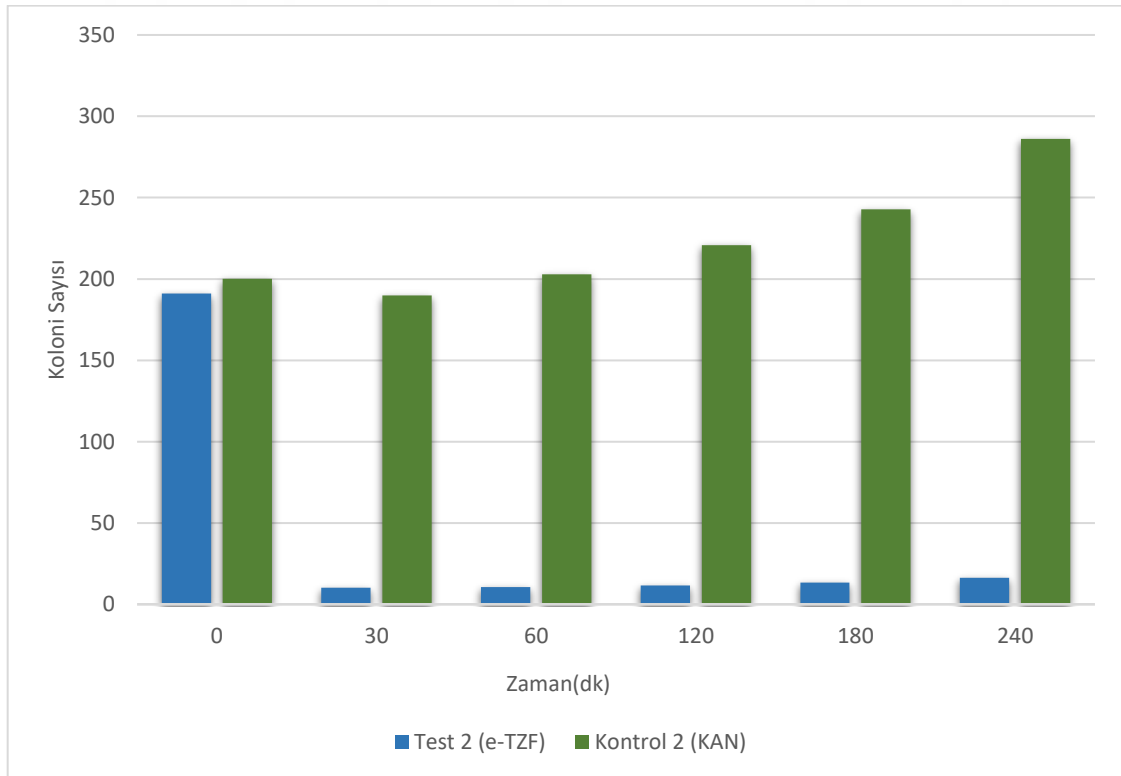
C. albicans ile hazırlanan Test 2 ve Kontrol 2 örneklerinin koloni sayıları incelendiğinde başlangıç değerleri dışındaki tüm zamanlarda test grubundaki örneklerin koloni sayılarının kontrol grubundakilere kıyasla daha düşük olduğu saptandı. Gruplar arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

Tablo 3. *C.albicans* ile hazırlanan Test 2 ve Kontrol 2 grubu örneklerinin farklı zamanlardaki koloni sayılarının değerlendirilmesi

<i>C.albicans</i>	TEST 2 GRUBU Koloni Sayıları (n=100) Ortalama $\pm$ SS	KONTROL 2 GRUBU Koloni Sayıları (n=100) Ortalama $\pm$ SS	P
Başlangıç	191,11 $\pm$ 34,52 ^A	200,09 $\pm$ 35,49 ^{a,b}	p>0.05
30. dk	10,28 $\pm$ 7,72 ^B	189,95 $\pm$ 32,98 ^a	p<0.001
60. dk	10,61 $\pm$ 6,58 ^B	202,81 $\pm$ 36,78 ^b	p<0.001
120. dk	11,62 $\pm$ 7,18 ^{B,C}	220,76 $\pm$ 37,87 ^c	p<0.001
180. dk	13,28 $\pm$ 8,28 ^C	242,73 $\pm$ 32,96 ^d	p<0.001
240. dk	16,36 $\pm$ 10,32 ^D	286,01 $\pm$ 28,59 ^e	p<0.001

* Aynı sütunda yer alan farklı üst karakterler arasında p<0.001 seviyesinde anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir.

* p<0.001 olan değerler gruplar arasında anlamlı derecede farklılık olduğunu göstermektedir.

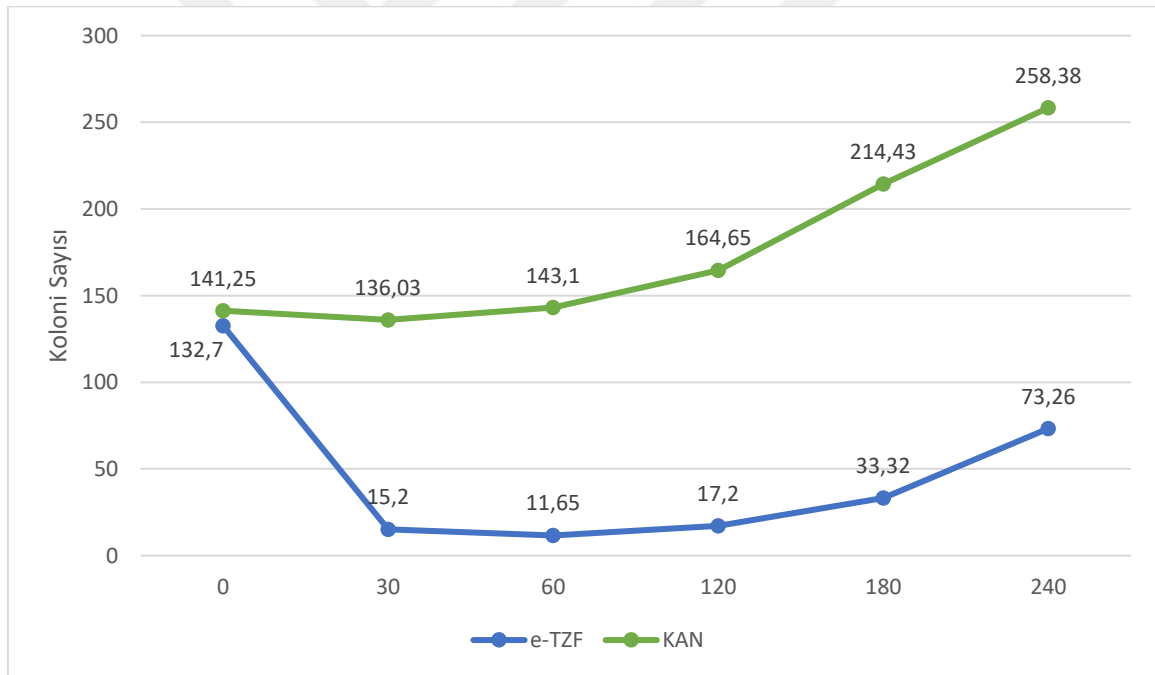


Şekil 8. *C.albicans* koloni sayılarının gruplar arası karşılaştırmalı grafiği.

4.3. Koloni Sayılarının Zamana Bağlı Değişiminin Grup İçi Değerlendirilmesi

E.faecalis ile hazırlanan Test 1 grubu örnekleri koloni sayılarının grup içi karşılaştırması incelendiğinde, başlangıç değerlerine kıyasla diğer zamanlardaki koloni sayılarının anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Şekil 9). Grup içerisindeki karşılaştırmada 60. dk'da koloni sayısının en düşük olduğu bulundu. 60. dk'dan sonra koloni sayısının zamana bağlı olarak arttığı gözlemlendi.

E.faecalis ile hazırlanan Kontrol 1 grubu örneklerinin koloni sayılarında başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında 30. dk'da istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş gözlemlense de, 30. dk'dan sonra koloni sayılarının zamana bağlı olarak arttığı saptandı. 120., 180. ve 240. dk'da saptanan koloni sayılarının başlangıç, 30. ve 60. dk'daki değerlere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.001$) (Şekil 9).



Şekil 9. *E.faecalis* ile hazırlanan Test 1 (e-TZF) ve Kontrol 1 (Kan) grubu örneklerinin koloni sayılarının zamana bağlı değişimi

C.albicans ile hazırlanan Test 2 grubu örnekleri koloni sayılarının grup içi karşılaştırması incelendiğinde, başlangıç değerlerine kıyasla diğer zamanlardaki koloni sayılarının anlamlı derecede daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0.001$) (Şekil 10). Grup içerisindeki karşılaştırmada 30. dk'da koloni sayısının en düşük olduğu bulundu. 30. dk'dan sonra koloni sayısının zamana bağlı olarak artış gösterdiği ancak bu artışın sadece 240. dk'da anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.001$).

C.albicans ile hazırlanan Kontrol 2 grubu örneklerinin koloni sayılarında başlangıç değerleriyle karşılaştırıldığında 30. dk'da istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir düşüş gözlemlense de, 30. dk'dan sonra koloni sayılarının zamana bağlı olarak arttığı saptandı. 120., 180. ve 240. dk'da saptanan koloni sayılarının başlangıç, 30. ve 60. dk'daki değerlere kıyasla anlamlı derecede daha yüksek olduğu gözlemlendi ($p<0.001$) (Şekil 10).



Şekil 10. *C.albicans* ile hazırlanan Test 2 (e-TZF) ve Kontrol 2 (Kan) grubu örneklerinin koloni sayılarının zamana bağlı değişimi

5. TARTIŞMA

Travma nedeniyle veya cerrahi işlem sonucunda doku devamlılığının bozulması ile vücutta meydana gelen hasarlar yara olarak tanımlanmaktadır (24). Meydana gelen yaranın iyileşmesi ağız içerisinde ve ağız dışındaki dokularda temelde benzer iyileşme mekanizmalarını takip ederek gerçekleşmektedir. İyileşme mekanizmalarında erken ve geç dönemde karşılaşılan komplikasyonlar günümüzde cerrahi işlemler sonrasında dokunun bütünlüğünün yeniden sağlanması açısından hekimler için zorlayıcı bir klinik problem olmaya devam etmektedir.

Yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonundaki gecikmelere en çok neden olan komplikasyonlardan biri enfeksiyondur (151). Cerrahi işlem uygulanan bölgede, oral patojenler nedeniyle veya uygulanan greft materyallerinin operasyon sırasında veya sonrasında kontamine olması nedeniyle enfeksiyon gelişmesi, dokunun iyileşmesini bozmakta ve istenilen başarının elde edilememesine neden olmaktadır. Son zamanlarda cerrahi işlem sonrası yara bölgesinde biyofilm oluşturan bakterilerin meydana getirdiği enfeksiyonların, yaranın kronikleşmesine neden olabileceği düşünülmektedir. Konağın bağışıklık sisteminin biyofilm matriksine karşı daha az etkili olması ve biyofilmlerin antibiyotiklere karşı toleransının yüksek olması cerrahi sonrası yara bölgesinde enfeksiyon riskinin artması ile sonuçlanmaktadır (152, 153).

Son yıllarda bakteriyel direncin artması ve tedavilerde buna bağlı oluşan başarısızlıkların yaygın olarak görülmesi halk sağlığı açısından küresel bir endişe haline gelmiştir (154). Bununla birlikte enfeksiyon oluşmasını önlemek ve oluşan enfeksiyonu tedavi etmek amacıyla antibiyotik kullanımının artması, antibiyotiklere karşı çoklu ilaç direnci gelişimini ciddi bir tehdit haline getirmiştir. Bu alanda yapılan güncel araştırmalar enfeksiyonla savaşmak için yeni ajanlar ve stratejiler bulmaya ve ek olarak iyileşme sürecini kısaltmaya odaklanmıştır (61).

Bu amaçlar doğrultusunda enfeksiyon gelişme riskini azaltan, iyileşmeyi hızlandıran ve destekleyen, dokunun rejeneratif kapasitesini arttıran ve inflamasyonu düzenleyen biyomateryallerin bulunması için pek çok araştırma yapılmıştır. Trombosit konsantrelerinin, yara iyileşmesine katılan hücrelerin toplanmasını ve çoğalmasını kolaylaştırarak yara iyileşmesi üzerine olumlu etkilere sahip olduğu açıkça gösterilmiştir (2).

Trombosit konsantrelerinin diş hekimliğinde ilk kullanımı Whitman ve ark.'nın yaptığı çalışma ile 1997'de başlamıştır. Bu çalışmada TZP'nin yara iyileşmesi üzerine

olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (3). TZP'nin hazırlık protokolünün karmaşık olması, aktiveştirilmesi için ek maddeler gerekmesi ve antikoagölan kullanılarak hazırlanması gibi dezavantajlarının bulunması, ayrıca rejeneratif işlemlerdeki olumlu etkilerinin sınırlı olması nedeniyle yeni trombosit konsantrelerinin bulunmasına odaklanılmıştır. Choukroun ve ark. tarafından antikoagölan ve ek maddeler kullanılmadan oluşturulan TZF, ilk olarak oral ve maksillofasiyal cerrahi işlemlerde kullanılmak üzere geliştirilmiştir (7). TZP ve TZF yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkileri sayesinde dental cerrahi işlemlerde uzun bir süre kullanılmıştır. Bu ürünlerin hazırlık protokollerinde yapılacak modifikasyonlar ile içeriğindeki hücresel komponentler arttırılarak rejeneratif kapasitelerinin iyileştirilebileceğı düşünölmüş ve bu amaçla hazırlama protokolündeki santrifüj hızı ve süresi azaltılarak fibrin pıhtısı oluşmadan sıvı haldeki enjekte edilebilir TZF (e-TZF) elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda, e-TZF'nin içeriğinde daha yoğun lökosit ve trombosit hücreleri ile birlikte daha fazla miktarda büyüme faktörü toplandığı gösterilmiştir (11, 13).

Trombosit konsantrelerinin yara iyileşmesi üzerine olumlu etkileri ile birlikte içeriğinde bulunan trombosit, lökosit, monosit ve granulosit hücreleri sayesinde uygulandığı bölgede antimikrobiyal etkinlik sağlayabileceğı düşünölererek bu konu ile ilgili pek çok in vitro çalışma yapılmıştır (16, 17, 19, 155–158). Yang ve ark. yaptıkları çalışmada, TZP, TFP ve L-TZF'nin periodontal patojen mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkinliğini değerlendirmişlerdir. Tüm trombosit konsantrelerinin mikroorganizmaların büyümesini inhibe ettiğini ve TZP'nin periodontal patojenler üzerinde daha güçlü antibakteriyel etkiye sahip olduğunu tespit etmişlerdir (17). Mariani ve ark. *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomonas Aeruginosa* ve *Enterococcus Faecalis* üzerinde TZP ve L-TZF'nin mikrobisidal aktivitesini değerlendirmişler ve her iki trombosit konsantresinin, *Klebsiella Pneumoniae* dışındaki diğer mikroorganizmaların çoğalmasını 4 saate kadar inhibe ettiğini göstermişlerdir (19). Intravia ve ark. *S.aureus*, *S.epidermidis* ve metisiline-dirençli *Staphylococcus aureus* bakterileri üzerinde iki farklı şekilde hazırlanan TZP'nin antibakteriyel özelliklerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, düşük lökosit ve trombosit konsantrasyonu içeren TZP ile yüksek lökosit ve trombosit konsantrasyonu içeren TZP örneklerinin tam kana kıyasla 8 saate kadar bakteriyel büyümeyi önemli miktarda azalttığını bulmuşlardır. Trombosit ve lökosit konsantrasyonundaki farklılıklara rağmen iki TZP örneğı arasında antibakteriyel aktivite açısından anlamlı bir fark bulunmadığını gözlemlemişlerdir (16). Literatürde TZP'nin *E.faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin bulunduğunu gösteren pek çok çalışma (55, 80, 156, 159) olmasına rağmen,

Bielecki ve ark. çalışmalarında TZP'nin *E.faecalis* üzerinde antibakteriyel bir etkinlik göstermediğini saptamıştır (160). Yapılan çalışmalarda sonuçların çelişkili olması, kullanılan TZP konsantrelerinin farklı formlarda olmasına (jel veya sıvı), trombosit ile lökosit hücre yoğunluğunun farklı olmasına, antibakteriyel aktiviteyi değerlendirmek için kullanılan testlerin farklı hassasiyete sahip olmasına ve bakteriyel suşların kendine özgü farklı özelliklerinin bulunmasına bağlanmıştır (18).

Trombosit konsantrelerinin periodontal tedavilerde kullanımının artmasıyla birlikte özellikle periodontal patojen mikroorganizmalar üzerindeki antibakteriyel etkinliğini değerlendiren çalışmalar da yapılmıştır (20, 161, 162). Periodontal hastalıktan primer olarak sorumlu olduğu düşünülen ve periodontal patojen mikroorganizmalar olarak kabul edilen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) ve *Porphyromonas gingivalis* (Pg) üzerinde trombosit konsantrelerinin antibakteriyel etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, TZP'nin Aa ve Pg'nin büyümesini önemli miktarda inhibe ettiği ancak TZF'nin bu patojenler üzerinde herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermediği tespit edilmiştir. Bu durum, kullanılmış olan TZF'nin jel formunda olmasından dolayı antibakteriyel etkinlikten sorumlu olan trombosit ve lökosit hücrelerinin fibrin ağ dışına çıkıp bakterilerle etkileşime girememesi ile açıklanmıştır. Aynı zamanda TZP'nin aktive edilmesinde kullanılan kalsiyum klorürün de antibakteriyel aktiviteye bir katkı sağlamış olabileceği bildirilmiştir (20). TZF'nin antibakteriyel etkinliğinin metranidazol ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, TZF'nin periodontal patojen bakteriler üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin daha düşük olduğu saptanmış ancak antibakteriyel ajanlarda gözlenebilen yan etkilerin otolog bir preperat olan TZF'de gözlenmemesinin önemli bir avantaj sağlayacağı düşünülmüştür. Bu nedenle araştırmacılar ameliyat sonrası enfeksiyonların kontrolünde TZF kullanımının farklı çalışmalarla daha fazla araştırılması gerektiğini bildirmişlerdir (162).

Trombosit konsantrelerinin antimikrobiyal etkinliğinden esas sorumlu hücrelerin, trombositler ve lökositler olduğu bilinmektedir. Trombosit konsantrelerindeki lökositlerin mikroorganizmalar üzerinde direkt antimikrobiyal etki gösterdiği, trombositlerin hem bakteriler ile etkileşime girerek hem de antikora bağımlı hücre sitotoksitesine katılarak antimikrobiyal etki gösterdiği düşünülmektedir (18). Ghanaati ve ark.'nın düşük hızda santrifüj konsepti üzerine yaptığı çalışmada, santrifüj kuvvetinin 60g'ye düşürülmesi sonucunda geliştirilen e-TZF'nin, tam kana ve diğer trombosit konsantreleri olan TZP, TZF ve g-TZF'ye kıyasla daha fazla trombosit, lökosit, monosit ve granulosit hücresi içerdiği

tespit edilmiştir. Hücresel içeriği yüksek olduğu için e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin diğer trombosit konsantrelerinden daha yüksek olacağı düşünülmüştür (12, 113).

Literatürde trombosit konsantrelerinin antimikrobiyal etkinliği üzerine pek çok çalışma yapılmış olmasına rağmen, e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirildiği çalışma sayısı oldukça sınırlıdır. Ayrıca, e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değişimini inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamız, son yıllarda klinik kullanımı giderek artan ve trombosit konsantreleri arasında hücresel içeriği en yüksek olan e-TZF'nin *E.faecalis* ve *C.albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değerlendirildiği ilk çalışmadır.

E.faecalis, endodontik tedavi sonrası inatçı enfeksiyonlar dahil olmak üzere farklı periradiküler hastalık formlarıyla ilişkilidir ve başarısız endodontik tedavilerde en sık tespit edilen mikroorganizmadır (131, 132, 163, 164). *E.faecalis*'in, başarısız endodontik tedavi nedeniyle çekilmiş dişlerin soketinde hayatta kalabileceği ve bu bölgeye uygulanan implantların çevresinde kemik kaybına ve periimplantitise neden olabileceği düşünülmektedir (134, 165). Virülansının yüksek olması ve antibakteriyel ajanlara karşı oldukça dirençli olmasından dolayı *E.faecalis*, patojen mikroorganizmaların eliminasyonunun test edildiği çalışmalarda altın standart olarak kullanılan mikroorganizmadır (166).

Oral kandidal lezyonlar, diş hekimliği pratiğinde en sık karşılaşılan mantar enfeksiyonlarıdır ve bu lezyonların %80'inden fazlası *C.albicans*'tan kaynaklanmaktadır. *C.albicans*, mukozal yüzeylerde ve biyomateryallerin yüzeylerinde kolonize olabilen fırsatçı bir patojendir (138, 139). Oral florada bulunan *C.albicans* sağlıklı dokularda enfeksiyona neden olmazken, bütünlüğü bozulan dokularda enfeksiyona neden olabilmektedir (167, 168). Periimplantitis görülen implantların subgingival biyofilm örneklerinden yüksek miktarda *C.albicans*'ın izole edilmiş olması, bu mikroorganizmanın periimplantitisin gelişmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (149, 169).

Literatürde e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı sınırlı sayıdaki çalışmada (170–172), e-TZF'nin farklı mikroorganizma türleri üzerindeki antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiş olmasına rağmen, *E.faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin incelendiği bir çalışma bulunmamaktadır. Aynı zamanda literatüre baktığımızda TZP ve TZF'nin antifungal etkinliğinin araştırıldığı çalışmalar (16, 19, 80, 159, 173) mevcutken e-TZF'nin antifungal etkinliğinin araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu yüzden

çalışmamızda, e-TZF'nin antifungal etkinliğinin değerlendirilmesi için *C.albicans* mantarı, antibakteriyel etkinliğinin değerlendirilmesi için ise patojenlerin eliminasyonunun test edilmesinde altın standart olarak kabul edilen *E.faecalis* incelendi.

e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı güncel çalışmalarda çoğunlukla agar well difüzyon ve sıvı mikrodilüsyon antimikrobiyal duyarlılık yöntemleri kullanılmıştır. (170–172). Agar well difüzyon yönteminde, zon çaplarının güvenilir şekilde ölçülememesi, kuyucuk derinliğinin ve besi yeri kalınlığının doğru şekilde ayarlanamaması yöntemin hassasiyetini oldukça etkilemektedir (174). Sıvı mikrodilüsyon yöntemi ise in vitro antifungal duyarlılık yöntemleri arasında referans yöntem olarak önerilse de zaman alıcı ve çalışılması oldukça zahmetli bir yöntemdir (175). Bahsedilen yöntemlerin bu özellikleri göz önüne alındığında, çalışmamızda e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliği, Tanrıverdi ve ark'nın (150) yaptıklarına benzer şekilde mikroorganizma sayısının zamana bağlı değişiminin ölçüldüğü koloni sayım yöntemiyle incelendi.

Bielecka ve ark. L-TZP'nin *E.faecalis*, *S.aureus*, *E.coli*, *K.pneumoniae* ve *P.aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini araştırdıkları çalışmada, L-TZP'nin *E.coli* ve *K.pneumoniae* üzerinde antimikrobiyal aktivite göstermediğini, *E.faecalis*, *S.aureus* ve *P.aeruginosa* 'nın çoğalmasını ise etkili bir şekilde inhibe ettiğini bulmuşlardır (176). Tohidnezhad ve ark. TZP'nin antimikrobiyal mekanizmasını araştırmak için yaptıkları çalışmada, TZP'nin *E.coli*, *B.megaterium*, *P.aeruginosa*, *E.faecalis* ve *P.mirabilis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini göstermişlerdir (177). Mariani ve ark. yaptıkları çalışmada, TZP'nin *E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *K.pneumoniae* ve *E.faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini ve bu etkinliğin zamana bağlı değişimini araştırmışlardır. Hazırladıkları örneklerin koloni sayılarını, 1., 2., 4. ve 18. saatlerde değerlendirmişler ve TZP'nin 2. saate kadar bakterilerin çoğalmasını etkili bir şekilde inhibe ettiğini tespit etmişlerdir. Mevcut sonuçlar ile TZP'nin cerrahi müdahaleler sırasında bakteriyel kontaminasyonlara karşı erken dönemde koruma sağlayabileceğini bildirmişlerdir (19, 159). Çalışmamızda, e-TZF'nin *E.faecalis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğinin zamana bağlı değişimi incelendiğinde, antibakteriyel etkinliğin 60. dk'da en yüksek olduğu, 60. dk'dan sonra azalmasına rağmen 240. dk'ya kadar devam ettiği saptandı. Bu sayede e-TZF'nin önceki çalışmada önerildiği gibi cerrahi işlemler sırasında veya sonrasında kontanimasyona ve buna bağlı enfeksiyon gelişimine karşı erken dönemde koruma sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Drago ve ark. TZP'nin *E.faecalis*, *C.albicans*, *S.agalactiae*, *S.oralis* ve *P.aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğini araştırdıkları çalışmada, *P.aeruginosa* dışındaki diğer tüm mikroorganizmaların çoğalmasının TZP tarafından inhibe edildiğini göstermişlerdir. TZP'nin postoperatif enfeksiyonlarla mücadelede yararlı bir biyomateryal olarak kullanılabileceğini bildirmişlerdir (80). Drago ve ark. TZP'nin aynı mikroorganizmalar üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin mekanizmasını araştırdıkları başka bir çalışmada, antimikrobiyal etkinliğin plazma bileşenleri ve trombosit kaynaklı faktörlerin bir işbirliği ile sağlandığını tespit etmişlerdir (156). Şimşek B. yapmış olduğu çalışmada, TZP'nin farklı konsantrasyonlardaki *C.albicans* üzerindeki antifungal etkinliğini 1., 2., 4., 8. ve 16. saatlerde incelemiştir. Araştırmacı, TZP'nin *C.albicans* üzerinde in vitro fungistatik etkisinin olduğunu, bu etkinliğin kontrol grubuna kıyasla 4. saatte hala devam ettiğini, 8. saatte çok azaldığını ve 16. saatte tamamen ortadan kalktığını tespit etmiştir (173). Çalışmamızda e-TZF'nin *C.albicans* üzerindeki antifungal etkinliğinin zamana bağlı değişimi incelendiğinde, antifungal etkinliğin 30. dk'da en yüksek olduğu, 30. dk'dan sonra azalmasına rağmen 240. dk'ya kadar devam ettiği saptandı. e-TZF'nin *C.albicans* üzerindeki antifungal etkinliği sayesinde, yaralanma sonrası bütünlüğü bozulan dokuda *C.albicans* invazyonu sonucunda gerçekleşebilecek kandidal enfeksiyonlara karşı erken dönemde koruma sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

Nagaraja ve ark. 2020 yılında TZF'nin antibakteriyel ve antifungal etkinliklerini değerlendirdikleri çalışmada, TZF'nin antibakteriyel etkinlik gösterdiğini ancak *C.albicans* suşları üzerinde antifungal etkinlik göstermediğini bildirmişlerdir (178). Çalışmamızın sonuçlarının bu çalışmanınkinden farklı olması, Nagaraja ve ark.'nın çalışmasında kullanılan TZF'nin sıvı formda olmaması ve hücre içeriğinin e-TZF'den daha düşük olması ile açıklanabilir.

Karde ve ark. yaptıkları çalışmada e-TZF'nin antibakteriyel etkinliğini diğer trombosit konsantreleri ile karşılaştırarak incelemişlerdir. Çalışmanın sonucunda e-TZF'nin oral mikroflora çevresinde bulunan mikroorganizmalar üzerinde maksimum inhibisyon bölgesi oluşturduğu görülmüştür. Trombosit konsantrelerinin antibakteriyel etkileri birbirleri ile kıyaslandığında en yüksekten en düşüğe doğru e-TZF>TZF>TZP şeklinde olduğu saptanmıştır. Çalışmada aynı zamanda trombosit konsantrelerinin trombosit hücre sayıları da değerlendirilmiş ve tam kana kıyasla e-TZF ve TZP'nin trombosit sayısının

sırasıyla %503 ve %464 oranında fazla olduğu görülürken bu oranın TZF’de %87 olduğu bulunmuştur (170).

Başka bir çalışmada Kour ve ark. e-TZF, TZF ve TZP’nin *P.gingivalis* (Pg) ve *A.actinomycetemcomitans* (Aa) üzerindeki antibakteriyel etkinliğini agar well difüzyon metodu kullanarak değerlendirmişlerdir (171). Pg ile hazırlanan örneklerin inhibisyon bölgeleri incelendiğinde en geniş inhibisyon alanının e-TZF’de olduğu, TZP’nin de TZF’ye kıyasla daha geniş bir inhibisyon alanına sahip olduğu gözlenmiştir. Aa ile hazırlanan örneklerde ise TZF ve e-TZF’ye kıyasla en geniş inhibisyon alanının TZP’de olduğu bildirilmiştir. Her iki mikroorganizma için TZF’nin antibakteriyel etkinliğinin diğer iki trombosit konsantrisine kıyasla daha düşük olması, TZF’nin trombosit ve lökosit konsantrasyonunun diğer trombosit konsantrelerine kıyasla daha düşük olması ile açıklanmıştır. Bu sonuç daha önce TZP ve TZF’nin antibakteriyel etkinliklerinin kıyaslandığı diğer çalışmalarla da uyumludur (17, 20).

Jasmine ve ark., minimum inhibitör konsantrasyon (MİK) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) değerleri bakımından e-TZF’nin *S.aureus* ve *Staphylococcus epidermis* üzerindeki antibakteriyel etkinliğini değerlendirdikleri çalışmada, e-TZF’nin her iki mikroorganizma üzerinde de antimikrobiyal etkinlik gösterdiğini ve e-TZF’nin biyofilm oluşumunda önemli bir azalma sağladığını tespit etmişlerdir. Ayrıca, e-TZF’nin antimikrobiyal ve antibiyofilm etkilerinin geçirgenlik proteinleri, laktoferinler, defensinler, heparin bağlayıcı proteinler ve fosfolipaz A2 aracılığıyla oluşabileceğini bildirmişlerdir (172).

Güncel literatürde e-TZF’nin antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı sınırlı sayıdaki çalışmada kullanılan metodların ve incelenen mikroorganizmaların çalışmamızdakilerden farklı olmasından dolayı çalışmamızın sonuçları ile net bir kıyaslama yapılamamıştır. Bilgimiz dahilinde çalışmamız e-TZF’nin *E.faecalis* ve *C.albicans* mikroorganizmaları üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Ayrıca, e-TZF’nin antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değişimini inceleyen bir çalışma da bulunmamaktadır.

Periodontal hastalıkların etiyolojisinde rol oynayan başlıca mikroorganizmaların *A.actinomycescomitans*, *P.gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum* ve *Treponema denticola* olduğu oldukça iyi bilinmektedir. Periodontal patojenler olarak kabul edilen bu mikroorganizmalar zorunlu veya fakültatif anaerob, gram negatif bakterilerdir. Laboratuvar çalışma imkanlarımızın bu mikroorganizmaların incelenebilmesi için yeterli olmaması nedeniyle, çalışmamızda e-TZF'nin bu periodontal patojenler üzerindeki antimikrobiyal etkinliği incelenememiştir.

Çalışmamızın araştırma bütçesinin hazırlanan örnek sayısını sınırlandırmasından dolayı, e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değişimi 240. dk'ya kadar değerlendirilebilmiş, daha uzun süredeki etkileri incelenememiştir.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

1. Çalışmamızın amacı, e-TZF'nin *E.faecalis* ve *C.albicans* üzerindeki muhtemel antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değişiminin in vitro olarak araştırılmasıdır.
2. Araştırmamızda; e-TZF'nin *E.faecalis* ve *C.albicans* üzerinde antimikrobiyal etkinlik gösterdiği in vitro ortamda saptandı.
3. Tam kanla kıyaslandığında, e-TZF'nin *E.faecalis* ve *C.albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğinin incelenen tüm zamanlarda anlamlı derecede daha yüksek olduğu bulundu.
4. e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliğinin zamana bağlı değişimi incelendiğinde, *E.faecalis* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğin 60. dk'da, *C.albicans* üzerindeki antimikrobiyal etkinliğin 30. dk'da en yüksek olduğu tespit edildi. Bu etkinliklerin zamana bağlı azalma göstermesine rağmen 240. dk'ya kadar devam ettiği gözlemlendi.
5. e-TZF'nin antimikrobiyal etkinliği sayesinde cerrahi işlemler sırasında ve sonrasında oluşabilecek kontaminasyona ve dokunun enfeksiyonuna engel olabileceğini düşünmekteyiz.
6. e-TZF ile kemik greft materyallerinin kombine kullanımı sayesinde, özellikle sinüs ogmentasyonu gibi rejeneratif işlemlerde greft partiküllerinin kontamine olmasının ve buna bağlı enfeksiyon gelişiminin önlenebileceğini ve rejeneratif işlemlerin başarısının arttırılabileceğini düşünmekteyiz.
7. Antimikrobiyal etkileri sayesinde otolog bir biyomateryal olarak e-TZF'nin cerrahi işlemlerde kullanımının antimikrobiyal ilaç gereksinimini azaltacağını düşünüyoruz.
8. Antimikrobiyal ilaç kullanımının azalması sonucu ilaca bağlı gelişen yan etkilerin görülme sıklığının ve mikroorganizma direncinin de azalacağına inanmaktayız.
9. e-TZF'nin periodontal hastalıkların gelişmesinde rol oynayan periodontopatojen mikroorganizmalar üzerine antimikrobiyal etkinliğinin değerlendirildiği ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Bielecki T, Dohan Ehrenfest DM (2012). Platelet-rich plasma (PRP) and Platelet-Rich Fibrin (PRF): surgical adjuvants, preparations for in situ regenerative medicine and tools for tissue engineering. *Current pharmaceutical biotechnology* 13: 1121–1130.
2. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang C-Q, Pinto NR, Bielecki T (2014). 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* 4: 3–9.
3. Whitman DH, Berry RL, Green DM (1997). Platelet gel: An autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 55: 1294–1299.
4. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR (1998). Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 85: 638–646.
5. Xu J, Gou L, Zhang P, Li H, Qiu S (2020). Platelet-rich plasma and regenerative dentistry. *Australian dental journal* 65: 131–142.
6. Kawase T (2015). Platelet-rich plasma and its derivatives as promising bioactive materials for regenerative medicine: basic principles and concepts underlying recent advances. *Odontology* 103: 126–135.
7. Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A (2001). Une opportunité en parodontologie: le PRF. *Implantodontie* 42: 55–62.
8. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Dohan DM (2006). 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 Endodontology* 101.
9. Giannini S, Cielo A, Bonanome L, Rastelli C, Derla C, Corpaci F, Falisi G (2015). Comparison between PRP, PRGF and PRF: lights and shadows in three similar but different protocols. *European review for medical and pharmacological sciences* 19: 927–930.

10. Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, Salama M, Lee S, Guillemette V, Fujioka-Kobayashi M, Bishara M, Zhang Y, Wang H-L, *et al.* (2017). Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical oral investigations* 21: 1913–1927.
11. Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, Les C, Sader R, Kirkpatrick CJ, Choukroun J, *et al.* (2014). Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology* 40: 679–689.
12. Choukroun J, Ghanaati S (2017). Introducing the Low-Speed Centrifugation Concept. In: Miron R, Choukroun J, editors. *Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry* pp 33–46.
13. Varela HA, Souza JCM, Nascimento RM, Araújo RFJ, Vasconcelos RC, Cavalcante RS, Guedes PM, Araújo AA (2019). Injectable platelet rich fibrin: cell content, morphological, and protein characterization. *Clinical oral investigations* 23: 1309–1318.
14. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Dohan DM (2006). Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part V: Histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 101: 299–303.
15. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, Van Dyke TE (2007). Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *Journal of periodontology* 78: 661–669.
16. Intravia J, Allen DA, Durant TJ, McCarthy MBR, Russell R, Beitzel K, Cote MP, Dias F, Mazzocca AD (2014). In vitro evaluation of the anti-bacterial effect of two preparations of platelet rich plasma compared with cefazolin and whole blood. *Muscles, ligaments and tendons journal* 4: 79–84.
17. Yang L-C, Hu S-W, Yan M, Yang J-J, Tsou S-H, Lin Y-Y (2015). Antimicrobial activity of platelet-rich plasma and other plasma preparations against periodontal pathogens. *Journal of periodontology* 86: 310–318.
18. Fabbro M Del, Bortolin M, Taschieri S, Ceci C, Weinstein RL (2016). Antimicrobial

- properties of platelet-rich preparations. A systematic review of the current pre-clinical evidence. *Platelets* 27: 276–285.
19. Mariani E, Canella V, Berlingeri A, Bielli A, Cattini L, Landini MP, Kon E, Marcacci M, Di Matteo B, Filardo G (2015). Leukocyte presence does not increase microbicidal activity of Platelet-rich Plasma in vitro. *BMC microbiology* 15: 149.
 20. Badade PS, Mahale SA, Panjwani AA, Vaidya PD, Warang AD (2016). Antimicrobial effect of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin. *Indian journal of dental research : official publication of Indian Society for Dental Research* 27: 300–304.
 21. Love RM (2001). Enterococcus faecalis--a mechanism for its role in endodontic failure. *International endodontic journal* 34: 399–405.
 22. Canabarro A, Valle C, Farias MR, Santos FB, Lazera M, Wanke B (2013). Association of subgingival colonization of Candida albicans and other yeasts with severity of chronic periodontitis. *Journal of periodontal research* 48: 428–432.
 23. Natarajan S, Williamson D, Stiltz AJ, Harding KG (2000). Advances in wound care and healing technology. *American Journal of Clinical Dermatology* 1: 269–275.
 24. Robson MC, Steed DL, Franz MG (2001). Wound healing: Biologic features and approaches to maximize healing trajectories. *Current Problems in Surgery* 38: A1.
 25. Clark RAF (1998). Overview and General Considerations of Wound Repair. *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair* pp 3–50. doi:10.1007/978-1-4615-1795-5_1.
 26. Guo S, Dipietro LA (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of dental research* 89: 219–229.
 27. Mcculloch JM, Kuloth LC, Feedar JA (2002). Wound healing alternatives in management, 3rd ed. pp 3–34.
 28. Williams DT, Harding K (2003). Healing responses of skin and muscle in critical illness. *Critical care medicine* 31: 547–57.
 29. Bennett NT, Schultz GS (1993). Growth factors and wound healing: Biochemical properties of growth factors and their receptors. *The American Journal of Surgery* 165: 728–737.

30. Busti AJ, Hooper JS, Amaya CJ, Kazi S (2005). Effects of perioperative antiinflammatory and immunomodulating therapy on surgical wound healing. *Pharmacotherapy* 25: 1566–1591.
31. Medina A, Scott PG, Ghahary A, Tredget EE (2005). Pathophysiology of chronic nonhealing wounds. *Journal of Burn Care and Rehabilitation* 26: 306–319.
32. Karukonda SRK, Flynn TC, Boh EE, McBurney EI, Russo GG, Millikan LE (2000). The effects of drugs on wound healing: Part 1. *International Journal of Dermatology* 39: 250–257.
33. Schwartz (2005). Schwartz's Principles of Surgery 8th Ed. *Oral Surgery* p 223. doi:10.1007/978-3-540-49975-6_3.
34. Glim JE, Van Egmond M, Niessen FB, Everts V, Beelen RHJ (2013). Detrimental dermal wound healing: What can we learn from the oral mucosa? *Wound Repair and Regeneration* 21: 648–660.
35. Lang NP, Lindhe J (2015). Clinical Periodontology and Implant Dentistry, 2 Volume Set, 6th Edition. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*.
36. Larjava H (2013). *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management*. *Oral Wound Healing: Cell Biology and Clinical Management*. doi:10.1002/9781118704509.
37. Menke NB, Ward KR, Witten TM, Bonchev DG, Diegelmann RF (2007). Impaired wound healing. *Clinics in dermatology* 25: 19–25.
38. Edwards R, Harding KG (2004). Bacteria and wound healing. *Current opinion in infectious diseases* 17: 91–96.
39. Deppermann C, Kubes P (2016). Platelets and infection. *Seminars in immunology* 28: 536–545.
40. Varga-Szabo D, Pleines I, Nieswandt B (2008). Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 28: 403–413.
41. Yeaman MR (1997). The Role of Platelets in Antimicrobial Host Defense. *Clinical Infectious Diseases* 25: 951–968.
42. Yeaman MR (2010). Bacterial-platelet interactions: Virulence meets host defense.

- Future Microbiology* 5: 471–506.
43. Hamzeh-Cognasse H, Damien P, Chabert A, Pozzetto B, Cognasse F, Garraud O (2015). Platelets and infections - Complex interactions with bacteria. *Frontiers in Immunology* 6: 82.
 44. Yeaman MR (2010). Platelets in defense against bacterial pathogens. *Cellular and Molecular Life Sciences* 67: 525-545.
 45. Yeaman MR (2014). Platelets: At the nexus of antimicrobial defence. *Nature Reviews Microbiology* 12: 426–437.
 46. Movat HZ, Weiser WJ, Glynn MF, Mustard JF (1965). Platelet phagocytosis and aggregation. *The Journal of cell biology* 27: 531-543.
 47. Cognasse F, Hamzeh H, Chavarin P, Acquart S, Genin C, Garraud O (2005). Evidence of Toll-like receptor molecules on human platelets. *Immunology and Cell Biology* 83: 196–198.
 48. Rosenfeld SI, Looney RJ, Leddy JP, Phipps DC, Abraham GN, Anderson CL (1985). Human platelet Fc receptor for immunoglobulin G. Identification as a 40,000-molecular-weight membrane protein shared by monocytes. *Journal of Clinical Investigation* 76: 2317–2322.
 49. Joseph M, Auriault C, Capron A, Vorng H, Viens P (1983). A new function for platelets: IgE-dependent killing of schistosomes. *Nature* 303: 810–812.
 50. Bout D, Joseph M, Pontet M, Vorng H, Deslée D, Capron A (1986). Rat Resistance to Schistosomiasis: Platelet-Mediated Cytotoxicity Induced by C-Reactive Protein. *Science* 231: 153–156.
 51. Ockenhouse CF, Magowan C, Chulay JD (1989). Activation of monocytes and platelets by monoclonal antibodies or malaria-infected erythrocytes binding to the CD36 surface receptor in vitro. *Journal of Clinical Investigation* 84: 468–475.
 52. Tang YQ, Yeaman MR, Selsted ME (2002). Antimicrobial peptides from human platelets. *Infection and Immunity* 70: 6524–6533.
 53. Krijgsveld J, Zaat SAJ, Meeldijk J, Van Veelen PA, Fang G, Poolman B, Brandt E, Ehlert JE, Kuijpers AJ, Engbers GHM, *et al.* (2000). Thrombocidins, microbicidal proteins from human blood platelets, are C- terminal deletion products of CXC

- chemokines. *Journal of Biological Chemistry* 275: 20374–20381.
54. Dürr M, Peschel A (2002). Chemokines meet defensins: The merging concepts of chemoattractants and antimicrobial peptides in host defense. *Infection and Immunity* 70: 6515–6517.
 55. Yeaman MR, Tang YIQ, Shen AJ, Bayer AS, Selsted ME (1997). Purification and in vitro activities of rabbit platelet microbicidal proteins. *Infection and Immunity* 65: 1023-1031.
 56. Yount NY, Yeaman MR (2004). Multidimensional signatures in antimicrobial peptides. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 7363-7368.
 57. Trier DA, Gank KD, Kupferwasser D, Yount NY, French WJ, Michelson AD, Kupferwasser LI, Xiong YQ, Bayer AS, Yeaman MR (2008). Platelet antistaphylococcal responses occur through P2X1 and P2Y12 receptor-induced activation and kinocidin release. *Infection and Immunity* 76: 5706-5713.
 58. Fitzgerald JR, Foster TJ, Cox D (2006, June). The interaction of bacterial pathogens with platelets. *Nature Reviews Microbiology* 4.
 59. Klinger MHF, Jelkmann W (2002). Role of blood platelets in infection and inflammation. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 22: 913–922.
 60. Colman RW (1991). Receptors that Activate Platelets. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 197: 242–248.
 61. Yeaman MR, Gank KD, Bayer AS, Brass EP (2002). Synthetic peptides that exert antimicrobial activities in whole blood and blood-derived matrices. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 46: 3883–3891.
 62. Johansson D, Shannon O, Rasmussen M (2011). Platelet and neutrophil responses to Gram positive pathogens in patients with bacteremic infection. *PloS one* 6: e26928.
 63. Miedzobrodzki J, Panz T, Płonka PM, Zając K, Dracz J, Pytel K, Mateuszuk Ł, Chłopicki S (2008). Platelets augment respiratory burst in neutrophils activated by selected species of gram-positive or gram-negative bacteria. *Folia Histochemica et Cytobiologica* 46: 383–388.
 64. Clawson CC, White JG (1971). Platelet interaction with bacteria. I. Reaction phases

- and effects of inhibitors. *American Journal of Pathology* 65: 367–380.
65. Clawson CC, White JG (1971). Platelet interaction with bacteria. II. Fate of the bacteria. *American Journal of Pathology* 65: 381–397.
 66. Clawson CC (1973). Platelet interaction with bacteria. 3. Ultrastructure. *American Journal of Pathology* 70: 449–471.
 67. Clawson CC, Rao GHR, White JG (1975). Platelet interaction with bacteria. IV. Stimulation of the release reaction. *American Journal of Pathology* 81: 411–419.
 68. Kerrigan SW, Cox D (2010). Platelet–bacterial interactions. *Cellular and Molecular Life Sciences* 67: 513–523.
 69. Bayer AS, Ramos MD, Menzies BE, Yeaman MR, Shen AJ, Cheung AL (1997). Hyperproduction of alpha-toxin by *Staphylococcus aureus* results in paradoxically reduced virulence in experimental endocarditis: a host defense role for platelet microbicidal proteins. *Infection and immunity* 65: 4652–4660.
 70. Hawiger J, Steckley S, Hammond D, Cheng C, Timmons S, Glick AD, Des Prez RM (1979). Staphylococci-induced human platelet injury mediated by protein A and immunoglobulin G Fc fragment receptor. *The Journal of clinical investigation* 64: 931–937.
 71. Siboo IR, Chambers HF, Sullam PM (2005). Role of SraP, a Serine-Rich Surface Protein of *Staphylococcus aureus*, in binding to human platelets. *Infection and immunity* 73: 2273–2280.
 72. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, Smayevsky J, Bell J, Jones RN, Beach M (2001). Survey of infections due to *Staphylococcus* species: Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillanc. *Clinical Infectious Diseases* 32: 114–132.
 73. Fowler VG, Miro JM, Hoen B, Cabell CH, Abrutyn E, Rubinstein E, Corey GR, Spelman D, Bradley SF, Barsic B, *et al.* (2005). *Staphylococcus aureus* endocarditis: A consequence of medical progress. *Journal of the American Medical Association* 293: 3012–3021.
 74. Klinger MHF, Jelkmann W (2002). Role of blood platelets in infection and

- inflammation. *Journal of Interferon and Cytokine Research* 22: 913–922.
75. Coutinho IR, Berk RS, Mammen E (1988). Platelet aggregation by a phospholipase C from *Pseudomonas aeruginosa*. *Thrombosis Research* 51: 495–505.
 76. Shepel M, Boyd J, Luider J, Gibb AP (2001). Interaction of *Yersinia enterocolitica* and *Y. pseudotuberculosis* with platelets. *Journal of medical microbiology* 50: 1030–1038.
 77. Perkhofer S, Kainzner B, Kehrel BE, Dierich MP, Nussbaumer W, Lass-Flörl C (2009). Potential antifungal effects of human platelets against zygomycetes in vitro. *The Journal of infectious diseases* 200: 1176–1179.
 78. Yeaman MR, Ibrahim AS, Edwards JEJ, Bayer AS, Ghannoum MA (1993). Thrombin-induced rabbit platelet microbicidal protein is fungicidal in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 37: 546–553.
 79. Willcox MD, Webb BC, Thakur A, Harty DW (1998). Interactions between *Candida* species and platelets. *Journal of medical microbiology* 47: 103–110.
 80. Drago L, Bortolin M, Vassena C, Taschieri S, Del Fabbro M (2013). Antimicrobial activity of pure platelet-rich plasma against microorganisms isolated from oral cavity. *BMC microbiology* 13: 1.
 81. Kiel MJ, Acar M, Radice GL, Morrison SJ (2009). Hematopoietic Stem Cells Do Not Depend on N-Cadherin to Regulate Their Maintenance. *Cell Stem Cell* 4: 170–179.
 82. Levy O (2000). Antimicrobial proteins and peptides of blood: templates for novel antimicrobial agents. *Blood* 96: 2664–2672.
 83. Abbas AK, Lichtman AH (2007). Temel İmmünoloji. *Temel İmmünoloji* İstanbul Medikal Yayıncılık, pp 1–160.
 84. Alberts B, Johnson A, Lewis J, Raff M, Roberts K, Walter P (2008). Hücrenin Moleküler Biyolojisi. *Hücrenin Moleküler Biyolojisi* TUBA, pp 1363–1420.
 85. Travlos GS (2006). Normal Structure, Function, and Histology of the Bone Marrow. *Toxicologic Pathology* 34: 548–565.
 86. Sağlam M, Aştı RN, Özer A (2001). Genel Histoloji. *Genel Histoloji* Ankara: Yorum Matbaacılık, pp 212–216.

87. Jelinek DF (2000). Regulation of B lymphocyte differentiation. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology* 84: 375–377.
88. Cambier JC, Ransom JT (1987). Molecular mechanisms of transmembrane signaling in B lymphocytes. *Annual review of immunology* 5: 175–199.
89. Srivastava RM, Savithri B, Khar A (2003). Activating and inhibitory receptors and their role in natural killer cell function. *Indian journal of biochemistry & biophysics* 40: 291–299.
90. Parslow TG, Stites DP, Terr AI, Imboden JB (2001). *Medical Immunology 10th Edition* McGraw-Hill/Appleton & Lange; 10th Edition (March 23, 2001).
91. Dale BA, Kimball JR, Krisanaprakornkit S, Roberts F, Robinovitch M, O’Neal R, Valore E V., Ganz T, Anderson GM, Weinberg A (2001). Localized antimicrobial peptide expression in human gingiva. *Journal of Periodontal Research* 36: 285–294.
92. Yamasaki K, Gallo RL (2008). Antimicrobial peptides in human skin disease. *European Journal of Dermatology* 18: 11–21.
93. Semple CA, Rolfe M, Dorin J (2003). Duplication and selection in the evolution of primate beta-defensin genes. *Genome Biology* 4: R31.
94. Matras H (1970). Die Wirkungen verschiedener Fibrinpräparate auf Kontinuitätstrennungen der Rattenhaut. *Osterreichische Zeitschrift fur Stomatologie* 67: 338–359.
95. Ness PM (1990). Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion* 30.
96. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T (2009). Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends in Biotechnology* 27: 158–167.
97. Weibrich G, Kleis WKG, Hafner G, Hitzler WE, Wagner W (2003). 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* 14: 357–362.
98. Weibrich G, Kleis WKG, Buch R, Hitzler WE, Hafner G (2003). The Harvest Smart PRP™ system versus the Friadent-Schütze platelet-rich plasma kit: Comparison of

a semiautomatic method with a more complex method for the preparation of platelet concentrates. *Clinical Oral Implants Research* 14: 233–239.

99. Schlegel KA, Donath K, Rupprecht S, Falk S, Zimmermann R, Felszeghy E, Wiltfang J (2004). De novo bone formation using bovine collagen and platelet-rich plasma. *Biomaterials* 25: 5387–5393.
100. Schlegel KA, Zimmermann R, Thorwarth M, Neukam F-W, Klongnoi B, Nkenke E, Felszeghy E (2007). Sinus floor elevation using autogenous bone or bone substitute combined with platelet-rich plasma. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics* 104: e15-25.
101. Wang X, Zhang Y, Choukroun J, Ghanaati S, Miron RJ (2017). Behavior of Gingival Fibroblasts on Titanium Implant Surfaces in Combination with either Injectable-PRF or PRP. *International journal of molecular sciences* 18.
102. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B (2006). 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* 101.
103. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B (2006). 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* 101.
104. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, Gogly B (2006). 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* 101.
105. Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P (2008). Osteotome sinus floor elevation using Choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material: a 1-year prospective pilot study with microthreaded implants. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology and Endodontology* 105: 572–579.
106. Choukroun JI, Braccini F, Diss A, Giordano G, Doglioli P, Dohan DM (2007). [Influence of platelet rich fibrin (PRF) on proliferation of human preadipocytes and tympanic keratinocytes: A new opportunity in facial lipostucture (Coleman's

- technique) and tympanoplasty?]. *Revue de laryngologie - otologie - rhinologie* 128: 27–32.
107. Braccini F, Dohan DM (2007). [The relevance of Choukroun's platelet rich fibrin (PRF) during facial aesthetic lipostructure (Coleman's technique): preliminary results]. *Revue de laryngologie - otologie - rhinologie* 128: 255–260.
 108. Monaco JL, Lawrence WT (2003). Acute wound healing an overview. *Clinics in plastic surgery* 30: 1–12.
 109. Miron R, Choukroun J (2017). *Platelet Rich Fibrin in Regenerative Dentistry: Biological Background and Clinical Indications*, 1st ed. (R. Choukroun & J. M. Joseph, editors) 2017;1.
 110. Martin P, Leibovich SJ (2005). Inflammatory cells during wound repair: The good, the bad and the ugly. *Trends in Cell Biology* 15: 599–607.
 111. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone JV, Rutkowski JL (2014). Platelet-rich preparations to improve healing. Part I: Workable options for every size practice. *Journal of Oral Implantology* 40: 500–510.
 112. Davis VL, Abukabda AB, Radio NM, Witt-Enderby PA, Clafshenkel WP, Cairone JV, Rutkowski JL (2014). Platelet-rich preparations to improve healing. Part II: Platelet activation and enrichment, leukocyte inclusion, and other selection criteria. *Journal of Oral Implantology* 40: 511–521.
 113. Choukroun J, Ghanaati S (2018). 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* 44: 87–95.
 114. He L, Lin Y, Hu X, Zhang Y, Wu H (2009). 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* 108: 707–713.
 115. Mourão CF de AB, Valiense H, Melo ER, Mourão NBMF, Maia MD-C (2015). Obtention of injectable platelets rich-fibrin (i-PRF) and its polymerization with bone

- graft: technical note. *Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes* 42: 421–423.
116. Yelamali T, Saikrishna D (2015). Role of Platelet Rich Fibrin and Platelet Rich Plasma in Wound Healing of Extracted Third Molar Sockets: A Comparative Study. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery* 14: 410–416.
 117. Zhang Y, Tangl S, Huber CD, Lin Y, Qiu L, Rausch-Fan X (2012). Effects of Choukroun's platelet-rich fibrin on bone regeneration in combination with deproteinized bovine bone mineral in maxillary sinus augmentation: A histological and histomorphometric study. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery* 40: 321–328.
 118. Sharma A, Pradeep AR (2011). Treatment of 3-Wall Intrabony Defects in Patients With Chronic Periodontitis With Autologous Platelet-Rich Fibrin: A Randomized Controlled Clinical Trial. *Journal of Periodontology* 82: 1705–1712.
 119. Eren G, Atilla G (2014). Platelet-rich fibrin in the treatment of localized gingival recessions: a split-mouth randomized clinical trial. *Clinical Oral Investigations* 18: 1941–1948.
 120. Nacopoulos C, Dontas I, Lelovas P, Galanos A, Vesalas AM, Raptou P, Mastoris M, Chronopoulos E, Papaioannou N (2014). Enhancement of bone regeneration with the combination of platelet-rich fibrin and synthetic graft. *Journal of Craniofacial Surgery* 25: 2164–2168.
 121. Weber SC, Kauffman JI, Parise C, Weber SJ, Katz SD (2013). Platelet-rich fibrin matrix in the management of arthroscopic repair of the rotator cuff: A prospective, randomized, double-blinded study. *American Journal of Sports Medicine* 41: 263–270.
 122. Smiech-Slomkowska G, Jablonska-Zrobek J (2007). The effect of oral health education on dental plaque development and the level of caries-related *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. *European journal of orthodontics* 29: 157–160.
 123. Jenkinson HF (1995). Genetic analysis of adherence by oral streptococci. *Journal of industrial microbiology* 15: 186–192.
 124. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, Boches SK, Dewhirst FE, Griffen AL (2002). Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *Journal of clinical microbiology* 40: 1001–1009.

125. Aydın M, Mısırlıgil A (2004). *Tıp ve Diş Hekimliğinde Genel ve Özel Mikrobiyoloji [General and special Microbiology in Medicine and dentistry]* Ankara: Güneş Kitabevi.
126. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS (1994). Virulence of enterococci. *Clinical microbiology reviews* 7: 462–478.
127. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP (2000). Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. *Infection control and hospital epidemiology* 21: 510–515.
128. Tannock GW, Cook G (2002). Enterococci as Members of the Intestinal Microflora of Humans. *The Enterococci* John Wiley & Sons, Ltd, pp 101–132. doi:<https://doi.org/10.1128/9781555817923.ch3>.
129. Kenneth JR, Ray CG (2004). *Sherris Medical Microbiology (4th ed.)*. McGraw Hill. Vasa.
130. Gold OG, Jordan H V, van Houte J (1975). The prevalence of enterococci in the human mouth and their pathogenicity in animal models. *Archives of oral biology* 20: 473–477.
131. Stuart CH, Schwartz SA, Beeson TJ, Owatz CB (2006). Enterococcus faecalis: its role in root canal treatment failure and current concepts in retreatment. *Journal of endodontics* 32: 93–98.
132. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Teixeira FB, Zaia AA, Souza Filho FJ (2003). Evaluation of root canal microorganisms isolated from teeth with endodontic failure and their antimicrobial susceptibility. *Oral microbiology and immunology* 18: 100–103.
133. Rakic M, Grusovin MG, Canullo L (2016). The Microbiologic Profile Associated with Peri-Implantitis in Humans: A Systematic Review. *The International journal of oral & maxillofacial implants* 31: 359–368.
134. Flanagan D (2016). Implant Placement in Failed Endodontic Sites: A Review. *The Journal of oral implantology* 42: 224–230.
135. Endo M, Signoretti F, Kitayama V, Marinho A, Martinho F, Gomes B (2015). Investigation in vivo of Enterococcus faecalis in endodontic retreatment by

- phenotypic and genotypic methods. *Acta Scientiarum Health Sciences* 37: 95.
136. Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, Horn DL, Reboli AC, Rotstein C, Franks B, Azie NE (2014). Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-albicans species of *Candida* in 2,496 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH) registry 2004-2008. *PloS one* 9: e101510.
 137. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Sader HS, Fluit AC, Hollis RJ, Messer SA (2001). International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY antimicrobial sur. *Journal of clinical microbiology* 39: 3254–3259.
 138. Peleg AY, Hogan DA, Mylonakis E (2010). Medically important bacterial-fungal interactions. *Nature reviews Microbiology* 8: 340–349.
 139. Williams DW, Jordan RPC, Wei X-Q, Alves CT, Wise MP, Wilson MJ, Lewis MAO (2013). Interactions of *Candida albicans* with host epithelial surfaces. *Journal of oral microbiology* 5: 22434.
 140. Naglik JR, Moyes D, Makwana J, Kanzaria P, Tsihlaki E, Weindl G, Tappuni AR, Rodgers CA, Woodman AJ, Challacombe SJ, *et al.* (2008). Quantitative expression of the *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase gene family in human oral and vaginal candidiasis. *Microbiology (Reading, England)* 154: 3266–3280.
 141. Gow NAR, van de Veerdonk FL, Brown AJP, Netea MG (2011). *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nature reviews Microbiology* 10: 112–122.
 142. De Prijck K, De Smet N, Coenye T, Schacht E, Nelis HJ (2010). Prevention of *Candida albicans* biofilm formation by covalently bound dimethylaminoethylmethacrylate and polyethylenimine. *Mycopathologia* 170: 213–221.
 143. Hawser SP, Douglas LJ (1995). Resistance of *Candida albicans* biofilms to antifungal agents in vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy* 39: 2128–2131.
 144. Sampaio-Maia B, Figueiral MH, Sousa-Rodrigues P, Fernandes MH, Scully C (2012). The effect of denture adhesives on *Candida albicans* growth in vitro. *Gerodontology*

29: e348-56.

145. Ghani F, Chughtai MA, Shah A (2011). Biochemically assessed pathological activity of oral *Candida* in denture and non denture wearers. *JPMI - Journal of Postgraduate Medical Institute* 25: 188–198.
146. Zomorodian K, Haghighi NN, Rajaei N, Pakshir K, Tarazooie B, Vojdani M, Sedaghat F, Vosoghi M (2011). Assessment of *Candida* species colonization and denture-related stomatitis in complete denture wearers. *Medical mycology* 49: 208–211.
147. Huh J-B, Lim Y, Youn H-I, Chang BM, Lee J-Y, Shin S-W (2014). Effect of denture cleansers on *Candida albicans* biofilm formation over resilient liners. *The journal of advanced prosthodontics* 6: 109–114.
148. Matic Petrovic S, Radunovic M, Barac M, Kuzmanovic P, Pavlica D, Arsic Arsenijevic V, Pucar A (2019). Subgingival areas as potential reservoirs of different *Candida* spp in type 2 diabetes patients and healthy subjects. *PloS one* 14: e0210527.
149. Alrabiah M, Alshagroud RS, Alsahhaf A, Almojaly SA, Abduljabbar T, Javed F (2019). Presence of *Candida* species in the subgingival oral biofilm of patients with peri-implantitis. *Clinical implant dentistry and related research* 21: 781–785.
150. Tanrıverdi Çaycı Y, Avan T, Birinci A, Vural Gür D, Bilgin K (2019). Trombositten Zengin Plazmanın Antimikrobiyal Etkinliği. *5 Ulusal Klinik Mikrobiyoloji Kongresi İZMİR*, p 296.
151. Robson MC (1997). Wound infection. A failure of wound healing caused by an imbalance of bacteria. *The Surgical clinics of North America* 77: 637–650.
152. Bjarnsholt T, Kirketerp-Møller K, Jensen PØ, Madsen KG, Phipps R, Krogfelt K, Høiby N, Givskov M (2008). Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 16: 2–10.
153. Phillips PL, Schultz GS (2012, June). Molecular Mechanisms of Biofilm Infection: Biofilm Virulence Factors. *Advances in wound care* 1.
154. Guschin A, Ryzhikh P, Rumyantseva T, Gomberg M, Unemo M (2015). Treatment efficacy, treatment failures and selection of macrolide resistance in patients with high

- load of *Mycoplasma genitalium* during treatment of male urethritis with josamycin. *BMC infectious diseases* 15: 40.
155. Wu X, Ren J, Yuan Y, Luan J, Yao G, Li J (2013). Antimicrobial properties of single-donor-derived, platelet-leukocyte fibrin for fistula occlusion: An in vitro study. *Platelets* 24: 632–636.
 156. Drago L, Bortolin M, Vassena C, Romanò CL, Taschieri S, Del Fabbro M (2014). Plasma components and platelet activation are essential for the antimicrobial properties of autologous platelet-rich plasma: An in vitro study. *PLoS ONE* 9: e107813.
 157. López C, Carmona JU, Giraldo CE, Alvarez ME (2014). Bacteriostatic effect of equine pure platelet-rich plasma and other blood products against methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*. An in vitro study. *Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology : VCOT* 27: 372–378.
 158. Cieslik-Bielecka A, Dohan Ehrenfest DM, Lubkowska A, Bielecki T (2012). Microbicidal properties of Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma/Fibrin (L-PRP/L-PRF): new perspectives. *Journal of biological regulators and homeostatic agents* 26: 43S-52S.
 159. Mariani E, Filardo G, Canella V, Berlingeri A, Bielli A, Cattini L, Landini MP, Kon E, Marcacci M, Facchini A (2014). Platelet-rich plasma affects bacterial growth in vitro. *Cytotherapy* 16: 1294–1304.
 160. Bielecki TM, Gazdzik TS, Arendt J, Szczepanski T, Król W, Wielkoszynski T (2007). Antibacterial effect of autologous platelet gel enriched with growth factors and other active substances: an in vitro study. *The Journal of bone and joint surgery British volume* 89: 417–420.
 161. Castro AB, Herrero ER, Slomka V, Pinto N, Teughels W, Quirynen M (2019). Antimicrobial capacity of Leucocyte-and Platelet Rich Fibrin against periodontal pathogens. *Scientific Reports* 9: 1–8.
 162. Joshi CP, Patil AG, Karde PA, Khedkar SU (2016). Autologous Platelet Rich Fibrin as a potential antiperiopathogenic agent : An in- vitro study 1: 50–54.
 163. Pinheiro ET, Gomes BPFA, Ferraz CCR, Sousa ELR, Teixeira FB, Souza-Filho FJ

- (2003). Microorganisms from canals of root-filled teeth with periapical lesions. *International endodontic journal* 36: 1–11.
164. Cardoso M, Sangalli J, Koga-Ito CY, Ferreira LL, da Silva Sobrinho AS, Nogueira LJ (2016). Abutment Coating With Diamond-Like Carbon Films to Reduce Implant-Abutment Bacterial Leakage. *Journal of periodontology* 87: 168–174.
 165. Flanagan D (2017). Enterococcus faecalis and Dental Implants. *The Journal of oral implantology* 43: 8–11.
 166. Browne V, Flewelling M, Wierenga M, Wilson A, Aprecio R, Richardson P, Angelov N, Johnson N (2012). Sterilization analysis of contaminated healing abutments and impression copings. *Journal of the California Dental Association* 40: 419–421.
 167. Molero G, Díez-Orejas R, Navarro-García F, Monteoliva L, Pla J, Gil C, Sánchez-Pérez M, Nombela C (1998). Candida albicans: genetics, dimorphism and pathogenicity. *International microbiology : the official journal of the Spanish Society for Microbiology* 1: 95–106.
 168. Demirbileki M, Timurkaynak F, Can F, Azap O, Arslan H (2007). [Biofilm production and antifungal susceptibility patterns of Candida species isolated from hospitalized patients]. *Mikrobiyoloji bulteni* 41: 261–269.
 169. Alsahhaf A, Al-Aali KA, Alshagroud RS, Alshiddi IF, Alrahlah A, Abduljabbar T, Javed F, Vohra F (2019). Comparison of yeast species in the subgingival oral biofilm of individuals with type 2 diabetes and peri-implantitis and individuals with peri-implantitis without diabetes. *Journal of periodontology* 90: 1383–1389.
 170. Karde PA, Sethi KS, Mahale SA, Khedkar SU, Patil AG, Joshi CP (2017). Comparative evaluation of platelet count and antimicrobial efficacy of injectable platelet-rich fibrin with other platelet concentrates: An in vitro study. *Journal of Indian Society of Periodontology* 21: 97–101.
 171. Kour P, Pudakalkatti PS, Vas AM, Das S, Padmanabhan S (2018). Comparative Evaluation of Antimicrobial Efficacy of Platelet-rich Plasma, Platelet-rich Fibrin, and Injectable Platelet-rich Fibrin on the Standard Strains of Porphyromonas gingivalis and Aggregatibacter actinomycetemcomitans. *Contemporary clinical dentistry* 9: S325–S330.

172. Jasmine S, A T, Janarthanan K, Krishnamoorthy R, Alshatwi AA (2020). Antimicrobial and antibiofilm potential of injectable platelet rich fibrin-a second-generation platelet concentrate-against biofilm producing oral staphylococcus isolates. *Saudi journal of biological sciences* 27: 41–46.
173. Şimşek B (2018). *Trombositlerin candida albicans üzerine antifungal etkinliğinin araştırılması* T. C. Sağlık Bilimleri Üniversitesi Gülhane Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kan Bankacılığı ve Transfüzyon Tıbbı Anabilim Dalı, Ankara.
174. Aydemir S, Coplu N, Gulay Z, Gur D, Hasdemir U, Karahan Z, Karatuna O, Kayacan ZC, Soyletir G (2016). Antibiyotik Duyarlılık Testleri, EUCAST: Uygulama, Yorum ve Uzman Kurallar. *Türk Mikrobiyoloji Cemiyeti Dergisi* 46: 1–206.
175. Özkaya E, Çalışkan A, Kirişçi Ö, Tümer S (2016). Distribution and Antifungal Susceptibilities of Candida Species Isolated from Blood Cultures at Kahramanmaraş Necip Fazıl City Hospital in the Last Three Years. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 46: 63–68.
176. Cieślík-Bielecka A, Bold T, Ziółkowski G, Pierchała M, Królikowska A, Reichert P (2018). Antibacterial Activity of Leukocyte- and Platelet-Rich Plasma: An In Vitro Study. *BioMed research international* 2018: 9471723.
177. Tohidnezhad M, Varoga D, Wruck CJ, Podschun R, Sachweh BH, Bornemann J, Bovi M, Sönmez TT, Slowik A, Houben A, et al. (2012). Platelets display potent antimicrobial activity and release human beta-defensin 2. *Platelets* 23: 217–223.
178. Nagaraja S, Mathew S, Jain N, Jethani B, Nambiar S, Kumari M, Nair S (2019). Study of antibacterial and antifungal efficacy of platelet-rich fibrin and platelet-rich fibrin matrix. *Journal of Conservative Dentistry* 22: 415–419.

EKLER

EK-1

	T.C. KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ KTÜ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURUL BAŞKANLIĞI
Sayı : 24237859- 174	21.01.2020
Konu: Etik Kurul onay belgesi	
Sayın; Dr. Öğr. Üyesi Erkan ŞÜKÜROĞLU Periodontoloji ABD.	
“Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrinin Oral Mikrobiyal Patojenler Üzerindeki Antimikrobiyal Etkinliğinin in vitro Ortamda Araştırılması” başlıklı etik kurul 2020/21 protokol numaralı çalışma önerisi raportör ve etik kurul görüşleri doğrultusunda; tıbbi etik açıdan uygun olduğuna karar verilmiştir.	
Bilginizi ve gereğini rica ederim.	
Prof. Dr. Faruk AYDIN Etik kurul Başkanı	
Ek: 1 adet onay belgesi	
61080 – Trabzon / TÜRKİYE Tel: +90 (462) 377 5403	Faks: +90(462)325 2270 Elektronik Ağ: www.ktu.edu.tr
Ayrıntılı Bilgi İçin İrtibat Şerafettin YILMAZ e posta: serafettinyilmaz@ktu.edu.tr	

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Soyadı, Adı : MUTLU, Turgay
Uyruğu : Türkiye Cumhuriyeti
Doğum Tarihi ve Yeri :
Telefon (İş) :
E-Posta :
Yazışma Adresi (İş) :

EĞİTİM BİLGİLERİ

Derece	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık	KTÜ Diş Hekimliği Fakültesi	2021
Lisans	Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	2015
Lise	İzmir Atatürk Lisesi	2010

AKADEMİK/MESLEKİ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl -Yıl)
1. Diş Hekimi	Beyaz Martı Özel Ağız ve Diş Sağlığı Merkezi	2015-2016

YABANCI DİL

İngilizce

UZMANLIK ALANI

Periodontoloji

