

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI



FARKLI DOZLARDA DOKSİSİKLİN İÇEREN T-PRE
MEMBRAN YAPISININ İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

FATMANUR EZGİ DOĞAN

TEZ DANIŞMANI
Dr. Öğr. Üyesi Esra Ateş YILDIRIM

BOLU, TEMMUZ - 2024

KABUL VE ONAY SAYFASI

Fatmanur Ezgi DOĞAN tarafından hazırlanan “**FARKLI DOZLARDA DOKSİSİKLİN İÇEREN T-PRF MEMBRAN YAPISININ İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Periodontoloji Anabilim Dalı’nda Uzmanlık Tezi olarak oy birliği/ oy çokluğuyla kabul edilmiştir. 10/07/2024

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Esra Ateş YILDIRIM
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Esra ERCAN
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğr. Üyesi Nuray ERCAN
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

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

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

Teze ilişkin Turnitin adlı programında enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı %30'u geçmemektedir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan 2023/246 sayısı ile etik izin alınmıştır.

FATMANUR EZGİ DOĞAN

ÖZET

FARKLI DOZLARDA DOKSİSİKLİN İÇEREN T-PRF MEMBRAN YAPISININ İN VİTRO OLARAK İNCELENMESİ

UZMANLIK TEZİ

FATMANUR EZGİ DOĞAN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DR. ÖĞR. ÜYESİ ESRA ATEŞ YILDIRIM)

BOLU, TEMMUZ - 2024

IX+100

Bu klinik çalışmanın amacı, hastalardan alınan kandan elde edilen T-PRF membranlara 0.5 ml, 1 ml ve 2 ml Doksisisiklin enjekte edilerek membranların ışık mikroskopuyla fibrin ağ paterni, antimikrobiyal aktivite, ilaç salınımı, degradasyon özelliklerini incelemek ve kontrol grubuyla karşılaştırmaktır.

Çalışmamız sağlıklı ve herhangi bir kanama bozukluğu olmayan toplam 15 birey üzerinde gerçekleştirildi. Elde edilen T-PRF membranlar degradasyonla bozunma miktarı, S.aureus ve P. aeruginosa bakterilerine karşı antibakteriyel aktivite, zamana bağlı ilaç salınım konsantrasyonu ve ışık mikroskopuyla fibrin ağ deseni parametrelerine göre değerlendirildi.

İstatistiksel analiz sonuçlarına göre, 0,5 ml, 1 ml, 2 ml ilaç yüklü T-PRF membranlar ilaç yüklenmeyen T-PRF membrana kıyasla degradasyon yüzdesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu ($p \leq 0,001$). İlaç yüklenen ve ilaç yüklenmeyen membranların fibrin ağ desen skorları kıyaslandığında ilaç yüklü T-PRF membranların fibrin ağ desen skorları anlamlı derecede daha yüksekti ($p \leq 0,001$). Antibakteriyel aktivite incelemesi sonucunda grupların tamamında P. aereginosa'ya karşı antibakteriyel etkinlik görülmedi. S. aureus'a karşı antibakteriyel etkinlik incelendiğinde 2 ml ilaç yüklü T-PRF membran grubunda daha yüksek inhibisyon alan çapı görüldü. 2 ml ilaç yüklemesi yapılan T-PRF membranların diğer ilaç yüklemesi yapılan membranlara kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda ilaç salınımına sahip olduğu görüldü.

ANAHTAR KELİMELER: Doksisisiklin, Lokal ilaç taşıyıcı sistem, T-PRF

ABSTRACT

IN VITRO INVESTIGATION OF T-PRF MEMBRANE STRUCTURE CONTAINING DIFFERENT DOSES OF DOXYCYCLINE

**MSC THESIS
FATMANUR EZGİ DOĞAN**

**BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY
FACULTY OF DENTISTRY
PERIODONTOLOGY
(SUPERVISOR: DR. ÖĞR. ÜYESİ ESRA ATEŞ YILDIRIM)**

**BOLU, JULY 2024
IX+100**

The aim of this clinical study was to inject 0.5 ml, 1 ml and 2 ml Doxycycline into T-PRF membranes obtained from blood collected from patients and to examine the fibrin network pattern, antimicrobial activity, drug release, degradation properties of the membranes by light microscopy and to compare them with the control group.

Our study was performed on a total of 15 healthy individuals without any bleeding disorder. The obtained T-PRF membranes were evaluated according to the amount of degradation by degradation, antibacterial activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa* bacteria, time-dependent drug release concentration and fibrin network pattern parameters by light microscopy.

According to the results of statistical analysis, 0.5 ml, 1 ml, 2 ml drug-loaded T-PRF membranes showed significantly lower degradation percentage compared to non-drug loaded T-PRF membranes ($p \leq 0.001$). When the fibrin network pattern scores of drug loaded and non-drug loaded membranes were compared, the fibrin network pattern scores of drug loaded T-PRF membranes were significantly higher ($p \leq 0.001$). Antibacterial activity examination revealed no antibacterial activity against *P. aeruginosa* in all groups. When antibacterial activity against *S. aureus* was examined, higher inhibition zone diameter was observed in the 2 ml drug loaded T-PRF membrane group. 2 ml drug-loaded T-PRF membranes did not show higher inhibition area diameter than other drug-loaded T-PRF membranes.

KEYWORDS: Doxycycline, Local Drug Delivery System, T-PRF

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	10
FOTOĞRAF LİSTESİ	11
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	12
TEŞEKKÜR	14
1. GİRİŞ.....	15
2. GENEL BİLGİLER	16
2.1 PERİODONTAL HASTALIK VE ETİYOLOJİSİ	16
2.1.1 Periodontal Hastalıkların Tedavisi	18
2.1.2 Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi	18
2.1.3 Periodontal Hastalıkların Cerrahi Tedavisi	19
2.2 ANTİBİYOTİKLER.....	19
2.2.1 Periodontal Tedavide Antibiyotik Kullanımı	19
2.2.2 Periodontal Tedavide Kullanılan Sistemik Antibiyotikler	20
2.2.3 Sistemik Antibiyotiklerin Avantajları	22
2.2.4 Sistemik Antibiyotiklerin Dezavantajları	22
2.2.5 Periodontal Tedavide Lokal Antibiyotiklerin Kullanımı.....	23
2.3 ANTİBİYOTİKLER.....	25
2.3.1 Tetrasiklinler.....	25
2.4 LOKAL İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER	27
2.4.1 Fiberler	28
2.4.2 Filmler	29
2.4.3 Jeller	32
2.4.4 Mikropartiküller	33
2.4.5 İrrigasyon Solüsyon Sistemleri.....	34
2.4.6 Biyoabsorbe Dental Materyaller.....	35
2.4.7 Nanopartikül Taşıyıcı Sistemler	36
2.5 DÜŞÜK DOZ DOKSİSİKLIN(DDD).....	37
2.6 TROMBOSİTTEN ZENGİN ÜRÜNLER.....	39
2.6.1 Trombositten Zengin Ürünlerin Tarihçesi	39
2.7 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin İçeriği.....	41
2.7.1 Trombositler	41

2.7.2 Lökositler.....	42
2.7.3 Büyüme Faktörleri.....	42
2.7.4 Sitokinler	44
2.7.5 Fibrinojen ve Fibrin	44
2.8 TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA (TZP/PRP)	45
2.9 Trombositten Zengin Fibrin (PRF/L-PRF).....	46
2.9.1 İleri Trombositten Zengin Fibrin(A-PRF).....	49
2.9.2 Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin(İ-PRF).....	49
2.9.3 Konsantre Büyüme Faktörü (CGF)	50
2.9.4 Titanyum Trombositten Zengin Fibrin(T-PRF\T-TZF)	51
2.10 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları.....	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM	54
3.1 Çalışma Tasarımı ve Yönetimi	54
3.2 Trombosit ve Tam Kan Sayımı Yapılması	55
3.3 Bireylerden Kan Alınması	55
3.4 T-PRF'nin Elde Edilmesi	56
3.5 T-PRF Membranlara Doksisisiklin Yüklenmesi	58
3.6 T-PRF Membranların Degredasyonu	59
3.7 Histolojik İnceleme.....	60
3.8 T-PRF Membranların Antibakteriyel Etkinliğinin İncelenmesi	62
3.9 T-PRF Membranların İlaç Salınımlarının İncelenmesi	64
3.10 İstatiksel Analiz.....	66
4. BULGULAR	67
4.1 Demografik Bulgular	67
4.2 Hastaların Kan Parametrelerinin Karşılaştırılması	67
4.3 Degredasyon Verileri.....	68
4.4 Fibrin Ağ Deseni Skoru	69
4.5 Işık Mikroskobu Altında Histolojik İnceleme Sonuçları.....	70
4.6 Antibakteriyel Aktivite	71
4.7 İlaç Salınımı.....	72
5. TARTIŞMA	74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	83
7. KAYNAKLAR.....	84
8. EKLER.....	100

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1: Periodontitis Tedavisinde Lokal İlaç Taşıyıcı Sistemler.....	28
Şekil 4.1: <i>S.aureus</i> 'a gelişen inhibisyon alan çaplarının (mm) grafiği.....	72
Şekil 4.2: Farklı dozlarda yüklü T-PRF membranların zamana bağlı ilaç salınım konsantrasyonları (µg/ml)	73



TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 4.1: Çalışmaya katılan bireylerin demografik bilgileri	67
Tablo 4.2: Bireylerin kan parametreleri	68
Tablo 4.3: T-PRF membranların degradasyon verilerinin ortalaması	69
Tablo 4.4: Fibrin ağ desen skorlarının birey sayısına göre dağılımı	69
Tablo 4.5: Bireylerin fibrin ağ desen skorlarının ortalaması	70
Tablo 4.6: <i>S. aureus</i> 'a gelişen inhibisyon alan çaplarının(mm) ortalaması	71



FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1: Bireylerden kan alınması.	56
Fotoğraf 3.2: IntraSpin™ masa üstü santrifüj cihazı	57
Fotoğraf 3.3: Prf Kutusu	58
Fotoğraf 3.4: T-PRF Membranların Elde Edilmesi	58
Fotoğraf 3.5: T-PRF Membranlara Doksisisiklin Enjekte Edilmesi	59
Fotoğraf 3.6: T-PRF membranların ağırlık ölçümü için kullanılan cihaz.	60
Fotoğraf 3.7: T-PRF membranların orbital çalkalama cihazındaki yerleşimi .	60
Fotoğraf 3.8: A: T-PRF membranın doku kasetine koyulmuş görüntüsü, B: Parafin bloklara gömülmüş T-PRF'nin görüntüsü, C: Parafin bloklardan kesit elde eden mikrotom cihazı (Leica RM2255).....	62
Fotoğraf 3.9: Disk difüzyon tekniğiyle S. aureus antibakteriyel aktivitesinin incelenmesi.....	63
Fotoğraf 3.10: Disk difüzyon tekniğiyle P. aeruginosa'nın antibakteriyel aktivitesinin incelenmesi	64
Fotoğraf 3.11: A: Doksisisiklin yüklü T-PRF membranların Falcon tüplerine yerleştirilmiş görüntüsü B: 37 °C'ye ayarlanmış inkübatör cihazı C: Falcon tüplerinden belirli aralıklarda numunelerin alınması	65
Fotoğraf 3.12: İlaç salınımların incelendiği cihaz (Specord® 210 Plus)	65
Fotoğraf 4.1: A: İlaç yüklenmemiş T-PRF membranın ışık mikroskopunda x400'lük büyütmedeki görüntüsü B:0.5 mL ilaç yüklü T-PRF membranın ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüsü C: 1 mL ilaç yüklü T-PRF membranın ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüsü D: 2 mL ilaç yüklü T-PRF membranın ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüsü	70

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

µg/ml	: mikrogram/mililitre
ADA	: American Dental Association (Amerikan Diş Hekimi Birliği)
ADP	: Adenozin Difosfat
A-PRF	: İleri Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin
ATP	: Adenozin Trifosfat
CGF	: Konsantre Büyüme Faktörü
DDD	: Düşük Doz Doksisiklin
dk	: dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DOS	: Dişeti Oluğu Sıvısı
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
HCl	: Hidroklorik asit
IGF	: İnsülin Kaynaklı Büyüme Faktörü
IL	: İnterlökin
I-PRF	: Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin
IZD	: Inhibition Zone Diameter (İnhibisyon Alan Çapı)
L-PRF	: Lökosit ve Trombositten Zeengin Fibrin
mg	: miligram
mg/ mL	: miligram/mililitre
mL	: Mililitre
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
mRNA	: Haberci RNA
MWF	: Modifiye Widman Flap

nm	: nanometre
NMP	: N-Metil-2-Pirolidon
NP	: Nano Partiküller
PBS	: Phosphate Buffered Salina (Fosfat Tamponlu Tuzlu Su)
PGE2	: Prostoglandin E2
pH	: Power of Hydrogen (Hidrojenin Gücü)
PLA	: Polilaktik Asit
PLGA	: Poli-Laktik Glikolik Asit
PRF	: Plateletten Zengin Fibrin
PRP	: Trombositten Zengin Plazma
RNA	: Ribonükleik asid
rpm	: Revolutions per Minute (Dakikadaki Devir Sayısı)
TGF-β	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TIMP-1	: Matriks metalloproteinaz doku inhibitörleri
TNF	: Tümör Nekrotizan Faktörü
T-PRF	: Titanyum Trombositten Zengin Fibrin
tRNA	: Taşıyıcı RNA
TZP	: Trombositten Zengin Plazma
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
Uv	: Ultraviyole

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında ve doktora eğitimim boyunca bilgi birikimi ve tecrübeleriyle bana rehber olan, yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Esra ATEŞ YILDIRIM 'a sonsuz saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamın yönlendirilmesinde katkılarda bulunan tez izleme jüri üyesi olan Sayın Prof. Dr. Esra ERCAN ve Sayın Prof. Dr. Mustafa TUNALI'ya,

Uzmanlık eğitim sürecinde ilgi ve desteğini esirgemeyen, tecrübe ve bilgilerinden faydalandığım hocalarım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Nuray ERCAN'a, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Bilge Meracı YILDIRAN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Zeynep AKGÜL'e,

Asistanlık hayatım boyunca birçok şey paylaştığım ve benim için dosttan öte olan sevgili arkadaşlarım Arş. Gör. Dt. İlayda VAROL'a, Arş. Gör. Dt. Hatice Aysim LEYMUN'a, Arş. Gör. Dt. Işıl YALÇIN BİLKE'ye ve Arş. Gör. İsmail Furkan GÜNEY'e,

Uzmanlık öğrenimim boyunca gösterdikleri anlayış için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Periodontoloji Anabilim Dalı çalışanlarına, tezimde emeği çok olan Arş. Gör. Utku BÖCÜOĞLU'na ve tüm asistan arkadaşlarıma,

Tüm hayatım boyunca maddi, manevi desteğini benden hiç esirgemeyen, bana her zaman güvenen ve bugünlere gelmemi sağlayan canım annem Hülya DOĞAN'a, birtanecik babam Mehmet DOĞAN'a ve güzeller güzeli kardeşim Bengüsu DOĞAN'a,

Benim için çok değerli olan, zor zamanlarımda desteğini esirgemeyen, bu zor süreçte ılımlı tavrıyla beni sakinleştiren, sevgisini her zaman yanımda hissettiğim erkek arkadaşım Emre DİLBAZ'a teşekkürü bir borç bilirim.

1. GİRİŞ

Antibiyotikler, gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerin neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde etkili bir seçenek olarak kullanılmaktadır. Tedavide yardımcı olan antibiyotikler, lokal veya sistemik olarak uygulanabilir (1).

Sistemik ilaç kullanımının, sistemik yan etkilerin varlığı, yeterli konsantrasyonlara ulaşamama sorunu ve ilaçların yeterli süre boyunca istenilen düzeyde salınımının gerçekleşmemesi gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu dezavantajları elimine etmek için lokal antibiyotikler geliştirilmiştir. Lokal antibiyotikler sistemik antibiyotiklere kıyasla periodontal cepte daha yüksek konsantrasyonlara ulaşır daha uzun süre bu konsantrasyon miktarını korumakta ve sistemik yan etkilere yol açmamaktadır (2).

Doksisiklin, 1980'li yıllardan bu yana periodontal hastalıkların tedavisinde sistemik bir antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Sistemik olarak kullanılan doksisiklin, diş eti oluğu sıvısında yoğunlaşma sağlayarak *Actinobacillus actinomycetemcomitans*'ı ortadan kaldırma yeteneğine sahiptir ve diğer periodontal patojenlere karşı geniş bir etkinlik spektrumu sergiler. Doksisiklin, tetrasiklin ailesinden bir antibiyotiktir ve diş eti oluğu sıvısında serum konsantrasyonunun 2-10 katı kadar yüksek konsantrasyona ulaşabilmesi ve diş eti iltihabından kaynaklanan doku tahribatını engelleyebilmesi nedeniyle periodontal tedavide sıkça tercih edilir. Antibakteriyel etkisinin yanı sıra antikollajenolitik etkisi ve kemik yıkımının inhibisyonu gibi ek etkileri bulunmaktadır. Son zamanlarda, doksisiklinin hem sement hem de dentin için önemli olduğu belirlenmiştir; bu da kök yüzeylerinde doksisiklinin birikmesi ve ardından yavaş salınımı için bir substrat görevi görebileceğini öne sürmektedir (3).

Platelet Zengin Fibrin (PRF), yumuşak ve sert doku rejenerasyonunu hızlandırmak için sıkça kullanılan otolog bir üründür. Choukroun ve ekibi tarafından Fransa'da 2001 yılında tanımlanan PRF, antikoagülan içermeyen kanın vakumlu tüplerde 12 dakika boyunca 2700 rpm'de santrifüj edilmesiyle elde edilir (4). 2006 yılında Sacco ve ekibi, daha fazla büyüme faktörü ve yoğun bir fibrin matris elde etmek amacıyla kanı 2400-2700 rpm aralığında değişik hızlarda 12

dakika boyunca santrifüj ederek konsantre büyüme faktörü (CGF) geliştirmiştir (5). Choukroun'un PRF'si zengin lökosit içeriğinden dolayı L-PRF olarak adlandırılmaktadır. 2014 yılında Choukroun ve ekibi, kanı 1500 rpm'de 14 dakika boyunca santrifüj ederek L-PRF'ye kıyasla daha fazla lökosit içeren ve trombositlerden zengin bir fibrin olan ileri Lökosit Zengin Fibrin (A-PRF) geliştirmiştir (6). L-PRF ile başarılı sonuçlar elde edilse de, O'cencello ve ark. cam tüplerdeki silika aktivatörlerinin fibrin matriksini bozabileceğini ve bu silika partiküllerinin hastalara geçebileceğini bildirmişlerdir. Bu nedenle, Tunalı ve ekibi 2013 yılında antikoagülan içermeyen titanyum tüp kullanarak Titanyum Trombosit Zengin Fibrini (T-PRF) geliştirmiştir (7). T-PRF, L-PRF'ye kıyasla daha sıkı ve olgun bir fibrin yapısına sahiptir ve cam kaplı plastik tüplerden kana geçebilecek silikanın olumsuz etkilerini önlemektedir. PRF, yara iyileşmesini hızlandırmak, rejenerasyonu artırmak, antimikrobiyal etkinlik sağlamak amacıyla diş hekimliğinde kullanılmaktadır (8).

Lokal ilaç taşıyıcı sistemlerin birçoğunun ikinci bir cerrahi ile tekrar uzaklaştırılmak zorunda olması, otolog olmaması dezavantajlarının arasında yer almaktadır. Bu gibi nedenlerden dolayı çalışmamızda otolog bir materyal olan T-PRF'nin antibiyotiklerle kombine edilerek yeni bir lokal ilaç taşıyıcı sistemi olarak kullanabileceğini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 PERİODONTAL HASTALIK VE ETİYOLOJİSİ

Periodonsiyum diş eti, periodontal ligamentler, sement ve alveol kemiğinden oluşan, dişlerin fonksiyonlarını sürdürmesi için gerekli desteği sağlayan bir yapıdır (9).

Periodontal hastalık, diş yüzeyinde çeşitli özel mikroorganizmaların neden olduğu bakteriyel birikime cevap olarak diş destek dokularının yıkımı ile karakterize kronik bir hastalıktır (10) Periodontitisin etiyolojisinde primer faktör mikrobiyal dental plakdır. Hastalığın ilerleyişi ve şiddetinde konak modülasyonunun rolü çok önemlidir. Literatürdeki ilk mikrobiyolojik çalışmalar periodontitisli mikrobiyota ile sağlıklı mikrobiyota arasında farklılıklar olduğu

düşüncesine odaklanmışlardır. Bu çalışmalara göre, periodontitisin sağlık durumunda florada bulunmayan veya çok az sayıda bulunan; periodontitisli florada ise çok sayıda bulunan patojen bakterilerden kaynaklandığı düşünülmektedir (11). Kronik enflamatuvar bir hastalık olan periodontitis aynı zamanda diyabet, sigara kullanımı, oklüzal travma, stres gibi lokal ve sistemik faktörler tarafından modifiye edilmektedir. Bu sebeple konak cevabın yanında hastalığı modifiye eden etkenler, hastalığın gelişimi üzerindeki etkileri sebebiyle elimine edilebilmelerinin öneminin yüksek olduğu bilinmektedir (12,13)

Mikrobiyal dental plak ve konak arasındaki dengenin plak lehine bozulması sonucunda periodontal hastalık oluşmaktadır. Page ve Schroeder 1976 yılında gingival ve periodontal hastalığın gelişiminde bağışıklık yanıtını klinik ve histolojik çalışmalar sonucunda dört aşama olarak sınıflandırmıştır(14).

Birinci aşama başlangıç lezyonudur. Bu aşamada klinik olarak gözlemlenebilen enflamatuvar bir değişiklik yoktur fakat histolojik olarak değişiklik gözlemlenebilmektedir. Konakta oluşan ilk cevap damarda vazodilatasyon ve damar geçirgenliğinde artıştır. Bu şekilde damardan etkilenen bölgeye savunma hücrelerinin ulaşımı kolaylaşır (15).

Başlangıç lezyonunun ilerlemesinin sonucunda erken lezyon meydana gelmektedir. Enflamasyonun klinik bulguları bu aşamada görülmektedir. Bağ dokusunda nötrofillerin sayısında artış gözlemlenirken, makrofajlar, lenfositler, plazma hücreleri ve mast hücreleri de ortaya çıkmaya başlamaktadır. Başlangıç lezyonunun ilerlemesiyle yerleşik lezyona dönüşmesi konağın duyarlılığı ve mikrobiyal virülans ile belirlenir. Plazma hücrelerinin daha baskın olduğu yerleşik lezyon, akut enflamasyonun çözülemediği ve kronikleştiği evredir. Bu aşamada mikrobiyal biyofilmin ortadan kaldırılması ile değişiklikler tersine çevrilebilmektedir (16).

Periodontitise geçiş evresi olarak bilinen ilerlemiş lezyonda bağlantı epitelinin apikale migrasyonu gerçekleşmektedir. Periodontal cep derinleşir bunun sonucunda cep içerisinde anaerobik bir ortam oluşur. Alveolar kemik ve bağ dokusu ataçman kaybı meydana gelmektedir. Ekstraselüler matriks yıkımında görevli olan

matriks metalloproteinazlar bu evrede yoğun miktarda bulunarak doku bütünlüğünü bozmaktadırlar. Özellikle MMP-8 ve MMP-9'un periodontal hastalık patogenezinde önemli bir yeri bulunmaktadır (17).

2.1.1 Periodontal Hastalıkların Tedavisi

Periodontal tedavi; supragingival veya subgingival bölgedeki bakteriyel depozit alanlarının ve diş taşlarının el aletleri, ultrasonik ya da sonik aletlerle, cerrahi ya da cerrahi olmayan tekniklerle elimine edilmesi ve plak kontrolü esasına dayanmaktadır. Mekanik tedavi için kullanılan aletlerin avantaj ve dezavantajlarını kıyaslayan çalışmalar yapılmış ve bu tekniklerin klinik sonuçları benzer bulunmuştur. Sonik ve ultrasonik aletler, el aletlerine göre daha kısa sürede temizlik yapabilmeleri açısından daha avantajlı bulunmuştur (18).

Genel tedavi planlaması; sistemik faz, akut faz, sebebe yönelik tedavi fazı, cerrahi faz, idame fazı olmak üzere 5 fazdan oluşmaktadır (19).

2.1.2 Cerrahi Olmayan Periodontal Tedavi

Cerrahi olmayan periodontal tedavide patojenik biyofilmin uzaklaştırılması, biyofilm oluşumuna neden olan faktörlerin elimine edilmesi ve inflamasyonun giderilmesi amaçlanmaktadır. Gingivitisin tedavisi profesyonel plak uzaklaştırması ile sağlanır. Antiseptik ajanlar da plak oluşumunu önlemek için yardımcı bir tedavi aracı olarak kullanılabilir.

Cerrahi olmayan mekanik tedavi ile patojenik biyofilmin uzaklaştırılması, yardımcı olarak antimikrobiyaller veya antienflamatuvar ajanlar kullanılması, devamında kişisel plak uzaklaştırması işlemi periodontal tedavide önemli prosedürlerdir (19).

Cerrahi olmayan periodontal tedavi sonrası, dokulardaki enflamasyonun kontrol altına alınması sağlanır ve sondalamada kanamada azalma, diş eti çekilmesi, klinik ataşman kazancına bağlı cep derinliğinde azalma ile sonuçlanmaktadır.

2.1.3 Periodontal Hastalıkların Cerrahi Tedavisi

Diş taşının ve periodontal cep derinliğinin fazla olduğu, kök anatomisinin uygun olmadığı durumlarda başlangıç periodontal tedaviyi takiben kök yüzeyi istenilen düzeyde temizlenemeyebilir. Periodontal cebin yumuşak doku duvarı rezeke edilerek ve kök yüzeyinin erişilebilirliğini arttırarak bu sorunlar çözülebilir (20). Cerrahi olmayan tedavilerin yetersiz olduğu durumlarda ise kök yüzeyini değerlendirmek için cerrahi tedaviler tercih edilir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar, derin periodontal ceplerde flep tekniklerinin sondalama derinliğinde azalmaya ve klinik ataşman kazancında artışa neden olduğunu göstermiştir (21).

Periodontal flep tekniklerinin kullanımının sonucunda kök yüzeyine erişim artırılır, sondalamada cep derinliği azalır ve hastanın plak kontrolünü rahat bir şekilde yapması sağlanır. En sık kullanılan flep tekniklerinden biri ise Modifiye Widman flep (MWF) tekniğidir.

2.2 ANTİBİYOTİKLER

2.2.1 Periodontal Tedavide Antibiyotik Kullanımı

Periodontal hastalıkların etiyolojisinde önemli bir etken olan mikrobiyal dental plağı elimine edebilmek için tedavide antibiyotiklerin kullanımı düşünülmüştür. Spesifik bakterilerin de belirlenmesiyle hastalığın antibiyotik ile tedavi edilebileceği düşünülmüştür (22). Bu zamana kadar yapılan çalışmalar ile antibiyotiklerin tek başlarına periodontitis tedavisinde yeterli olamayacağı gösterilmiştir. Özellikle periodontal tedaviye ek olarak uygulanabileceği bildirilmiştir (23) (24).

Standart periodontal tedavi rejimlerine ek olarak antibiyotik tedavisine ilginin artması, 1970'lerin sonlarında bazı bakterilerin sıklıkla hastalık süreciyle ilişkili olduğunun anlaşılmasıyla başlamıştır. Varsayılan periodontal patojenlere yönelik

antimikrobiyal tedavinin eklenmesinin, periodontal hastalıkların tedavisini geliştirme fırsatı sunacağı düşünülmüştür (25). Titiz ağız hijyeni önlemleriyle birlikte uygulanan mekanik ve cerrahi tedaviler periodontal yıkımı kontrol etmede genellikle başarılı olmuştur. Fakat zamanla klinisyenler, bazı hastaların ideal oral hijyeni sağlamasına rağmen periodontal yıkım yaşamaya devam ettiğini fark etmiştir. Bazı durumlarda, antibiyotik tedavisinin konvansiyonel periodontal tedaviyle birlikte kombinasyonu, tek başına konvansiyonel tedaviyle elde edilemeyen olumlu bir klinik yanıt vermiştir. Periodontitis tedavisi, birçok bakteriyel enfeksiyonun tedavisinden oldukça farklıdır. Mevcut bakteri florası her zaman heterojen, nispeten karmaşıktır ve her hastada değişiklik gösterebilir. Tek bir bakteri türünün varlığı veya yokluğu nadiren hastalığın varlığıyla doğrudan ilişkilendirilebilir (26).

Periodontal tedavinin başarısında diş eti anatomisi, hastaya ve hekime bağlı birçok sınırlamalar mevcuttur. Dişin ve kök yapısının anatomisi, dişin furkasyon yapısı, derin ve dar ceplerin bulunması tedaviyi zorlaştırarak mekanik tedavinin etkisini azaltmaktadır (27). Başlıca patojenlerden olan *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bağ dokusuna, *Prevotella intermedia* ve *Porphyromonas gingivalis* epitel hücrelerine, invaze olması ve oral mukoza ve dil üzerinde bulunmakta olan biyofilm tabakasını oluşturması nedeniyle periodontal tedaviye yardımcı olarak antibiyotik kullanımı düşünülmüştür (28) (29).

Montiero ve arkadaşları, diş hekimlerinin periodontal hastalıklar için sistemik antibiyotik kullanımını değerlendiren bir anket yapmış ve birçok diş hekiminin, literatürdeki kanıtlara rağmen, sistemik antibiyotikleri hâlâ yanlış kullandığını tespit etmiştir. (30).

2.2.2 Periodontal Tedavide Kullanılan Sistemik Antibiyotikler

Sistemik antimikrobiyal tedavinin kullanıldığı durumlar, yeterli konvansiyonel tedaviden sonra ataçman kaybı meydana gelen hastalar, agresif periodontitis formları olan predispozan tıbbi durumlar veya dirençli periodontitistir. Antibiyotik tedavisi, periodontal apse ve akut nekrotizan diş eti iltihabı/periodontitis gibi akut veya ciddi periodontal enfeksiyonlarda da faydalıdır.

Sistemik antibiyotikler serum aracılığı ile derin periodontal cep tabanına, furkasyon bölgelerine, diş eti epiteline ve bağ dokusuna invaze olan mikroorganizmalara etkilidirler (31).

Penisilinler birçok periodontal patojene karşı in vitro olarak aktiftir, ancak subgingival bölgelerde beta-laktamazların yüksek prevalansı nedeniyle in vivo etkinliğinin azaldığı gösterilmiştir (32). Beta-laktamazlar, periodontal ceplerde patojen türler veya subgingival florada bulunan organizmalar tarafından üretilmektedir. Her iki durumda da penisilinlerin periodontal enfeksiyonu çözmesi önlenmektedir. Beta-laktamaz inhibitörlerini içeren penisilin formülasyonları periodontal enfeksiyonların tedavisinde faydalar sağlamaktadır. Ancak penisilinaz üretimiyle ilgisi olmayan *A. actinomycetemcomitans*'ın penisiline dirençli suşlarının varlığı penisilin kullanımı sınırlandırmaktadır (33).

Tetrasiklin türevleri, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* ve *P. intermedius* gibi birçok periodontal patojene karşı yüksek antibakteriyel aktivite gösterir. Tetrasiklinler, periodontal ceplerde serumdan 2-4 kat daha fazla seviyede birikir. Ayrıca, kök yüzeylerine güçlü bir şekilde bağlanır ve uzun süre aktif formda salınır. (34). Tetrasiklinlerin ölümcül olmayan konsantrasyonları, *P. gingivalis* ve *P. intermedius* dahil olmak üzere hastalıkla ilişkili bir dizi bakterinin yapışmasını ve birlikte toplanma özelliklerini azaltır (35). Tetrasiklinlerin antimikrobiyal olmayan faydaları arasında kollajenolitik enzimlerini inhibe etme yeteneği ve kök yüzeylerini veya fibroblastları iyileştirme yeteneği yer alabilir (36) (37).

Metronidazolün anaerobik bakterileri öldürme yeteneği periodontal tedavide kullanılmasına yol açmıştır (38). *A. actinomycetemcomitans*, *E. corrodens* ve *Capnocytophaga* fakültatif anaerobik bakterilerdir ve in vitro olarak metronidazole düşük duyarlılık gösterirler. Metronidazolün hidroksi metabolitleri, ilacın fakültatif organizmalara karşı antibakteriyel etkinliğini artırmaktadır (39). Buna karşın, *Fusobacterium nucleatum*, metronidazolu metabolik olarak tüketebilir böylelikle diğer subgingival organizmaları korumuş olur. (40).

Siprofloksasin, gram-negatif ve gram-pozitif fakültatif bakterilere karşı etkili olan, yeni geliştirilmiş bir oral geniş spektrumlu kinolondur. (41). Bu ilaç özellikle

Enterobacteriaceae ve *Pseudomonadaceae*'nın neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılır.

Eritromisinin periodontolojide kullanımı oldukça sınırlıdır, çünkü bu ilaç diş eti oluğu sıvısına çoğu periodontal organizmayı engelleyecek yeterli seviyede ulaşamaz (42).

2.2.3 Sistemik Antibiyotiklerin Avantajları

Sistemik antimikrobiyal ajanların lokal antimikrobiyal ajanlara ve mekanik periodontal tedaviye göre birçok avantajı bulunmaktadır. Serum aracılığıyla derin ceplere invaze olmuş ve furkasyon alanlarına yerleşmiş mikroorganizmalara da etkili olurlar (43).

Sistemik antibiyotikler ağız mukozasında ve diş eti dokusu harici dokularda kolonize olmuş bakterileri de uzaklaştırarak, tekrar bakteri birikimini de engellemektedirler (44).

Sistemik antibiyotik tedavisinin lokal antibiyotik tedavisine göre birçok avantajı vardır. Sistemik tetrasiklin uygulaması *A. actinomycetemcomitans*'ı ortadan kaldırabilir (45), ancak lokal olarak uygulanan tetrasiklin bunu yapamaz (46). Ayrıca sistemik antibiyotik tedavisi, patojenleri sadece periodontal lezyonlarda değil, aynı zamanda ağız boşluğunda da inhibe edebilir. Periodontal patojenleri oral bölgeden yok etme olasılığı önemli profilaktik faydalar sağlamaktadır (45).

2.2.4 Sistemik Antibiyotiklerin Dezavantajları

Periodonsiyum için riskleri olan sistemik antibiyotik tedavisinin, penisilin ve tetrasikline direnç geliştirmiş bakteri kolonizasyonunda artış meydana getirdiği tespit edilmiştir. Sistemik antibiyotiklerin uzun veya tekrarlanan kullanımı, süper enfeksiyon oluşumuna yardımcı olabilir ve fırsatçı patojenlere ortam sağlayabilir. Bu durum sistemik yan etkilere neden olabilmektedir (43).

Reçete edilen sistemik antibiyotiklerin doz rejimine uygunluk gösteren hastaların %60 oranında olması ve kalan %40'lık kesimin ise ilacı erkenden bırakmasına neden olarak meydana gelebilecek antibiyotik direnç mekanizmasının tehlikeli bir süreç olması daha önemlidir. Kullanımı bırakılan antibiyotiklerin hastaların kendilerine göre tekrar doz ayarlaması yapılmadan kullanmaya başlaması dirençli mikroorganizmaları artırmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda antibiyotik reçete edildikten sonra hastanın bu konuda bilgilendirilmesi veya kullanımı daha kolay olan antibiyotiklerin tercih edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Antibiyotiklerin gereğinden fazla reçete edilmesi sistemik antibiyotiklere karşı direnç oluşturmaya neden olurken hastanın hangi sıklıkta ve nasıl kullandığı da direncin oluşmasında önemlidir (47).

2.2.5 Periodontal Tedavide Lokal Antibiyotiklerin Kullanımı

Periodontitisin mekanik tedavisinde özellikle erişilemeyen alanlarda, periodontal cepteki bakterileri ortadan kaldırmak için tek başına mekanik debridman ve kök yüzeyi düzleştirme yetersiz olduğundan, antibiyotikler (hem sistemik hem lokal) uzun yıllardan beri periodontal hastalığın tedavisinde yardımcı ajanlar olarak kullanılmaktadır (48). Ancak herhangi bir sistemik antibiyotiğin tekrarlanan ve uzun süreli kullanımı, dirençli suşların gelişme riski, sekonder enfeksiyon olasılığı ve hasta uyumu eksikliği gibi komplikasyonlara neden olabilir (49).

Periodontitis lokal bir hastalık olduğundan, sistemik antibiyotik kullanımına bağlı komplikasyonları önlemek için lokal antimikrobiyal tedavi tercih edilir. Periodontal tedavinin başarısı, uygun antimikrobiyal ajanın seçimine ve doğru uygulama yöntemine bağlıdır. Lokal antimikrobiyal tedavi, minimal yan etkileri ve hasta uyumuyla, sistemik tedaviye göre diğer avantajlara sahiptir (48–50).

Çeşitli çalışmalar periodontal ceplere lokal antimikrobiyal tedavinin sistemik uygulamaya kıyasla daha yüksek terapötik antibiyotik konsantrasyonları sağlayabildiğini ortaya çıkarmıştır (50,51). Lokal antibiyotikler arasında tetrasiklin, doksisisiklin, minosiklin, metronidazol, klorheksidin , klaritromisin, azitromisin, moksifloksasin, klindamisin ve satranidazol günümüzde periodontal hastalıkların

tedavisinde irrigasyon, fiber, film, enjekte edilebilir, jel, şerit, kompakt, veziküler lipozom, mikropartikül ve nanopartikül sistemleri gibi çeşitli ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılmaktadır (51).

Antimikrobiyal ajanların periodontal cebe lokal olarak verilmesinin, geleneksel periodontal tedaviye yardımcı olarak mükemmel bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Farklı ajanlar için diş macunları (52), ağız gargaraları (53), diş jelleri (54), irrigasyon cihazları (55) ve profesyonel enjeksiyon uygulamaları gibi birçok lokal ilaç taşıyıcı sistemler denenmiştir.

Klinik takip çalışmaları ile periodontal hastalıkların kontrolünde ağız gargarası olarak birçok antimikrobiyal ajan denenmiş ancak hiçbirinin in vivo lokalizasyonu sağlamada klorheksidinden daha etkili olduğu kanıtlanmamıştır (53). Ağız çalkalama suyu olarak uygulandığında klorheksidin periodontal cebe ulaşmaktadır (56). Ağız gargaraları ve diş macunları, ilacın dokularla temasının kısa olması ve periodontal cebe nüfuz etmemesi nedeniyle etkisizdir. Antimikrobiyal ajanların periodontal cebe günlük olarak iletilmesi için oral irrigatörlerin kullanılmasına yönelik girişimlerde bulunulmuştur. Bu şekilde klorheksidinin subgingival irrigasyonu cepteki bakteriyel kolonizasyonu geciktirir. Günlük olarak uygulanan %0.02 klorheksidin glukonat çözeltisi ile oral irrigatör, subgingival mikroflorada ek bir azalmaya ve diş plağının tamamen azalmasına katkı sağlamıştır (57).

Amin florür stannöz florür jelinin subgingival irrigasyonla etkinliği çeşitli klinik çalışmalarda araştırılmıştır (58). Günlük subgingival irrigasyonun rutin oral hijyen ile birlikte, subgingival bölgenin sağlıklı bir duruma dönüşümünde etkili bir prosedür olduğu iddia edilmiştir (58,59).

Dental jellerin daha doğru doz uygulamasına ve daha uzun etki süresine olanak tanıdığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada metronidazolün lokal jel uygulaması (%25) subgingival diş taşı temizliği ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fakat klinik olarak anlamsız bir farka sahip olduğu görülmüştür (54). Aynı uygulama cihazını kullanarak, klinik ve mikrobiyolojik parametrelerin, subgingival ölçeklendirmeye karşılaştırıldığında büyük ölçüde iyileştiği bulunmuştur (60). Minosiklin hidroklorik asit (HCl) merhem ve topikal tetrasiklin

macunlarının lokal subgingival uygulamasının birçok çalışmada klinik ve mikrobiyolojik parametrelerde sadece sınırlı iyileşmeler sağladığı vurgulanmıştır (61).

2.3 ANTİBİYOTİKLER

2.3.1 Tetrasiklinler

Tetrasiklinler gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere, riketsiyalara, mikoplazmalara, klamidyalara ve spiroketlere etkili geniş spektrumlu bakteriyostatik antibiyotiklerdir. Viral veya fungal enfeksiyonlarda etki göstermezler (62).

Bu antibiyotik grubunun kimyasal yapısının temeli, alkali ortamdaki zayıf çözünürlük ve dayanıklılık gibi fiziksel özelliklerini etkileyen dört halkalı tetrasiklin yapısıdır. Tetrasiklinlerin etki mekanizması, bakteri hücrelerinde fosforilasyon ve protein biyosentez süreçlerinin inhibisyonundan oluşmaktadır (63).

Tetrasiklinler teratojenik ve embriyotoksiktir. Uzun kemiklerin gövdelerinde tetrasiklin-kalsiyum-fosfat komplekslerinin birikmesi nedeniyle hamile kadınlarda veya 12 yaşın altındaki çocuklarda kullanılmamalıdır. Son 20 yılda tetrasiklinlerin birçok bakteriyel enfeksiyonda kullanımı, bu gruptaki antibiyotiklere dirençli bakterilerin yaygın gelişimi nedeniyle sınırlı kalmıştır (63).

Tetrasiklin direncinin spesifik olmayan ve spesifik olmak üzere iki türü vardır. İlki düşük dereceli dirençtir ve tetrasiklinlerin dış zardaki pürin kanalları yoluyla hücrenin iç kısmına taşınmasının azalmasından kaynaklanır. Spesifik direnç, üç mekanizmadan biriyle ilişkilendirilebilir: ilaç moleküllerinin enzimatik olarak etkisiz hale getirilmesi; aktif pompalar aracılığıyla tetrasiklinlerin bakteri hücrelerinden uzaklaştırılması veya ribozomun tetrasiklinlere karşı korunması (63).

2.3.1.1 MINOSIKLIN

Minosiklin, yağda en çok çözünen ve en etkili yarı sentetik tetrasiklin antibiyotığıdır. Gram pozitif ve gram negatif bakterilerin yanı sıra hücre duvarı olmayan bakterileri de etkileyebilir. Minosiklinin etkisi protein sentezinin inhibisyonuyla ilişkilidir. Minosiklin, doğrudan lipit çift katmanından geçebilir veya bakteriyel membrandaki gözenekli kanallardan yayılabilir. 30S ribozomal alt birimine bağlanarak tRNA'nın mRNA-ribozomal kompleksine bağlanmasını engeller ve bu şekilde protein translasyonunu durdurur. Minosiklin içerikli periodontoloji preparatı Arestin'dir (OraPharma Inc., Warminster, ABD) ve mikropartiküller halinde 1 mg minosiklin içermektedir. Arestin, periodontal cebin tabanına kolay ve hedefe yönelik yerleştirmeyi sağlamak için mikropartiküllerin toz halinde uygulanacağı şekilde yapılandırılmış bir uygulama sistemine sahiptir. Preparatı cebe yerleştirdikten sonra mikropartiküller anında çevredeki yüzeylere toplanarak aktif enfeksiyon bölgesinde uzun süreli minosiklin salınımı sağlamaktadır (62).

2.3.1.2 DOKSİSİKLİN

Yüksek protein bağlama kapasitesi ve tetrasiklin antibiyotik grubu içinde en güçlü antikollajenolitik özelliğe sahip olan doksisisiklin periodontal tedavide sıklıkla kullanılmaktadır. Yarılanma ömrü yaklaşık 18-22 saattir (64). Doksisisiklin periodontal dokularda, proenflamatuvar sitokinlerin salınımı azaltarak epitel, bağ doku ve alveolar kemik yıkımının yavaşlatılmasına yardımcı olur. Kollajen üretimini, osteoblast aktivitesini, kemik formasyonunu ve izole osteoklastlarda apoptozisini arttırır (65).

Uzun etkili bir tetrasiklin grubu antibiyotiği olan doksisisiklin birçok bakteriye etki gösterir. bunlar arasında *Brucella*, *Mycoplasma*, *Pasteurella tularensis*, *Chlamydia*, *Ureaplasma*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Leptospira*, *Actinomyces*, *Haemophilus*, *Rickettsia*, *Borrelia*, *Treponema*, *Yersinia*, *Legionella*, *Campylobacter*, *Vibrio*, *Listeria*, *Moraxella catarrhalis*, *Streptococcus pneumoniae* ve *Enterobacteriaceae* ailesi bulunur. Ancak *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı etkisizdir. Bakteri suşlarının direnç mekanizması, antibiyotiğin bakteri hücrelerine

nüfuz etme yeteneğinin azalması veya aktif olarak hücreden uzaklaştırılmasıyla ilişkilidir (66,67).

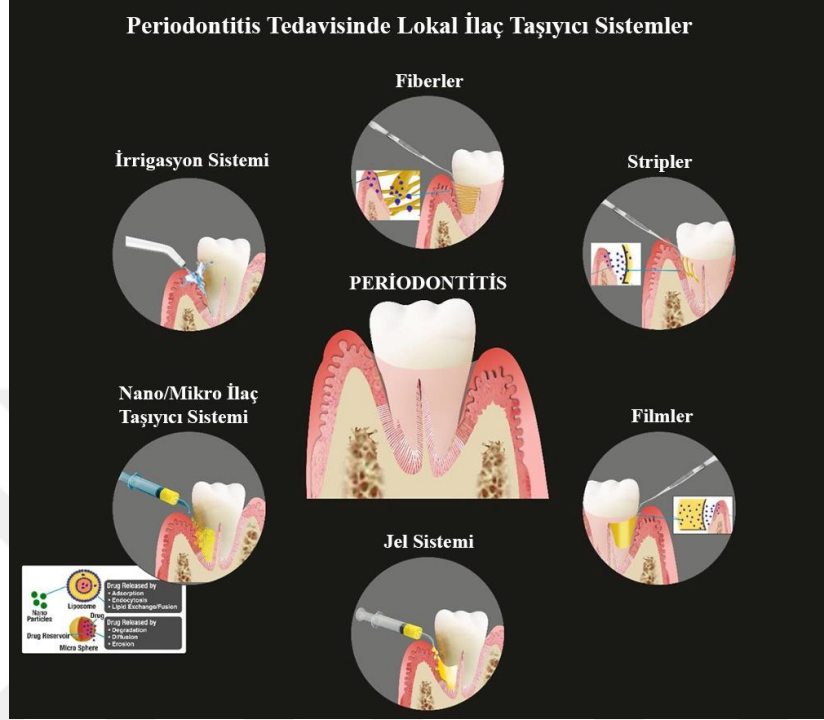
Antibakteriyel spektrumu çok geniştir, ancak uzun süreli kullanımı, hem gram pozitif koklar hem de gram negatif basiller arasından yüksek oranda dirençli suşların gelişmesine yol açmıştır.

2.4 LOKAL İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER

Periodontitis ve gingivitis için enjekte edilebilir cihazlar, jeller, merhemler ve filmler gibi birçok lokal ilaç taşıyıcı sistemi türleri önerilmiştir. Diş eti altına antibakteriyel ajanların uygulanması için birçok araştırılan ürün bulunmaktadır. Cep içi sürekli salınan ilaç taşıyıcı sistemlerin periodontitis tedavisinde klinik etkisi bulunmaktadır. Periodontal cep içi cihazlar, biyolojik olarak parçalanabilir veya parçalanmayan olmak üzere iki kategoriye ayrılmaktadır. Parçalanmayan cihazlar, klinisyenin ilaç taşıyıcı sistemini cepten çıkararak ilacın cebin içinde kalma süresini kontrol etmesine ve bu sayede daha fazla kontrol sağlamasına olanak tanır. Bununla birlikte, terapötik etkinlik süresinin ötesinde cep içerisinde parçalanmayan bir sistem, yabancı cisim reaksiyonuna yol açabileceğinden potansiyel bir tehlike oluşturur. Bu durumun tersine, uzun süre boyunca terapötik konsantrasyonları korumak için periodontal cebe yerleştirilebilen, biyolojik olarak parçalanabilen, sürekli salınan bir ilaç taşıyıcı sistem avantajlı olacaktır. Bunun nedeni, sistemik antibiyotiklere göre hastanın uyumunu artırmanın yanı sıra, hastaların tedavi bitiminde bu sistemlerin periodontal cepten çıkarılması için hekimi ziyaret etmelerine gerek kalmaması ve böylece bu sistemin daha uygun maliyetli hale gelmesidir (68).

Antimikrobiyal ajanların periodontal cebe uygulanması için çeşitli parçalanabilir ve parçalanamayan cihazlar araştırılmaktadır (69). Bu cihazlar arasında fiberler (biyolojik olarak parçalanamaz), filmler (biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak parçalanamaz), biyolojik olarak emilebilir dental materyaller, biyolojik olarak parçalanabilen jeller/merhemler, enjekte edilebilir

ürünler, irrigasyon solüsyon sistemleri, mikropartiküller ve nanopartiküller bulunmaktadır.



Şekil 2.1: Periodontitis Tedavisinde Lokal İlaç Taşıyıcı Sistemler

2.4.1 Fiberler

İlaçların periodontal cebe sürekli salınımı için fiber veya iplik benzeri sistemlerin kullanımı, Goodson ve arkadaşları tarafından tanıtılan ilk fiber taşıyıcı sistemdi (70) Katı halde bulunan tetrasiklin hidroklorürü periodontal cebe ve diş eti kenarının altına yerleştirilmesi için selüloz asetat diyaliz tüpünü (çap 250 İm) kullanarak ve hafif basınç uygulanarak uygun uzunlukta bir tüp uygulandı. Sistem, bazı klinik etkiler göstermiş ancak ilacın terapötik düzeylerini klinik olarak yeterli süre boyunca sürdürebilme kapasitesine ulaşamamıştır (71). İlaç çözeltileri ayrıca selüloz asetatından yapılmış diyaliz tüplerinden oluşan taşıyıcı sistemlere de dahil edilmiştir. %20 klorheksidin glukonat (72) ve %0-5 metronidazol içeren fiberlerin

(59) klinik kullanımı periodontal hastalığın belirti ve semptomlarında azalmaya yol açmıştır.

Addy ve ark. klorheksidinin taşıyıcı sistem liflerinden in vitro 4 gün boyunca salındığını ve ilaç salınımının %95'inden fazlasının ilk 24 saatte gerçekleştiğini göstermiştir. İlacın 24 saat boyunca etkili düzeyde kalması, tek bir tüp yerleştirilmesinin cepte yeniden kolonizasyonu önlemek için yeterli tedaviyi sağlamadığını göstermektedir (73).

Tetrasiklinin periodontal ceplere verilmesi için birçok polimer araştırılmıştır (70). Lifler, polietilen, polipropilen, poli(e-kaprolakton), poliüretan, etil vinil asetat veya selüloz asetat propionat (74) içindeki %25 tetrasiklin hidroklorürün ısıyla ekstrüzyonuyla hazırlanmıştır. Polietilen ve poliüretan liflerde ilacın çoğunun 24 saat içinde salındığı gözlemlenmiştir. Buna karşılık, polipropilen, poli(e-kaprolakton) ve selüloz asetat propiyonat lifleri, ilaç yüklerinin sadece küçük bir kısmını hızla serbest bırakmış ve uzun süreli bir salınım profili sağlayamamıştır. (70). Etilen vinil asetat ise sürekli bir salınım profili sağlamıştır. 9 gün boyunca in vitro salınım ve periodontal cep hastalıklarında tetrasiklin iletimi için uygun bir taşıyıcı olarak önerilmiştir. Bu ilk çalışmalar, özellikle Goodson ve ark. (70,75) ticari dağıtım sisteminin (Actisite, Alza Corporation, Palo Alto, CA) geliştirilmesine yol açan çalışmaları takip etmiştir. İki çok merkezli çalışma (76,77) periodontal cebin bu sistemle tedavisinin, test edilen diğer tedavilere kıyasla cep sondalama derinliklerinde ve sondalama sırasında kanamada önemli azalmalara ve ataçman seviyelerinde önemli artışlara yol açtığını göstermektedir.

2.4.2 Filmler

Filmler, ilacın polimer matrisi boyunca dağıtıldığı ve ilacın difüzyonu veya matrisin çözünmesi/erozyonu yoluyla salındığı matris dağıtım sistemleridir. Bu formun periodontal cep içi kullanım için birçok avantajlı fiziksel özelliği bulunmaktadır (78). Filmin boyutları ve şekli, uygulanacak periodontal cep boyutlarına kolayca uyacak şekilde kontrol edilebilir. Hastaya minimal rahatsızlık vererek hızlı bir şekilde cebe yerleştirilebilir.

Filmlerin hem bozunabilen hem de bozunmayan formları geliştirilmiştir. İlacı tek başına difüzyon yoluyla salınanlar, suda çözünmeyen bozunmayan polimerler (53,70) kullanılarak hazırlanırken, difüzyon ve matris çözünmesiyle salınanlar ise matriste çözünebilir (79,80) veya biyolojik olarak parçalanabilen polimerler kullanırlar.

Cep içi, biyolojik olarak bozunmayan matris taşıyıcı sistemler ilk olarak 1982'de Addy ve ark. (53) tarafından tetrasiklin, metronidazol ve klorheksidin cep içi dağıtımı için polimetilmetakrilattan matris filmlerinin kullanımı ile tanımlanmıştır. Polimer, monomer ve uygun ilacın kendi kendine polimerize olan karışımları, yüksek basınç altında tabakalar halinde sertleştirilmiş ve daha sonra uygun boyuttaki filmler halinde kesilmiştir. Çalışmalar, akrilik filmlerden ilaçların in vitro salınım profilinin ve salınım süresinin, dağıtım sistemindeki ilaç yüküne bağlı olduğunu göstermiştir. İn vitro salınım miktarı, kullanılan ilacın dozasına bağlı olarak değişiyordu; %30 klorheksidin, tetrasiklin veya metronidazol içeren filmler, ilaç yükünün sırasıyla %57'sini, %40'ını ve %96'sını serbest bırakıyordu. Ayrıca, 14 günlük bir süre boyunca her üç ilacın in vitro terapötik seviyelerini sağlayan formülasyonları da tanımlanmıştır. %30 ilaç içeren filmlerin klinik ve mikrobiyolojik değerlendirmesi sonucunda metronidazol içeren şeritlerin daha etkili olduğu gösterilmiştir ancak diş eti oluşu sıvısında elde edilen in vivo salınım oranlarına ilişkin herhangi bir değerlendirme yapılmamıştır (81,82). Daha sonraki çalışmalarda, in vitro olarak çeşitli düzeylerde klinik etkinlik gösterilmiş olsa da bu sistemlerin klinik parametrelerde daha yavaş bir nüks hızıyla ilişkili olduğu belirlenmiş ve klinik kullanım için geliştirilmemiştir (82). Bu tür taşıyıcı sistemlerin dezavantajlarından biri, bozunmadıkları için periodontal cepten çıkarma ve değiştirme ihtiyacının bulunmasıdır.

Bozunabilir taşıyıcı sistemler diş eti oluşunda erir ve tedaviden sonra çıkarılmaya ihtiyaç duyulmaz. İlaç salınımı, matrisin erozyonu veya çözünmesi ve ilacın matris boyunca difüzyonu yoluyla gerçekleşmektedir. Bu mekanizmaların genel salınım hızına olan katkısı farklılık göstermektedir. Hidroksipropil selüloz (83), polyesterler (84) ve çapraz bağlı kollajenler ve protein filmleri (85) dahil

olmak üzere periodontal tedavide antimikrobiyal ajanların uygulanması için biyolojik olarak parçalanabilen bir dizi polimer araştırılmıştır.

Periodontal cep içi ilaç taşıyıcı sistem için klorheksidin ve tetrasiklin içeren hidroksipropil selüloz filmleri tarif edilmiştir. İlacın salınımı ve polimerin çözünmesinin farklı zaman aralıklarında meydana geldiği bulunmuştur. Hidroksipropilselüloz içinde %1 tetrasiklin içeren filmlerin yerleştirilmesinden 24 saat sonra diş eti oluğu sıvısında 0-5 ila 3-5 lg/ml arasında tetrasiklin seviyeleri elde edilmiştir. Klorheksidin (%1) içeren şeritlerin kullanımıyla sondalama derinliğinde, plak indeksinde, diş eti indeksinde, sondalamada kanama oranında ve *Bacteroides asaccharolyticus*'ta azalma rapor edilmiştir (83).

Yavaş çözünen metakrilik asit kopolimer parçacıklarının hidroksipropil selüloz filmlerine dahil edilmesiyle uzun süreli bir oksasin salınımı elde edilmiştir (65). Collins ve arkadaşları, periodontal hastalıkların tedavisinde tetrasiklin uygulamak için polihidroksibütirik asit kullanarak yavaş biyolojik olarak parçalanabilen bir sistem geliştirmişlerdir. Tetrasiklinin in vitro sıfır dereceli salınım profili, 9 günlük bir süre boyunca kaydedilmiş ve ilaç yükünün neredeyse %50'sinin bu süre içinde salındığı gözlenmiştir (86).

Yapılan başka bir çalışmada klorheksidin ve formaldehitte çapraz bağlı Byco protein matrisini içeren bozunabilir kontrollü ilaç taşıyıcı sistem tanıtılmıştır (87). Byco proteini sıkı kökenli hidrolize bir jelatindir. Bu taşıyıcı sistemden klorheksidinin salınımı ve in vitro çözünmesi, proteinin çapraz bağlanma derecesine bağlı olarak değişmektedir. Ayrıca kullanılan klorheksidin tuzunun doğası da salınım hızını etkilemektedir. Bu çalışmalardan elde edilen bulgulara dayanarak Perio Chip (Perio Products Ltd, Kudüs, İsrail), klorheksidinin diş eti altına kontrollü olarak verilmesi için geliştirilmiştir (88,89). Çapraz bağlı kollajen filmlerin, 7 hafta boyunca yapılan çalışmalarda diş eti indeksi, cep derinliği, sondalama sırasında kanama insidansı, subgingival mikroorganizmaların ve spiroketlerin yoğunluğunda önemli ölçüde daha yüksek iyileşmeler sağladığı ve bu iyileşmenin maksimum etkisinin ilk iki haftada görüldüğü gösterilmiştir (88).

2.4.3 Jeller

Jeller, sıvı parçacıkların/aktif ilaç moleküllerinin, kararlı durumdayken akışkanlık göstermeyen katı bir ortamda düzgün şekilde dağıldığı seyreltik, çapraz bağlı yarı katı sistemlerdir (90). Jeller, ağız ülserleri, protez stomatitleri ve diş eti lezyonları gibi çeşitli ağız hastalıklarında terapötik ajanları dağıtmak için yaygın bir taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadır. Bu geniş uygulamalar, hazırlama ve uygulama kolaylığı, sürekli ilaç salınımı modeli, minimum doz sıklığı ve ilaç toksisitesinin düşük olması gibi özellikler sayesinde mümkün olmaktadır (91).

Periodontolojide, aktif terapötik maddeler içeren jeller, hastalıklı bölge boyunca eşit bir dağılım sağlamak için geniş çaplı şırıngalar kullanılarak subgingival cebe yavaşça iletilmektedir. Jeller, karbopol, ksantan, karboksi metil selüloz ve kitosan (92) gibi çeşitli polimerler kullanılarak formüle edilir ve antimikrobiyaller (93), bifosfonatlar, statinler (94) gibi çeşitli terapötik ajanlarla yüklenir.

Cerrahi olmayan periodontal tedaviye yardımcı olarak kullanıldığında tüm bu formülasyonlar, sondalama derinliği seviyelerinde önemli bir azalma, ataçman kazancında artış ve diş eti indeksi gibi diğer klinik parametrelerde iyileşme göstermiştir. Bir çalışma, %1,5 klorheksidin içeren ksantan zatkı bazlı bir jel olan Chlosite'nin periodontal cebe yerleştirildikten sonra 10-30 gün içinde kademeli olarak bozunduğunu ve minimum 15 gün boyunca lokal bölgede etkili bir klorheksidin konsantrasyonu sağladığını göstermiştir (95).

Polimer bilimi yıllar geçtikçe ilerlemiş ve pH değişimi, manyetik alan ve sıcaklık gibi uyaranların türüne bağlı olarak sıvı halden yarı katı jel haline dönüşen yeni jel formülasyonlarının geliştirilmesiyle sonuçlanmıştır (96). Örneğin, termogeri dönüşümlü jel, formülasyonu < 25 °C'de (düzenlenmiş oda sıcaklığı) sıvı halde tutan ve fizyolojik sıcaklıkta katılaştıran polaksomer-407 adı verilen özel bir polimer kullanılarak formüle edilen akıllı hidrojel sistemlerinden biridir. Sistemin termogeri dönüşümlü doğası, antimikrobiyallerin doğru dozunu, minimum dirençle şırınga edilebilir bir formda kolayca iletmeyi uygun bir aday haline getirir ve ajan, önceden belirlenen vücut sıcaklığında yavaş yavaş kendisini jele dönüştürür (97). Bu jeller yumuşak, hidrofilik, biyolojik olarak parçalanabilir ve biyolojik olarak uyumludur. Ayrıca süper emicilik özelliğine de sahiptirler (98).

Atridox, doksisisiklin hiklatın subgingival bölgeye lokal ilaç dağıtımı için FDA onaylı iki şırınga karıştırma sistemidir. Şırıngalardan biri, çözünen olarak %36,7 poli (DLlaktid) (PLA) ve çözücü olarak %63,3 N-metil-2-pirolidon (NMP) içeren Atrigel dağıtım sistemini içerir ve ikinci şırınga, 50 mg doksisisiklin hiklattan oluşur. İki şırınganın bileşenlerinin karıştırılması, viskoz bir sıvının (%10 doksisisiklin hiklat) oluşmasıyla sonuçlanır; bu sıvı, subgingival bölgede 7 gün boyunca kontrollü salınım sağlamak üzere katılaşır. Klinik çalışmalar, DOS'daki doksisisiklin seviyelerinin 2 saatte maksimum 1500-2000 µg/mL konsantrasyona ulaştığını ve minimum 7 gün boyunca etkili antimikrobiyal konsantrasyonları koruduğunu ve polimerin büyük kısmının (yaklaşık %95) biyolojik olarak metabolize edildiğini ve atıldığını göstermiştir (99).

%10 doksisisiklin hiklat içeren Atrigel üzerinde yapılan bir çalışma, DOS'da 10-20 mg/mL ilacın varlığını göstermiştir (100).

Ticari olarak temin edilebilen başka bir matris bazlı minosiklin HCL (%2) formülasyonu, Avrupa Birliği'nde Dentomisin ve Japonya'da Perioklin olarak bulunmaktadır. Bu Minosiklin, hidroksietil selüloz, eudragit, triasetin ve magnezyum klorürden oluşan bir matris içine yerleştirilmiştir. DOS'da, 0,05 mL merhem uygulandıktan 1 saat sonra 1300 µg/mL'lik minosiklin konsantrasyonuna ulaşılır; ancak 7 saat sonra 90 µg/mL'ye düşer (101). Literatürden elde edilen kanıtların sonucunda kök düzeltmeye ek olarak jel formundaki ilaçların lokal olarak verilmesinin periodontitis ile ilişkili klinik parametrelerin iyileştirilmesinde potansiyel bir role sahip olduğu ifade edilmiştir.

2.4.4 Mikropartiküller

Mikropartiküller, periodontal hastalıkların tedavisinde kapsüllenmiş antibakteriyel ajanların verilmesi için kullanılmaktadır. Bunlar, içeriklerini tükürük veya diş eti oluğu sıvısında uzun süreli bir salınım profiliyle iletebilen, çözünme kontrollü polimerik taşıyıcı sistemlerdir. Laktik asit/glikolik asit kopolimerlerinden hazırlanan mikropartiküller, tetrasiklin (102) ve minosiklin (103) dağıtımı için önerilmiştir. Minosiklin içeren PLGA mikropartikülleri formüle edilmiş ve

Porphyromonas gingivalis'in periodontal cepten eliminasyonu için kullanılmıştır (104).

Baker ve ark. bir Pluronic F 127 jeli içinde tetrasiklin içeren mikropartikülleri süspanse etmiştir. Bu malzeme, tedavi süresince mikropartiküllerin periodontal cepte kalmasını sağlamak için vücut sıcaklığında bir jel oluşturmaktadır. Mikropartiküller içeren jelin maymunlarda periodontal ceplere uygulanmasından sonra diş eti oluğu sıvısındaki konsantrasyonun 3 ± 4 gün boyunca etkili seviyelerde tutulabildiğini göstermişlerdir (78).

Lawter ve ark. (95), beagle köpeklerinin periodontal ceplerine kuru halde minosiklin mikropartikülleri uygulamış ve etkili bir minosiklin konsantrasyonunun yaklaşık 2 hafta boyunca korunduğunu göstermiştir.

Çeşitli klinik çalışmalar, ilaç yüklü mikropartiküllerin periodontitis tedavisinde uygulamak için kullanılmıştır. Likopen kapsüllü katı lipid mikropartikülleri, subgingival debridman ve kök yüzeyi düzleştirme işlemi ile birlikte kullanıldığında pozitif klinik sonuçlar göstermiştir (105). Farklı konsantrasyonlarda PLGA ve PCL kombinasyonu kullanılarak çift emülsiyon tekniği ile hazırlanan doksisisiklin yüklü biyolojik olarak bozunabilen mikropartiküller (ortalama parçacık boyutu 90 ila 200 μm arasında), ilacın ve polimerlerin in vitro salınımla 11 güne kadar stabil olduğunu göstermiştir. Formülasyon, ticari doksisisiklin jeli ile karşılaştırıldığında 3 aya kadar klinik ve mikrobiyolojik parametrelerde önemli bir iyileşme göstermiştir (106).

2.4.5 İrrigasyon Solüsyon Sistemleri

İrrigasyon solüsyon sistemi, periodontal hastalığı tedavi etmek için kliniklerde profesyonel olarak kullanılan veya hasta tarafından evde kişisel olarak uygulanan bir lokal taşıyıcı sistemdir. İrrigasyon sistemi bakterileri diştten ve periodontal doku yüzeyinden uzaklaştırır ve plaktaki bakterilerde spesifik olmayan bir azalmaya neden olur. Bu sistemlerin etkinliği sulama basıncına, akış özelliklerine ve jet tipine göre belirlenmektedir.

Waterpik®, bir haznesi ve değiştirilebilir uçları olan bir tür irrigasyon solüsyon sistem cihazlarından biridir. Çalışmalar, Waterpik®'in, 50-90 psi'lik orta ila yüksek basınç ayarında ve dakikada 1200-1400 nabız hızında bakteriyel biyofilmi marjinal diş eti tepesinden yaklaşık %50'lik bir mesafeye kadar çıkarmada etkili olduğunu göstermiştir (107). Sulama sistemindeki lokal olarak uygulanan antimikrobiyal ajanların başarısı, penetrasyon derinliğine, enfeksiyonun karmaşıklığına, DOS akışına, ilaç konsantrasyonuna ve cep bölgesinde yeterli süre boyunca mevcut olan ilaç miktarına bağlıdır. İlacın cebin daha derin seviyelerine difüzyonu ve antimikrobiyal ajana maruz kalma süresi de irrigasyon cihazlarının yeterliliğini belirlemektedir (107).

Supragingival irrigasyon cihazlarında antibakteriyel ajanı sığ ceplerde %29-71, derin ceplerde %44-68 derinliğe kadar nüfuz ederken, subgingival irrigasyon %75-93 aralığında daha iyi penetrasyona sahiptir (108). Bu sistemin etkinliği periodontal cepteki bakteri ekosistemine de bağlıdır (109). İlacın antimikrobiyal aktivitesi ayrıca kan bileşenlerinin, serum proteinlerinin ve cepteki iltihabın varlığı nedeniyle de engellenmektedir (107). Ayrıca, DOS akış hızı da antimikrobiyal ajanlar ile subgingival bakteriler arasındaki temas süresini belirleyen temel faktörlerden birisidir (110).

2.4.6 Biyoabsorbe Dental Materyaller

Biyolojik olarak bozunabilen dental materyaller periodontal cep içerisinde kullanım için üretilen ilaç taşıyıcılarıdır (111). Larson ve ark. (112) periodontal cebin bakteriyel florasını yok etmek için doksisisiklin içeren biyolojik olarak emilebilir materyalleri olası ilaç taşıyıcıları olarak araştırmıştır. Bu malzemeler arasında oksitlenmiş rejenere selülozdan (Surgicel) oluşan hemostatik bir gazlı bez, bir kollajen yara pansumanı (CollaCote) ve bir dolgu macunu (Tissell) yer alıyordu. Doksisisiklin, Surgicel ve CollaCote'a 24 saat boyunca %2'lik bir doksisisiklin çözeltisinde denge yoluyla ve %2 doksisisiklin içeren pıhtıların hazırlanması yoluyla Tissell'e dahil edilmiştir. Bu biyolojik olarak emilebilir malzemeler, doksisisiklin içeren biyolojik olarak parçalanamayan polietilmetakrilat filmlerle karşılaştırılmıştır (73). Larson ve ark. (112), parçalanmayan polietilenmetakrilat

filmlerin serumda inkübe edildiğinde fiziksel özelliklerinin değiştiğini bildirmiştir. Ayrıca iltihabi bir tepkiye yol açma riski olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte, 0-5 ml serum içindeki Surgicel® filmleri, biyolojik olarak emilebilir doğaları sayesinde, görünürde herhangi bir immünolojik sonuç riski olmadan 2 haftalık bir süre boyunca şişmiş ve çözülmüştür.

2.4.7 Nanopartikül Taşıyıcı Sistemler

Nanopartiküller (boyutu ≤ 100 nm'den küçük), aktif terapötik ajanları hedef bölgeye doğru şekilde iletme yetenekleri nedeniyle biyomedikal alanda büyük ilgi görmektedir (113,114). Bu nanopartiküller, sürekli ve kontrollü salım için aktif ilaçlarla yüklendikten sonra doğrudan etki alanına iletilmektedir. Gümüş, altın, titanyum dioksit ve bakır nanopartiküller, antimikrobiyal ve kemik rejenerasyon özellikleri nedeniyle diş hekimliğinde ve diğer biyomedikal alanlarda en yaygın olarak araştırılan metalik nanopartiküllerden bazılarıdır (115,116). Bir diğer NP'ler arasında lipozomlar, polimerik NP, polimerik miseller ve katı lipit NP bulunur (115).

Hücre zarları boyunca geliştirilmiş taşıma, ilaç yükleme kapasitesinin iyileştirilmesiyle sonuçlanan daha fazla yüzey alanı/hacim oranları ve biyoyumluluk, NP'nin temel avantajlarından bazılarıdır (117). Periodontolojide metalik ve polimerik NP, nanofiberler, lipozomlar, kuantum noktaları ve nanokompozitler/nanojeller çeşitli in vitro ve klinik çalışmalarda incelenmiştir (118). Metalik NP, metalik tuzların kimyasal indirgeyici ajanlar kullanılarak NP'ye indirgenmesiyle veya antioksidanlar açısından zengin bitki materyallerinin eklenmesiyle sentezlenir (119,120).

Nanopartiküllerin oral mikrofloraya karşı etkinliğini değerlendirmek için çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Gümüş NP'nin antimikrobiyal etkinliği üzerindeki etkisi değerlendirilen bir çalışmada, en önemli etki *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *S. mitis* ve *S. mutans* gibi periodontal patojenlere karşı gösterilmiştir. Anaerobik oral patojenler, aeroblarla karşılaştırıldığında gümüş NP'ye daha az duyarlılığa sahipti (121).

2.5 DÜŞÜK DOZ DOKSİSİKLİN(DDD)

Düşük Doz Doksisisiklin (DDD), periodontitis tedavisinde yardımcı ve özel olarak belirtilen tek sistemik konak modülasyon ajanıdır. DDD, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), Amerikan Diş Hekimleri Birliği (ADA), Birleşik Krallık İlaç ve Sağlık Ürünleri Düzenleme Kurumu tarafından onaylanmış ve Periostat® markasıyla piyasaya sürülmüştür. Kök yüzeyi enstrümantasyonuna yardımcı olarak 3-9 aylık süreler boyunca günde iki kez alınan 20 mg'lık doksisisiklin hiklat dozudur (122).

Doksisisiklinin konak yanıt modülatörü olarak düşük dozlarda kullanılmasının nedeni MMP'lerin aktivitesini azaltması, osteoblastik aktiviteyi uyarması ve herhangi bir antibiyotik özelliğinden bağımsız olarak kollajen üretimini düzenleyerek yeni kemik oluşumunun dahil olduğu çeşitli sinerjistik mekanizmalarla inhibe etmesidir. Doksisisiklinin, periodontitis hastalarının DOS'daki kollajenaz aktivitesini azaltmada diğer tetrasiklinlerden daha etkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca minosiklin veya tetrasiklinden daha etkili bir MMP inhibitörü olduğu ve çok daha düşük bir inhibitör konsantrasyonuna sahip olduğu, dolayısıyla çok daha düşük doksisisiklin dozunun gerekli olduğu doğrulanmıştır. Ayrıca doksisisiklin, nötrofil kollajenaz aktivitesinin (MMP-8) bloke edilmesinde fibroblast kollajenaz aktivitesinden (MMP-1) daha etkili olduğu bulunmuştur; bu, doksisisiklinin normal bağ dokusuna müdahale etmeden patolojik olarak yüksek kollajenaz seviyelerini azaltmak için güvenli bir yöntem sağlayabileceğini düşündürmektedir (123).

Doksisisiklinin uzun süreli uygulanmasıyla ilgili en büyük sıkıntı, antibiyotik direncinin gelişme olasılığıdır. Nispeten kısa süreli (1-3 ay) çalışmalar, bu doz rejiminin, doksisisikline dirençli organizmalar veya diğer tipik antibiyotik yan etkileri ortaya çıkmadan periodontitisin ilerlemesini önleyebileceğini göstermiştir. Sonuç olarak, periodonsiyumdaki yıkıcı olayların doksisisiklin tarafından azaltılması farklı proinflatuar yolların modülasyonundan kaynaklanmaktadır (124). Bunlar ;

- Latent MMP'lerin oksidatif aktivasyonunun inhibisyonu
- Anahtar inflamatuvar sitokinlerin (IL-1, IL-6 ve TNF) ve PGE2 ekspresyonunun azalması
- Nötrofiller tarafından üretilen reaktif oksijen türlerinin üretiminin inhibisyonu
- MMP'lerin ve reaktif oksijen türlerinin inhibisyonuyla doku proteinaz aktivitesinin dolaylı olarak azalması
- Fibroblast kollajen üretiminin uyarılması
- Osteoklast aktivitesinin ve kemik rezorpsiyonunun azaltılması
- Osteoklast MMP'lerin inhibisyonudur.

Periodontitis hastalarında mekanik debridmana ek olarak DDD'in kullanımını değerlendirmek için farklı klinik çalışmalar yapılmıştır. Emingil ve ark. (123) periodontitis hastalarında 12 aylık bir süre boyunca DDD'in cerrahi olmayan periodontal tedavi ile kombinasyonunun, tek başına cerrahi olmayan periodontal tedaviye kıyasla DOS'daki MMP-8 seviyeleri ve klinik parametreler üzerindeki etkinliğini incelemeyi amaçlamıştır. DDD grubuna cerrahi olmayan periodontal tedavi ile birlikte 3 ay boyunca günde iki kez 20 mg doksisisiklin verilirken, kontrol grubuna cerrahi olmayan periodontal tedavi ile 3 ay boyunca günde iki kez plasebo kapsülleri verilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, cerrahi olmayan periodontal tedavi ile kombine DDD tedavisinin, periodontitis hastalarında DOS'daki MMP-8 seviyelerinin ve klinik periodontal parametrelerin azaltılabileceği gösterilmiştir.

Gürkan ve ark. (3) periodontitis hastalarında yardımcı DDD tedavisinin klinik periodontal parametreler ve büyüme faktörü-beta1 (TGF- β 1) düzeyleri üzerindeki etkisini 6 aylık bir süre boyunca değerlendirmiştir. Genel olarak onarım ve rejenerasyon üzerindeki potansiyel etkileriyle bilinen bir sitokin olan TGF- β 1'in MMP'lerin düzenlenmesinde önemli etkileri vardır. Pro-kollajenaz salınımını engeller ve fibroblastlar ve makrofajlar tarafından kollajenaz üretimini baskılar. Ayrıca MMP genlerinin transkripsiyonunu azaltır ve TIMP-1 ve plazminojen aktivatör inhibitörünün ekspresyonunu artırır. TGF- β 1 sadece MMP regülasyonunda değil aynı zamanda inflamasyonun sınırlandırılmasında ve çözülmesinde de önemli bir araçtır. DDD grubunda, 6 ayda plasebo grubuyla karşılaştırıldığında derin ceplerde anlamlı derecede daha yüksek bir iyileşme

gözlemlenmiştir. Başlangıçta gruplar arasında TGF- β 1 düzeylerinde anlamlı bir fark yoktu. DDD ve plasebo gruplarında DOS'daki TGF- β 1'in hem toplam miktarı hem de konsantrasyonu, başlangıca kıyasla artmıştır. Bununla birlikte, DDD grubunun yalnızca diş eti oluğu sıvısındaki TGF- β 1 seviyeleri, 3. ayda başlangıç ve plasebo grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. 6. ayda her iki grubun TGF- β 1 seviyeleri başlangıç seviyelerine benzerlik göstermiştir. Bu çalışma, DDD'in cerrahi olmayan tedaviyle kombinasyonunun, periodontal hastalığın klinik parametrelerini iyileştirdiğini ve derin sondalama derinliğine sahip ceplerin prevalansında azalmayla birlikte DOS'daki TGF- β 1 düzeylerini artırdığını göstermiştir.

2.6 TROMBOSİTTEN ZENGİN ÜRÜNLER

2.6.1 Trombositten Zengin Ürünlerin Tarihçesi

Trombositten zengin plazma (PRP) terimi Kingsley tarafından 1954 senesinde ilk kez tanımlanmıştır. Ayrıca pıhtılaşmada trombositlerin önemini vurgulamıştır (125).

Trombosit ürünlerin yara iyileşmesinde klinik olarak etkili olduğunu 1986 senesinde Knighton bildirmiştir (126). İyileşme zorluğu bulunan kronik ülserli 49 hastaya, iki aşamalı santrifüj sistemi ile elde edilen 'Trombosit Kökenli Büyüme Faktörü (PDGF)' adını verdiği ürünü uygulamış ve iyi bir sonuç elde etmiştir.

Whitman ve ark. 1997 senesinde hematoloji laboratuvarında hücre ayırıştırıcı sistemle elde edilen trombosit ürünlerini kullanmışlardır. Bu çalışmada ortaya çıkan madde için 'PRP' ismi kullanılmış ama elde edilen ürünün fibrin jele benzerliği bulunduğu belirtilmiş ve yalnızca trombosit içeriği vurgulanmıştır (127).

Marx 1998 yılında trombosit zengin ürünlerin kullanılması ile ilgili ilk yayınıyla gerçekçi bir şekilde PRP terimi kullanılmaya başlanmıştır (128). Araştırmacı bu ürünleri transfüzyonda kullanılan hücre ayırıştırıcı bir cihazdan faydalanarak üretmiştir. Bu ürünün son hali fibrin jel olarak bilinmektedir. Lökosit içeriği hakkında bilgi verilmemiştir (127).

PRP'nin bir süre kullanımından sonra bazı limitasyonlar gözlemlenmiştir. Teknik, pıhtılaşma faktörlerine ilaveten trombin veya kalsiyum kloridin (CaCl₂) kullanımını gerektirdiği için, bu ürünlerin rejeneratif aşama sırasında iyileşmeyi büyük bir oranda azalttığı bulunmuştur. Ayrıca protokolün uygulanması bazen 1 saatten fazla sürdüğü için teknik olarak kullanımının zor olduğu görülmüştür.

PRP ile ilgili yapılan çalışmalarda, çok erken bir sürede büyüme faktörü salınımının ortaya çıktığı görülmüştür. Rejeneratif prosedürler için büyüme faktörlerinin kısa bir sürede elde edilmesi tercih edilmemektedir (129,130). Tüm bu limitasyonlar, ikinci nesil trombosit konsantresinin ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bunun sonucunda 2001 yılında Choukroun ve arkadaşları tarafından antikoagülan gerektirmeyen, hazırlık süresini kısaltan, trombositten zengin fibrin (PRF) adı verilen ikinci nesil trombosit konsantresi geliştirildi (4).

Sacco ve ark. 2006 senesinde daha fazla büyüme faktörü ve daha yoğun fibrin tabakası elde edebilmek için antikoagülan bulunmayan bir tüpte kanı santrifüjleyerek “Konsantre büyüme faktörü (CGF)”nü geliştirmişlerdir (131).

Dohan ve arkadaşları tarafından önerilen sınıflandırmaya göre, hücre içeriğine ve yapısına göre 4 ana gruba ayrılmıştır:

1. Saf PRP (P-PRP) veya lökosit fakir PRP,
2. Lökosit içeren PRP,
3. Saf PRF veya lökosit fakir PRF,
4. Lökosit ve yüksek yoğunluklu fibrin ağı içeren PRF (L-PRF).

Tunalı ve ark. ise 2013 senesinde “Titanyum Trombosit Zengin Fibrin (T-PRF)”i geliştirmişlerdir. Bu geliştirdikleri ürün ile hastaya ulaşılacak silika parçacıklarını cam tüpler ile engellemeyi amaçlamışlardır. Geliştirilen titanyum tüpte cam tüpe benzer pıhtı ve trombosit agregasyonu olduğu gözlemlenmiştir. Bununla birlikte titanyum tüpün cam tüpteki silikaya kıyasla trombosit aktivasyonunu tetiklemesinin daha iyi olduğu bulunmuştur.

Choukroun ve ark. 2014 yılında yaptığı bir araştırmada ‘ileri lökosit ve trombosit zengin fibrini (A-PRF)’yi geliştirmişlerdir (132). Bu geliştirilen üründe lökosit yoğunluğu PRF’ye kıyasla daha fazla bulunmuştur.

Choukroun ve ark 2017 yılında enjekte edilebilir trombosit zengin fibrini (I-PRF) geliştirmişlerdir (133). PRF’ye kıyasla trombosit ve lökosit yoğunluğu fazla olduğu gözlemlenmiştir.

2.7 Trombosit Zengin Kan Ürünlerinin İçeriği

2.7.1 Trombositler

Trombositler PRP ürünlerinin önemli bir hücresel bileşenidir. Bu hücreler, kemik iliğindeki megakaryositlerden türetilen, çekirdeksiz şekilli elementlerdir ve boyutları 0,5 ila 3 µm arasında değişir. Trombositlerin şekli değişiklik gösterir. Megakaryositler trombosit üretmek için kontrollü hücre parçalanmasından geçer. Bu işlem 5.000 ila 10.000 trombosit üretimiyle sonuçlanır. Dinlenme sırasında trombositler kanda 7 ila 10 gün boyunca dolaşırlar. Bu sürenin sonunda dalak ve Kupffer hücreleri bu hücrelerin yok edilmesinden sorumludur.

Elektron mikroskopunda trombositler, pıhtılaşma işlemi için gerekli olan fosfolipidlerin kaynağı olan üç katmanlı bir zara sahiptir. Trombositlerin diğer temel işlevleri, rejenerasyon süreçleri ve endotelin normal işleyişi için önemli olan biyolojik olarak aktif maddelerin üretimi ve vazokonstriktörlerin üretimidir. Trombositler RNA, mitokondri, kanaliküler sistem ve çeşitli granül türlerini içerir. Trombositlerdeki ana granül türleri lizozomlar, yoğun granüller ve a-granüllerdir. Lizozomlar glikosidazlar, proteazlar ve katyonik proteinlerden oluşur. Yoğun granüller ADP, ATP, serotonin, histamin ve kalsiyum içerir. α-granüller pıhtılaşma faktörlerini (fibrinojen, faktör V), adezyon moleküllerini (vitronektin, trombospodin, von Willebrand faktörü), proteaz inhibitörlerini ve bir dizi büyüme faktörünü içermektedir. Trombositlerin aktivasyonu ve degranülasyonu sırasında hücre içi granül içerikleri salınmaktadır (134,135).

2.7.2 Lökositler

PRP ürünlerinde bulunan diğer kan hücreleri lökositlerdir. Beyaz kan hücreleri granülositleri (nötrofiller, bazofiller ve eozinofiller), lenfositleri ve monositleri içerir. Lökositler, ya kendi salınımları yoluyla ya da trombositlerin büyüme faktörlerini boşaltmasını arttırarak büyüme faktörlerinin tüm konsolidasyonunda önemli bir rol oynarlar. Günümüzde PRP'de lökosit sayısı arttıkça PDGF ve VEGF konsantrasyonunun da arttığı kanıtlanmıştır (136). Bazı yazarlar, PRP'ye lökositlerin eklenmesinin hücreler üzerinde pozitif anabolik etkiye neden olduğuna ve önemli bir antimikrobiyal etkiye sahip olduğuna inanmaktadır (137). Diğer yazarlar lökositlerin, özellikle de nötrofillerin, zarar veren proteazları ve asit hidrolazları salgıladığını iddia etmektedir (138).

2.7.3 Büyüme Faktörleri

2.7.3.1 TROMBOSİT KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ(PDGF)

PDGF bir mitojenik faktördür ve beş izoformu vardır. Sentez edildiği yerler trombositler, monositler, makrofajlar ve endotelial hücrelerdir. Ana sentez yeri trombositlerin alfa granülleridir.

PDGF fibroblast, glial hücreler, düz kas ve kemik hücrelerinin stimülasyonunda rol oynar. Osteoblast sentezini ve kemikte kemotaktik aktiviteyi arttırır. Aynı zamanda PDGF bağ dokusu büyümesini ve protein sentezini arttırarak, yara iyileşmesinde önemli bir görevi bulunmaktadır. Osteoprogenitör hücrelerin, fibroblast hücrelerinin ve endotel hücrelerinin çoğalmasını uyarırlar. Yönlendirilmiş doku rejenerasyonunda sementoblastları uyardıkları bulunmuştur. Dönüştürücü büyüme faktörü β 'yı (TGF- β), nötrofilleri, makrofajları, fibroblast ve düz kas hücrelerinin mitogenezi, kollajen sentezini, kollajenaz aktivitesini ve anjiyogenezi uyarırlar (139,140).

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

PDGF'nin diğer büyüme faktörleri arasında ağırlıklı olarak mitojenik etkiye sahip olduğu düşünülürken, TGF- β 'nin ana aktivitesi hücre dışı matrisin sentezi ve korunması ile ilgilidir. Üç izoformu vardır: TGF β 1, TGF β 2 ve TGF β 3 (141). Fibroblast kemotaksisinin ve çoğalmasının yanı sıra kollajen sentezini uyarma görevi bulunmaktadır. Bu sayede yara dokusu skarsız iyileşir. Nötrofiller ve makrofajlar için kemotaktik bir madde olduğu ve epitelizasyon başladığında keratinosit göçünü tetiklediği bulunmuştur. Bu büyüme faktörü, fibroblastları çekerek granülosyon dokusunun oluşumunu, anjiyogenezi ve kollajen sentezini uyarmaktadır. Ayrıca yara dokusunun kasılmasını sağlayarak hücrelerin miyofibroblastlara geçişini sağlamaktadır (139). Kırık dokusunun iyileşmesi açısından, minerali alınmış kemik matrisine TGF- β eklenmesinin konsolidasyon süreci için bir uyarıcı olarak çalıştığı kanıtlanmıştır (142).

2.7.3.3 VASKÜLER ENDOTELYAL BÜYÜME FAKTÖRÜ (VEGF)

Yara iyileşmesinde hemostatik yanıt kapsamında vasküler endotelial büyüme faktörleri trombositlerden salınır. Anjiyogenezi, vazodilatasyonu tetikler ve mikrovasküler geçirgenliği artırır. Endotel hücre çoğalmasının düzenlenmesi için gereklidir. Tip 1, 2 ve 3 interstisyel kollajenlerin bozulmasına yol açan metalloproteinaz oluşumunu aktive eder (141).

2.7.3.4 İNSÜLİN KAYNAKLI BÜYÜME FAKTÖRÜ (IGF)

İnsülin kaynaklı büyüme faktörü, trombosit degranülasyonu sırasında salınır ve dolaşımdaki kanda her yerde bulunmaktadır. Çeşitli mezodermal hücre tipleri için mitojenik potansiyele sahiptir ve kollajenaz ve prostaglandin E2 oluşumunu destekler. Kemik hücrelerinin DNA oluşumuna ve kolajen tip 1 üretimine fayda sağlamaktadır. İnsülin benzeri büyüme faktörü osteoblastik proliferasyonu ve farklılaşmayı uyarmaktadır (143).

2.7.3.5 FIBROBLAST BÜYÜME FAKTÖRÜ (FGF)

Fibroblastlar, osteoblastlar, endotel hücreleri ve kondroblastlar gibi hücreler üzerinde mitojenik aktiviteye sahiptirler. Anjiyogeneziste damar hücrelerinin

profilerasyonunu ve fibroblastlarda kollejenaz üretimini sağlar. Keratonisit hücrelerinin migrasyonuna ve çoğalmasına yardımcı olur (137).

2.7.4 Sitokinler

TNF- α , IL-6 ve IL-1 β enflamatuvar sitokinlerdir. Bu sitokinlerin görevi periodontitisin oluşumu ve kemik yıkımıdır. T helper lenfositleri, IL-1 β aracılığı ile uyarılarak enflamasyonu kontrol altına alır. T lenfositlerinin aktivasyonunu sağlayan IL-6, B lenfositlerin de antikor salınımını ve farklılaşmasını sağlar (144).

IL-4 ve VEGF ise iyileşme sitokinleri olarak adlandırılmaktadır. IL-4'ün amacı IL-1 β aracılığıyla oluşan enflamasyonu önlemek ve iyileşmeye yardımcı olmaktır (145).

VEGF ise endotel hücrelerine etki eder. VEGF endotel hücre göçünü, çoğalmasını ve motilitesini aktive ederek anjiogeneze yer alır (146).

2.7.5 Fibrinojen ve Fibrin

Fibrinojen, üç çift özdeş olmayan polipeptit zincirinden oluşan, kanla taşınan bir glikoproteindir. Vasküler yaralanmayı takiben fibrinojen, trombin tarafından parçalanarak kan pıhtılarının en bol bileşeni olan fibrini oluşturur. Doku hasarı bölgelerindeki kan kaybını kontrol etmenin yanı sıra, fibrinojenin diğer özellikleri de yakın zamanda keşfedilmiştir. Örneğin, sırasıyla pıhtılaşma ve fibrinoliz sırasında salınan çeşitli fibrinojen ve fibrin bölünme ürünleri, hücre yapışmasını ve yayılmasını düzenler, vazokonstriktör ve kemotaktik aktiviteler sergiler ve fibroblastlar, endotelial ve düz kas hücreleri dahil olmak üzere çeşitli hücre tipleri için mitojenlerdir.

Trombositten zengin kan ürünlerinin içeriğindeki fibrin ağının yoğunluğu kişiden kişiye farklılık göstermektedir. Trombin yoğunluğunun yüksek olması hızlı polimerizasyona neden olur ve bunun sonucunda sıkı bir ağ yapısı oluşur. Fibrin ağının yoğun olması hücre migrasyonunu ve sitokin salınımını önlemektedir (147).

Hemostazda önemli olmasına ek olarak, fibrin pıhtısı aynı zamanda hücre adhezyonu, yayılması, göçü ve çoğalması için bir iskele sağlar. Fibrinojenin fibrine dönüşümüne eşlik eden yapısal değişiklikler, fibrine spesifik hücre tepkileri için bir temel sağlayan yeni reseptör bağlanma bölgelerini açığa çıkarır. Ayrıca son çalışmalar, pıhtılaşma ve bunu takip eden fibrinoliz sırasında salınan fibrin parçalanma ürünlerinin biyoaktif olabileceğini ve yara iyileşme süreciyle ilişkili fibroblastlar ve diğer hücre tipleri üzerinde doğrudan etkiler gösterebileceğini öne sürmektedir (146).

2.8 TROMBOSİTTEN ZENGİN PLAZMA (TZP/PRP)

Trombositlerin yara iyileşme sürecindeki anahtar rolünden dolayı son yirmi yıldır periodontal rejenerasyon için kullanılmaktadır. Her ne kadar fibrin yapıştırıcıların kullanımı son 30 yılda iyi bir şekilde belgelenmiş olsa da bunların kullanımı, hazırlıktaki karmaşıklık ve çapraz enfeksiyon riski nedeniyle tartışmalıdır (148,149). Bu yüzden daha az karmaşık bir üretim protokolü ile konsantre trombosit açısından zengin plazma (PRP) geliştirildi. Hastanın kendi kanından hazırlanır ve trombin ve kalsiyum ilavesiyle aktive edilir. Yapı, sınırlı miktarda trombosit bakımından zenginleştirilmiş plazma içeren, üç boyutlu, biyouyumlu bir fibrin iskelesinden oluşur.

PRP'nin oral cerrahi prosedürlerde ilk kullanımlarından biri olan Whitman ve ark. konakçıda ve kemik greftinde osteoprogenitör hücrelerin arttığını bildirmiştir. Protokol antikoagülanla kan almayı, iki aşamalı santrifüjlemeyi ve trombositlerin yapay polimerizasyonunu içeriyordu. Trombosit açısından zengin plazma, otolog trombositleri konsantre eden yöntemlerle üretilen fibrin yapıştırıcısının otolog bir modifikasyonudur (150).

PRP aktive edildiğinde büyüme faktörleri ve proteinler lokal ortama salınarak postoperatif yara iyileşmesi ve doku onarımı hızlanır (150). Ancak PRP kullanmanın dezavantajı, özelliklerinin trombosit konsantrasyonuna, lökosit miktarına, doku tipine bağlı olarak değişebilmesidir. PRP kullanımının bazı riskleri bulunmaktadır (128). PRP'de sığır trombininin varlığı, pıhtılaşma sürecini olumsuz etkileyerek pıhtılaşma faktörleri V, XI ve trombine karşı antikorların gelişmesine

neden olabilir. Ek olarak sığır trombin preparatları, yabancı bir proteinle karşılaştığında bağışıklık sisteminin aktivasyonuna yol açabilen pıhtılaşma faktörü V'i içerir. PRP kullanımının kanın işlenmesine ilişkin yasal kısıtlamalar, uzun sürede elde edilmesi ve hızlı büyüme faktörü salınımı yapması gibi dezavantajları bulunmaktadır (129). Bütün bunlar, PRP'nin birçok sınırlamasının üstesinden gelen, trombosit açısından zengin fibrin adı verilen yeni bir trombosit konsantresi ailesinin üretilmesine yol açmıştır. Santrifüj hızı ve süresi değiştirilerek konsantre büyüme faktörü (CGF), ileri trombosit zengin fibrin (A-PRF), enjekte edilebilen trombosit zengin fibrin (I-PRF) gibi materyeller geliştirilmiştir (131,151). Kullanılan bu farklı PRF materyellerinin santrifüj protokolleri şöyledir:

- 1- PRF (L-PRF) 2700 rpm 12dk
- 2- T-PRF 2700 rpm 12dk
- 3- A-PRF 1500rpm 14dk 500
- 4- CGF 2400-2700 rpm 12dk
- 5- I-PRF 700 rpm 3dk

PRF, hem yumuşak doku hem de sert doku iyileşmesini hızlandırdığı için periodontoloji alanında birçok klinik uygulamaya sahip güçlü bir otolog rejeneratif materyaldir.

2.9 Trombosit Zengin Fibrin (PRF/L-PRF)

Trombosit zengin fibrin, optimum iyileşmeyi sağlayan tüm moleküler ve hücresel elementleri içeren bir matrikstir (152). Herhangi bir ekleme olmaksızın elde edilen fizyolojik bir konsantredir. Bu fibrin, dolaşımdaki tüm bağışıklık hücrelerini ve tüm yüksek antijenik molekülleri içerir, dolayısıyla PRF membranlar tamamen kişiye özeldir ve allojenik bir greft dokusu oluşturamazlar.

PRF ilk olarak ağız, diş ve çene cerrahisi alanında kullanılmak üzere Fransa'da geliştirildi (153). Choukroun'un trombosit zengin fibrini (PRF), spesifik bir bileşime ve üç boyutlu mimariye sahip, lökosit ve trombosit zengin bir fibrin biyomateryalidir (154). PRF, herhangi bir antikoagülan eklenmeden doğal bir konsantre olarak hazırlandığı için ikinci nesil trombosit konsantresi olarak sınıflandırılır (153,155) PRF, Vivostat PRF (saf olarak kabul edilir) gibi benzer

isimlere sahip başka trombosit konsantreleri olduğu için genellikle Choukroun'un PRF'si olarak adlandırılır. PRF, lökositler, sitokinler, yapısal glikoproteinler¹⁵ ve ayrıca transforme edici büyüme faktörü $\beta 1$, trombosit kaynaklı büyüme faktörü, vasküler endotelial büyüme faktörü ve trombospondin-1 gibi glikoproteinler gibi büyüme faktörlerini içeren yoğun bir fibrin ağına sahiptir. PRF iskelesinde yoğunlaşan proteinler, büyüme faktörü salınımında, bağışıklık düzenlemesinde, anti-enfeksiyöz aktivitelerde ve yara iyileşmesi sırasında matrisin yeniden şekillenmesinde önemli bir rol oynar. PRF'nin yavaş polimerizasyon modu ve skatrisyel kapasitesi, yara iyileşmesi için uygun bir fizyolojik mimari oluşturur (156).

PRF hazırlanma protokolü, 2000 yılında Dr. Choukroun (4) tarafından icat edilmiştir. Standart bir protokol fibrin matrisinin, lökositlerin, trombositlerin ve büyüme faktörlerinin uygun miktar ve kalitede elde edilmesi için dikkatli bir PRF hazırlığı takip edilmelidir. PRF hazırlığı için gerekli ekipmanlar, masa santrifüjü, 24 gauge kalınlığında iğne ve 9 ml kan alma tüplerinden oluşan bir kan alma kitidir. Antikoagülan içermeyen hastadan 10 ml'lik tüplere kan örneği alınır ve tüpler hemen 2700 rpm hızında 12 dakika süreyle santrifüj edilir. Santrifüjleme işlemi sırasında kan, tüpün duvarına temas ettiğinde trombosit aktive olur ve pıhtılaşmanın başlamasına neden olur. Santrifüjden sonra elde edilen ürün üç katmandan oluşur. Tüpün en üst katmanı aselüler PPP (trombositten fakir plazma), ortada PRF pıhtısı ve alt kısmında RBC'lerden oluşur. Santrifüjden sonra elde edilen fibrin pıhtısı tüpten çıkarılır ve yapışan kırmızı kan hücreleri buradan kazınarak atılır. PRF ayrıca fibrin pıhtısında bulunan sıvıların sıkıştırılmasıyla membran şeklinde de hazırlanabilir.

PRF'yi membran şeklinde hazırlamak amacıyla pıhtıya yapılan basıncın PRF'nin içeriğini değiştirebileceği düşünülmektedir. PRF'nin üç boyutlu yapısında değişiklik meydana getirmediği fakat büyüme faktörünün içeriğini ve matriks yapısının niteliklerinde değişiklik oluşturabileceği belirtilmiştir (157). Bu sebeple, membran hazırlama protokolünün standardize edilebilmesi için Choukroun 2007 senesinde "PRF BOX (Process, Nice, France)" tasarlamıştır. Bu metal kutu 16 adet PRF membranın steril ortamda hazırlanmasını ve kullanım anına kadar istenen nemli bir şekilde saklanabilmesini sağlamaktadır (147).

Santrifüj işleminin sonunda, doğal koagülasyon mekanizmasının meydana getirdiği PRF'nin, kanın biyokimyasal modifikasyonuna gerek duyulmadan elde edilmesi sağlanmaktadır (158). PRF'nin ilave sıgır trombini içermemesi nedeniyle alerjik reaksiyon gerçekleşmez, bu nedenle kullanımı güvenilirdir. Ayrıca standart bir hazırlama protokolünün olması da bir avantajdır. PRF hazırlığında hızlı aktarım çok önemlidir. Kanın alımından santrifüj işlemine kadar geçen süre çok uzun olursa, tüp içinde oluşan fibrin dağınık bir şekilde polimerize olur ve sadece az miktarda bir kan pıhtısı oluşur (159).

PRF, hem sert hem de yumuşak dokunun iyileşme potansiyelini artıran trombositler, büyüme faktörleri ve sitokinler ile zenginleştirilmiştir (160,161). PRF iyileştirici bir biyomateryal olarak kabul edilmektedir. Kemik rejenerasyonunu ve yumuşak doku yara iyileşmesini arttırmak için implant ve plastik periodontal cerrahi prosedürlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (162,163). Choukron ve ark. PRF'yi ilk olarak implant cerrahisinde kemiğin iyileştirici özelliklerini arttırmak için kullandı. PRF ayrıca periodontal rejenerasyonu destekleyen trombosit türevli büyüme faktörü ve dönüştürücü büyüme faktörü gibi büyüme faktörlerini de serbestleştirir (143,153). Chang ve ark. yapılan bir çalışmada PRF'nin hücre proliferasyonunu spesifik bir şekilde uyardığı rapor edilmiştir (164). PRF, 3 günlük kültür periyodu sırasında osteoblastların, periodontal ligament hücrelerinin ve büyüme faktörlerinin hücre proliferasyonunu başlatarak oral epitel hücre büyümesini baskılamaktadır. Bu hücre tipine özgü eylemler periodontal rejenerasyon için faydalı olmaktadır.

Diss ve ark. PRF'yi greft materyali olarak kullanarak osteotomla sinüs tabanının yükseltilmesi üzerine yapılan 1 yıllık prospektif bir çalışmada, PRF'nin fibrin matrisinin doğrudan anjiyogenezi desteklediğini açıkça göstermiştir (165). PRF, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu için bir membran olarak kullanıldığında, gelişmiş bir yer oluşturma etkisi yaratır böylelikle mineralize doku oluşumuna yol açan ve periodontal rejenerasyon için uygun olan hücrelerin çoğalmasını sağlar. PRF, kemiğin yenilenmesi için yararlı olan doğal bir osteokondüktif ve/veya osteoindüktif özelliğe sahiptir. Sanchez ve ark. deneysel bir çalışmada PRP ve PRF'nin osteoblastların çoğalması ve farklılaşması üzerindeki etkisini karşılaştırmıştır. Bu çalışmanın sonucunda osteoblastların PRF membranına duyarlılığının, PRP'ye duyarlılığından daha üstün görüldüğü bildirilmiştir (166).

Chang ve ark tarafından PRF'nin periodontal ligament fibroblastlarında hücre dışı sinyalle düzenlenen protein kinaz fosforilasyonunu, osteoprotegrini ve alkalın fosfataz aktivitesini arttırdığını bulmuştur (163).

2.9.1 İleri Trombositten Zengin Fibrin(A-PRF)

A-PRF, Choukroun ve arkadaşlarının geliştirdiği ve daha fazla lökosit hücresi içeren yeni bir PRF türüdür (6). Hazırlanırken venöz kan antikoagölansız cam tüplere aktarılır ve 1500 rpm'de 14 dakika boyunca santrifüj edilir (167). Santrifüj işleminde diğer PRF türlerinden farkı g kuvvetinin azaltılmasıdır. İşlemin sonunda kan 3 tabakaya ayrılmış olur. En üstte bulunan hücreden fakir plazma (PPP) bir şırınga aracılığıyla ayrıştırılır. Altta kalan fibrin yapı ve kırmızı kan hücreleri cam tüpten presel yardımıyla uzaklaştırılır. A-PRF pıhtısı kırmızı kan hücrelerinden ayrılır (157). Elde edilen bu yapılar parçalı bir şekilde kesilip greft materyali ile karıştırılarak kullanılabilir veya membran şekline dönüştürülebilir.

A-PRF, L-PRF'ye göre daha homojen hücre dağılımı ve daha boşluklu pöröz bir yapıya sahip fibrin tabakası içermektedir. Eşit dağılım trombositlerde daha fazla görülmüştür. Ayrıca içeriğindeki enflamatuvar hücrelerin sayısının artışı G kuvvetinin azaltılmasıyla ilişkili bulunmuştur (167).

L-PRF ve PRP'ye kıyasla büyüme faktörlerinin salınımının daha fazla olduğu belirtilmiştir (129). A-PRF'nin enflamatuvar hücre sayısının ve büyüme faktörü salınımının daha fazla olması rejeneratif prosedürlerde kullanımını arttırmıştır.

2.9.2 Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin(İ-PRF)

İsmi enjekte edilebilme özelliğinden alan, antikoagölün içermeyen tüplerde kanın 700 rpm devirde 3 dk süreyle yatay santrifüj ile elde edilen trombosit zengin bir fibrin ürünüdür. Joseph Choukroun tarafından 2017 yılında geliştirilmiştir (168).

Santrifüj işlemi sonucunda ayrılan plazma ve trombositler, açık sarı renkli bir tabaka oluşurarak tüpün en üst kısmında yer alırlar. Bu kısım uzaklaştırılır ve geriye kalan kısım enjekte edilebilir hale gelir (6).

İ-PRF endotel hücrelerini ve kök hücrelerini de içermektedir. Bu nedenle, “kan konsantresi” olarak da adlandırılmaktadır (133). İ-PRF; kemik greft materyalleri ile birlikte kullanılarak (sticky bone) veya dişeti gibi dokulara direkt enjekte edilebilir kullanılabilmektedir(104). İ-PRF’te amaç PRF membran oluşturmada sıvı formda hastaya enjekte etmektir (169).

Miron ve ark. 2017 yılında yaptıkları bir çalışmada İ-PRF ve PRP ürünleri incelenmiştir. Başlangıçta PRP’de büyüme faktörü salınımı daha yüksek görülürken, onuncu günde İ-PRF’de toplam salınımın daha yüksek olduğu görüldü. İki fibrin ürünü de birbirlerine benzer doku uyumluluğu gösterdiler. PRP daha yüksek hücresel proliferasyonla ilişkiliyken, i-PRF daha yüksek hücresel göç gösterdi. Hücre kültüründe i-PRF, 7. günde TGF- β ve kollajen-1’in m-RNA ekspresyonunu indükledi (133).

2.9.3 Konsantre Büyüme Faktörü (CGF)

2006 senesinde Sacco tarafından geliştirilen ve güçlendirilmiş fibrin matrisi, büyüme faktörleri ve sitokinleri bulunduran PRF’nin yükseltilmiş bir çeşididir. Tek adımda daha kolay ve hızlı hazırlanması, PRP’ye göre büyük ve yoğun olması avantajlarından biridir. CGF iyi bir rejeneratif kapasiteye sahiptir. %100 otolog olmasıyla birlikte lökositler, trombosit ve büyüme faktörlerini de içermektedir (170).

CGF, venöz kandaki hücreleri ayırmak için 2400-2700 rpm arasında santrifüj edilir. Ortaya çıkan fibrin pıhtısı, faktör XIII ve trombin konsantrasyonu nedeniyle daha kalitelidir. Aktive olan Faktör XIIIa, fibrin pıhtısını çapraz bir şekilde bağlayarak stabiliteyi, gücü ve bozulmaya karşı korumayı artırır.

Santrifüjleme sonucunda 4 faza ayrılır. Bu tabakalar yukarıdan aşağıya doğru şu şekilde sıralanmaktadır:

- Pıhtılaşma faktörlerini içermeyen üst tabaka (Serum)
- Geniş fibrin blok içeren ara tabaka (Buffy Coat tabakası)
- Büyüme faktörlerini içeren sıvı tabaka
- Kırmızı kan hücrelerini içeren alt tabaka

CGF'nin kullanım alanlarında dişeti çekilmelerinin tedavisi, soket koruma prosedürleri, kemik defektlerinin tedavisi, sinüs lifting işlemleri bulunmaktadır (171).

2.9.4 Titanyum Trombositten Zengin Fibrin(T-PRF\T-TZF)

Titanyum trombositten zengin fibrin (T-PRF), Tunalı ve ark. 2013 senesinde cam tüplere kıyasla titanyum tüplerin daha etkili olabileceği düşüncesine dayanarak geliştirdiği yeni bir fibrin ürünüdür (172). Bu trombosit konsantresi, cam tüplerin ve silikanın olumsuz etkilerini önlemek için geliştirilmiştir. Titanyum tüplerin kullanımının sonucunda oluşan pıhtı, silika parçacıklarıyla aktive olan cam tüplerle elde edilen pıhtıya göre daha biyouyumludur.

Hazırlama yöntemi geleneksel PRF protokolüne benzerdir. 10 ml'lik antikoagülan bulunmayan titanyum tüplere kan örnekleri alınır ve zaman kaybetmeden 2700 rpm'de 12 dakika süre boyunca santrifüjlenir (8).

Tunalı ve ark. yaptığı bir çalışmada L-PRF ve T-PRF yapılarının histomorfolojik özellikleri ve SEM görüntüleri incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda T-PRF örnekleri, L-PRF örneklerine göre sürekli bütünlüğe sahip organize bir ağ yapısı göstermiştir Hücrel yapılar ile fibrin ağı arasındaki fibrin sınırı, T-PRF örneklerinde daha kalın ve daha belirgin görülmüştür (8).

T-PRF'nin 30 günden fazla rezorpsiyon süresine sahip olduğu bulunmuştur (7). Kemik rejenerasyonu ve yumuşak doku iyileşmesinde güzel sonuçlar vermesinin nedenleri rezorpsiyon süresinin uzun olması ve büyüme faktörleri açısından zengin bir içeriğe sahip olmasıdır (8).

T-PRF'nin dişeti çekilmelerinin tedavisinde, kemik içi defektlerin rejenerasyonunda, sinüs yükseltme prosedürlerinde, damak yara iyileşmesi gibi birçok periodontoloji alanında kullanım alanları bulunmaktadır (173)

2.10 Trombositten Zengin Kan Ürünlerinin Diş Hekimliğinde Kullanım Alanları

PRF, daha hızlı bir iyileşme sürecine hücre çoğalmasını ve matriks yapılanmasını hızlandırarak yardımcı olur. Bu nedenle tıpta ve diş hekimliğinde birçok kullanım alanı mevcuttur (174).

Otolog fibrin matriksine sahip olan PRF, çekim soketlerinin iyileşmesini hızlandırmak için kullanılmaktadır (175). PRF, kemik greft materyali veya yönlendirilmiş kemik rejenerasyonu prosedürlerinde bariyer membran olarak da kullanılabilir. Ayrıca ağız boşluğuna açılma ihtimaline karşın enfeksiyon riskinin bulunmaması diğer bariyer membranlara göre bir üstünlük sağlamaktadır (176). Çekim yuvalarına yerleştirilen PRF çapraz sütur yardımıyla stabilize edilir. 3 aylık bir iyileşme sürecinde fibrin pıhtısı bağ dokuya, kemiğe ve yumuşak dokuya dönüşmektedir.

PRF, tek başına sinüs membranını yükseltme ve lateral sinüs yaklaşımı prosedürlerinde pencereyi kapatma olanağını sağlamaktadır (174). Bu uygulama alanlarında başarı oranı yüksek olmasına karşın konuyla ilgili az sayıda çalışma vardır. Sinüs yükseltme ameliyatlarında kemik greftiyle kombine bir şekilde PRF'nin kullanımı iyileşme sürecini hızlandırmaktadır. Tatullo ve ark. 2012 yılında yaptıkları bir çalışmada implant yerleştirmeden önce PRF ve kemik grefti kombine edilerek sinüs yükseltme işlemi gerçekleştirilmiş ve histolojik incelemeler yapılmıştır. Histomorfometrik incelemeler sonucunda PRF ile tedavi edilen örneklerde zengin bir vaskülarizasyon ve yeni katmanlı kemik dokusu gözlenmiştir. zengin bir şekilde vaskülarize görünen, aralanmış stroma içeren katmanlı kemik dokusundan oluştuğunu gösterdi (177).

PRF'nin yaygın kullanım alanlarından biri de dişeti çekilmelerinin tedavisidir (178). Kalın biyotipli Miller Sınıf I ve II dişeti çekilmelerinin tedavisinde PRF kullanımı olumlu sonuçlar göstermiştir (179). PRF'nin bağ dokusu grefti yerine kullanımı yumuşak dokunun kanlanmasına, yara iyileşme hızına ve hasta morbiditesini iyileştirmeye katkıda bulunur. Ayrıca kök kapama oranı bağ dokusu greftine benzerdir (180). PRF kullanarak yapılan dişeti çekilmesi ameliyatları, damaktan bir bağ dokusu grefti alınmasına ihtiyaç duymaz böylelikle kök kapama işlemlerinde bağ dokusu greftine daha iyi bir alternatif olabilir.

PRF, yönlendirilmiş doku rejenerasyon işlemleri için çeşitli kemik greftleriyle birleştirilebilir veya tek başına bariyer membranı olarak kullanılmaktadır. İçeriğinde doğal büyüme faktörleri ve konakçı immün lökositleri bulunması nedeniyle diğer bariyer membranlara göre daha avantajlıdır (180). İçerdiği bu hücreler sayesinde enfeksiyon oranını azaltır. Bu sebeple PRF membranların ağız boşluğuna maruz olması bir sorun yaratmamaktadır(181).

PRF, implant cerrahisi öncesinde kemik defektlerinin onarımında da kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda kemik augmentasyon işlemlerinde daha iyi bir iyileşme sürecinin olduğu gösterilmiştir. PRF ile birlikte yapılan implantın 4 hafta sonraki implant yerleştirme sonrası stabilitesi, PRF kullanılmayan implanta göre daha iyi bir sonuç göstermiştir. Bu sonuç, PRF'nin içeriğindeki doğal büyüme faktörleri ve iyileştirici özellikleriyle ilişkilidir (182).

Trismus, özellikle gömülü mandibular üçüncü azı dişlerin çekiminden sonra sık karşılaşılan bir uzamış tetanik bir kas spazmıdır (183). Uyanık ve ark. yaptığı bir çalışmada çekim soketine PRF uygulanmış grup ile kontrol grubu (klasik çekim soketi) arasında trismusun boyutu incelenmiştir ve 1. günün sonucunda PRF uygulanan grupta daha anlamlı bir iyileşme görülmüştür (184). Diğer günlerde anlamlı bir fark görülmemiştir. Son yapılan çalışmalar PRF'nin ameliyat sonrası ağrı ve şişliği azaltmada olumlu bir etkisi olduğunu göstermiştir. Fakat PRF'nin trismus,ağrı ve şişlik üzerine faydalı etkileri henüz netlik kazanamamıştır ve daha fazla çalışmaya vardır .

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. (Tarih 18.07.2023 Karar 2023\246) (EK-1)

3.1 Çalışma Tasarımı ve Yönetimi

Çalışmaya Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'na yönlendirilmiş sistemik olarak sağlıklı ve doğal pıhtılaşma sürecine etki eden ilaç kullanmayan 15 hasta dahil edilmiştir.

Çalışma için hastalar bilgilendirildi ve katılımları kendi rızalarıyla gerçekleştiğini belirten bilgilendirilmiş hasta onam formları her hastadan alındı (EK-1).

Örneklem boyutu G. Power-3.1.9.2 programı kullanılarak, tip 1 hata 0.05 ve %80 power etki büyüklüğü olacak şekilde her bir grup için 12 birey olarak kabul edilmiştir. Çalışmada oluşabilecek hasta kayıpları düşünülerek minimum örneklem hacminin %25 fazla hesaplanarak örneklem büyüklüğü 15 birey olarak belirlenmiştir.

Çalışmamız, 22-63 yaş arasındaki sistemik olarak sağlıklı toplam 15 birey ile 4 grup olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışma grupları:

Grup 1: Sistemik olarak sağlıklı bireylerden elde edilen ilaç uygulanmamış T-PRF membranlar (n=15)

Grup 2: Sistemik olarak sağlıklı bireylerden elde edilen 0.5 ml (1,5 mg doksisisiklin hiklat) Doksisisiklin enjekte edilmiş T-PRF membranlar (n=15)

Grup 3: Sistemik olarak sağlıklı bireylerden elde edilen 1 ml (3 mg doksisisiklin hiklat) Doksisisiklin enjekte edilmiş T-PRF membranlar (n=15)

Grup 4: Sistemik olarak sağlıklı bireylerden elde edilen 2 ml (6 mg doksisisiklin hiklat) Doksisisiklin enjekte edilmiş T-PRF membranlar (n=15)

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 18-65 yaş arası olması
- Sistemik olarak sağlıklı olması
- Düzenli olarak herhangi bir ilaç kullanmaması
- Trombosit fonksiyon bozukluğu gibi T-PRF'nin yapısını etkileyebilecek rahatsızlığı olmayanlar

Çalışmaya Hariç Tutulma Kriterleri:

- Sistemik rahatsızlığı olan ve devamlı ilaç kullanımı olanlar
- Sigara(tütün) içenler
- Kanama bozukluğu veya trombosit fonksiyon bozukluğu olanlar
- Alkol ve madde bağımlılığı olan hastalar
- Hamilelik ve emzirme döneminde olanlar
- Gönüllü Olur Formu'nu doldurmayanlar

Çalışmamızın amacı hastalardan alınan kandan elde edilen T-PRF membranlara 0.5 ml, 1 ml ve 2 ml Doksisisiklin enjekte edilerek membranların ışık mikroskopuyla fibrin ağ paterni, antimikrobiyal aktivitesi, ilaç salınım miktarları, degradasyonla bozunma yüzdelerini incelemek ve kontrol grubuyla karşılaştırmaktır.

3.2 Trombosit ve Tam Kan Sayımı Yapılması

Çalışmaya katılmayı kabul eden ve dahil etme kriterlerimize uyan hastalar herhangi bir işlem yapılmadan önce trombosit ve tam kan sayımının yapılması için aile hekimine yönlendirildi.

3.3 Bireylerden Kan Alınması

Hastalardan, kliniğimizde antisepsi kurallara uygun olarak, her bir hastanın antekübital veninden uzman kişi tarafından 50 ml'lik enjektör yardımıyla 40 ml kan

örnekleri alındı ve enjektördeki kan 10'ar ml lik titanyum tüplere paylaştırıldı . Bu işlem 2 hafta sonra tekrarlandı. Toplamda 8 tüp kan elde edildi. Titanyum tüpler santrifüj işlemi için 2700 rpm'de 12 dk boyunca santrifüj işlemine tabi tutuldu.Santrifüj sonrası örnekler hızla Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Patoloji Anabilim Dalı'na iletildi ve T-PRF membran eldesi PRF Box kullanarak gerçekleştirildi.



Fotoğraf 3.1: Bireylerden kan alınması.

3.4 T-PRF'nin Elde Edilmesi

Hastalardan alınan 40 ml kan örnekleri, piyasada FDA onaylı orijinal L-PRF™ santrifüj cihazı olan IntraSpin™ (Intra-Lock International, ABD) (Fotoğraf 3.2) masa üstü santrifüj cihazına, dengenin sağlanması için karşılıklı olarak yerleştirildi. T-PRF elde etmek amacıyla, IntraSpin™ cihazında 2700 rpm santrifüj kuvvetinde 12 dakikaya ayarlandı.



Fotoğraf 3.2: IntraSpin™ masa üstü santrifüj cihazı

Santrifüj işleminden sonra titanyum tüp içinde oluşan 3 tabakanın ortasındaki fibrin tabakası, bir presel yardımıyla alındı ve en alt katmandaki yoğun eritrositlerin bulunduğu kırmızı tabaka ile sarı renkteki fibrin tabakasından sıyırıldı.

Elde edilen sarı fibrin tabakasını membran haline getirmek için PRF kutusu (Xpression™ Box Kit) kullanıldı. Membranların standart kalınlığa sahip olması için 1mm yüksekliğinde manyetik plakalar kullanıldı. T-PRF örnekleri, 1mm kalınlığa ulaşana kadar PRF kutusunun kapak ağırlığında 2 dakika boyunca bekletildi. (Fotoğraf 3.3) Fibrin tabakası PRF kutusunda 2 dakika beklemesi sonunda T-PRF membranlar elde edildi. (Fotoğraf 3.4)



Fotoğraf 3.3: Prf Kutusu

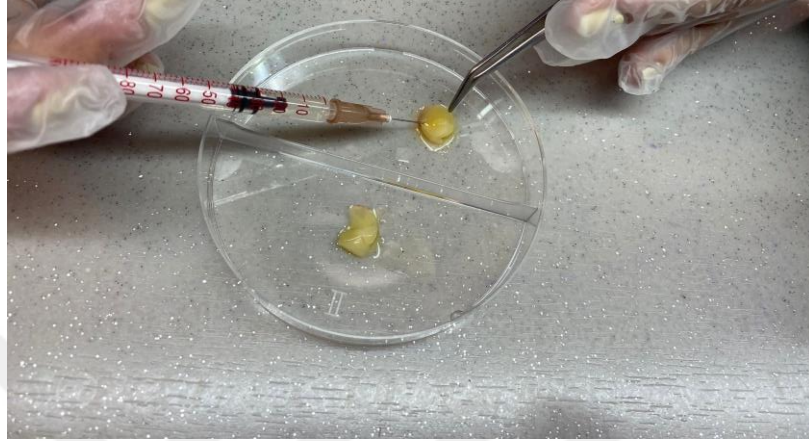


Fotoğraf 3.4: T-PRF Membranların Elde Edilmesi

3.5 T-PRF Membranlara Doksisisiklin Yüklenmesi

Bireylerden elde edilen 8 adet T-PRF membran örneklerinden 2 tanesi kontrol grubunda kullanmak amacıyla ilaç yüklenmesi yapılmadı. Membranlardan 2 tanesine 3 mg/mL konsantrasyonda 0.5 mL Doksisisiklin h  klat solüsyonu, 2 tanesine

aynı teknikle 3 mg/mL konsantrasyonda 1 mL Doksisisiklin solüsyonu, diğer 2 adet membrana ise aynı konsantrasyonda 2 mL Doksisisiklin solüsyonu enjekte edildi. (Fotoğraf 3.5)



Fotoğraf 3.5: T-PRF Membranlara Doksisisiklin Enjekte Edilmesi

3.6 T-PRF Membranların Degredasyonu

T-PRF membranlarının ağırlıkları, hassas terazi kullanılarak (Fotoğraf 3.6) (Sartorius CP225D Analytical Balances) gram cinsinden ölçüldü. T-PRF membranlarının bozunma hızlarını değerlendirmek amacıyla %7.4'lük PBS solüsyonunda 1 hafta boyunca orbital çalkalama cihazına (Unimax 1010 Orbital Shaker) yerleştirildi ve sürekli çalkalandı. Membranlar, 1 hafta sonunda distile su ile yıkanıp kurutuldu ve hassas terazi kullanılarak ağırlıkları gram cinsinden tekrar ölçüldü. Bozunma miktarı:

$$\% \text{ bozunma} = \frac{\text{ilk ağırlık} - \text{son ağırlık}}{\text{ilk ağırlık}} \times 100 \text{ şeklinde hesaplandı (185).}$$



Fotoğraf 3.6: T-PRF membranların ağırlık ölçümü için kullanılan cihaz.



Fotoğraf 3.7: T-PRF membranların orbital çalkalama cihazındaki yerleşimi

3.7 Histolojik İnceleme

T-PRF membranların hücre bloğu sitolojisini yöntemiyle gerçekleştirildi. İzlenen aşamalar aşağıdaki gibidir:

Doku tespiti: İzole edilen T-PRF yapısı, küçük bez poşete konulduktan sonra hasta numarası ile etiketlenerek kasetlere yerleştirildi. Bu kasetler, 24 saatlik bir süre boyunca formalin solüsyonunda sabitlendi. Doku tespiti işlemi, alınan doku örneğinin incelenmesine kadar geçen süre içinde doku parçasının bozulmasını (otoliz) önlemek ve canlı organizmadaki halini en yakın şekilde korumak için yapılan kimyasal bir koruma işlemidir.

Doku takibi: 24 saatlik sabitleme işleminden sonra, kasetler %10 formalin içeren bir kap içinden alındı ve delikli paslanmaz çelik bir kaba aktarıldı. Burada, kasetler çeşitli formalin derişimleri, alkol ve ksilene maruz bırakıldı. Bu işlem sonrasında kasetlerin dehidrasyonu, temizlenmesi ve parafin infiltrasyonu sağlandı. Doku takibinin amacı, dokulardan suyun uzaklaştırılması ve ince kesitlerin alınması için katı bir ortamın oluşturulmasıdır. Doku takibi işlemi, Leica ASP 300S cihazında gerçekleştirilmiştir.

Gömme: Leucar blokları, parafin kullanılarak yapılacak olan gömme işlemi için kalıp olarak kullanıldı. Bu aşama, doku parçasına destek sağlar ve slayt kesimi işlemini kolaylaştırır.

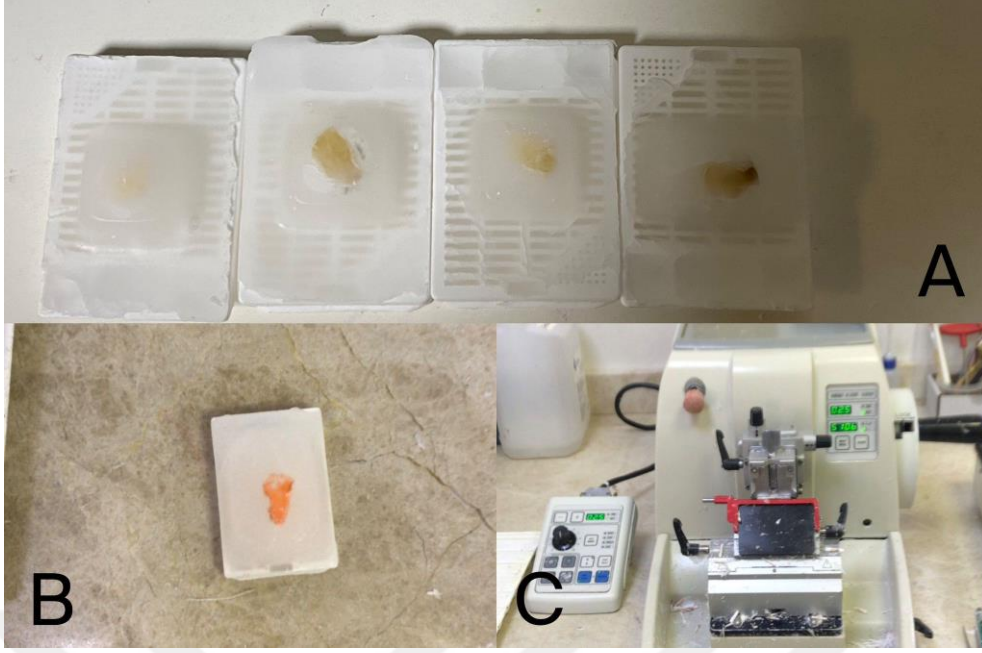
Kesit alma: Hazırlanan parafin bloklardan Leica RM2255 mikrotom ile 3 µm kalınlığında kesitler alındı.

Parafin uzaklaştırma (Deparafinizasyon): Deparafinizasyon işlemi, slaytların 55 °C'de ısıtılması ve ardından parafinin ksilene daldırılarak ortadan kaldırılmasıyla gerçekleştirildi. Bu işlemin amacı, dokuyu hidrofobik ortamdan çıkararak alkol ve su bazlı boyalar için hazır hale getirmektir.

Doku boyama: Alınan kesitler, hematoksilin-eozin histokimyasal boyası ile boyandı. (Fotoğraf 3.8)

Kesitler, LEICA DM 2000 LED marka ışık mikroskobunda farklı büyütme altında patologlar tarafından değerlendirildi.

T-PRF pıhtısı, hematoksilin-eozin boyalı lam kesitlerinde mikroskopik olarak kan elemanları yapışma indeksi (BEAI) kullanılarak analiz edildi.



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

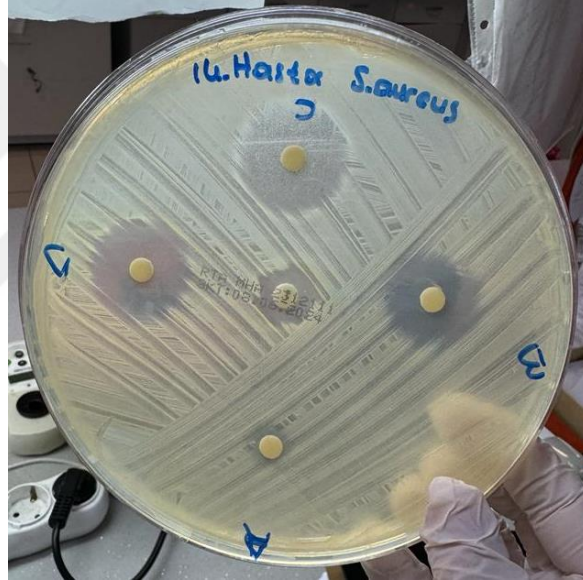
- Skor 0: Fibrin ağının olmaması
- Skor 1: Nadiren dağılmış fibrin ağı
- Skor 2: Birbiri içine zayıf bir şekilde geçen ince fibrin ağı
- Skor 3: Birbiri içine bol miktarda geçen yoğun fibrin ağı
- Skor 4: Birbiri içine bol miktarda geçen çok yoğun fibrin ağı

Hematoxilen-eozin boyalı kesitler çeşitli büyütme Infinity 3 Analyze Release 6.5 görüntüleme sistemi kullanılarak fotoğraflanmıştır.

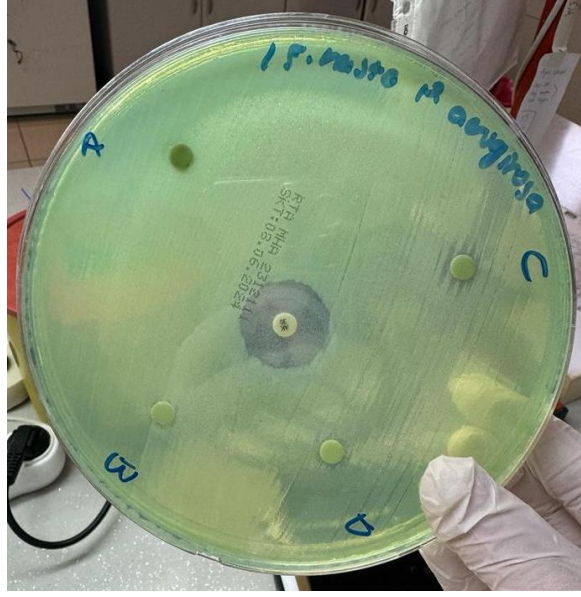
3.8 T-PRF Membranların Antibakteriyel Etkinliğinin İncelenmesi

Hazırlanan Doksisisiklin yüklenmiş T-PRF membran örnekleri enine olacak şekilde üçe ayrılıp 2/3'lük parçası antibakteriyel aktivitelerinin incelenmesi için araştırılmıştır. Membranlar steril koşullarda boş disklerle (Schleicher & Schül, Nr. 2668, Almanya) emdirilmiştir. Antibakteriyel aktiviteleri araştırmak için disk difüzyon tekniği kullanılmıştır (186). Standart suş olarak *P. aeruginosa* ATCC 27853 ve *S. aureus* ATCC 29213 bakterileri kullanılmıştır. Bakteriyel stok kültür

hazırlanması amacıyla suşlar 37 °C etüvde 24 saat boyunca 10 mL sıvı besiyeri (OXOID) içinde bekletilmiştir. Daha sonra, sıvı besiyerinden alınan bakteriler katı besiyeri olan Koyun Kanlı agar üzerine 50 µL $0,5 \times 10^8$ CFU/mL olacak şekilde kültürü inoküle edilmiştir. Zaman kaybetmeden Doksisiklin yüklenmiş T-PRF örneklerini içeren diskler bakteri inoküle edilen katı besiyerinin üzerine yerleştirilmiştir. Aynı zamanda kontrol olarak *S. aureus* bakterisi için penisilin(P), *P. aeruginosa* bakterisi için amikasin (AK) antibiyotik diskleri kullanılmıştır. Besiyerleri 24 saat boyunca etüvde 37 ° C'de inkübe edilmiştir. Ertesi gün malzemelerin etrafındaki inhibisyon alan çapları (IZD, mm) temiz zon çapına bağlı olarak ölçülmüştür (Fotoğraf 3.9).



Fotoğraf 3.9: Disk difüzyon tekniğiyle *S. aureus* antibakteriyel aktivitesinin incelenmesi

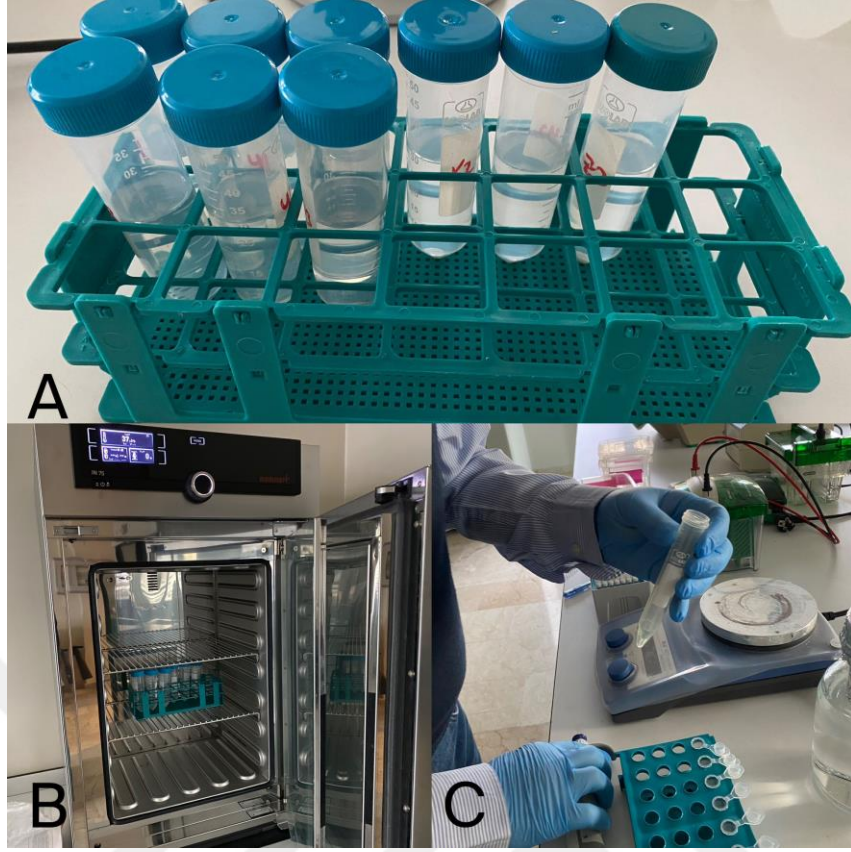


Fotoğraf 3.10: Disk difüzyon tekniğiyle *P. aeruginosa*'nın antibakteriyel aktivitesinin incelenmesi

3.9 T-PRF Membranların İlaç Salınımlarının İncelenmesi

Doksisiklin yüklenmiş T-PRF örnekleri ilaç salınımı için, bir parça alınarak antibiyotik yüklü T-PRF membran hiç beklemeden Falcon tüplerinde bulunan 20 mL PBS solüsyonuna aktarıldı. İlaç yüklenmiş T-PRF membranları içeren Falcon tüpleri, bu süre boyunca 37 °C'lik inkübatöre yerleştirildi (Fotoğraf 3.11).

İlaç salınım miktarları, PBS'de Doksisiklin solüsyonu için önceden hazırlanmış kalibrasyon eğrilerine karşı 350 nm dalga boyunda UV-Vis spektroskopisi (Specord® 210 Plus) kullanılarak 1, 2, 3, 4, 5, 20, 30, 48, 72 saat aralıklarla izlendi (Fotoğraf 3.12).



Fotoğraf 3.11: A: Doksisisiklin yüklü T-PRF membranların Falcon tüplerine yerleştirilmiş görüntüsü B: 37 °C'ye ayarlanmış inkübatör cihazı C: Falcon tüplerinden belirli aralıklarda numunelerin alınması



Fotoğraf 3.12: İlaç salınımların incelendiği cihaz (Specord® 210 Plus)

3.10 İstatiksel Analiz

Çalışma için gereken minimum örneklem sayısı tip 1 hata 0.05 ve %80 power, etki büyüklüğü 0.5 olacak şekilde her bir PRF grubu için 12 örnek olacak şekilde hesaplanmıştır. Gözlemlerde oluşabilecek kayıplar düşünüldüğünde elde edilmesi gerek minimum örneklem hacminin %25 artırılarak minimum örneklem 15 olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel analizler IBM SPSS 25 programı kullanıldı. Verilerin normalliği Shapiro-Wilk testi ile incelendi. Gruplar arası karşılaştırmada; normal dağılılan verilerde One Way Anova, normal dağılmayan veriler için Robust Anova testi kullanıldı. Kategorik değişkenlerin analizi için Ki-Kare testi uygulandı. Grup içi zamana bağlı değişim karşılaştırmasında, Independent Samples T testi, normal dağılmayan veriler için Wilcoxon testi kullanıldı. $P < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamız 0,5 ml, 1ml, 2ml doksisisiklin yüklemesi yapılan T-PRF membranlar ve ilaç yüklemesi yapılmayan T-PRF membranlar olmak üzere 4 grup olarak planlandı. Çalışmaya pıhtılaşma bozukluğu bulunmayan sağlıklı 15 birey katıldı. Çalışmamızda farklı dozlarda uygulanan doksisisiklin yüklenen T-PRF membranların yapısı in vitro inceleyerek klinik uygulamadaki en etkin doz miktarı, antimikrobiyal etkinlik, membranların fibrin ağ yapıları ve rezorpsiyon süreleri değerlendirildi.

4.1 Demografik Bulgular

Çalışmamıza 22-63 yaşları arasında toplam 8 kadın 7 erkek birey olmak üzere 15 hasta dahil edildi. Hastaların yaş ortalamaları kadınlarda $35,625 \pm 12,199$, erkeklerde $44,142 \pm 14,96$ ' idi. Kadın ve erkek bireyler arasındaki yaş ortalamalarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ($p=0,422$) (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Çalışmaya katılan bireylerin demografik bilgileri

	Yaş (Ortalama ±Ss)	Ortanca	Minumum	Maksimum	P değeri
Kadın	35,625±12,199	31,5	22	55	0,422
Erkek	44,142±14,96	48	23	63	
Toplam	39,6±13,772	34	22	63	

Veriler, ortalama ± standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir. Independent Samples T Test

4.2 Hastaların Kan Parametrelerinin Karşılaştırılması

Çalışmamıza katılan bütün hastaların güncel tam kan sayımı değerleri alınmıştır. Alınan değerler Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2: Bireylerin kan parametreleri

	Ortalama($\pm$Ss)	Ortanca	Hasta sayısı
WBC	6,621 $\pm$ 1,4	6,19	15
RBC	4,816 $\pm$ 0,542	4,8	15
HCT	40,893 $\pm$ 2,782	41,1	15
MCV	85,6067 $\pm$ 8,813	87	15
PDW	15,426 $\pm$ 9,946	14,2	15
MPV	9,74 $\pm$ 1,33	9,6	15
PLT	283,133 $\pm$ 63,559	287	15

(WBC: Lökosit sayısı, RBC:Eritrosit sayısı, PLT: Trombosit sayısı, PDW: Trombosit dağılım genişliği, MPV:Trombosit volümü, MCV:Ortalama eritrosit hacmi, HTC:Hemotokrit)

4.3 Degredasyon Verileri

Çalışmamızda kontrol grubu, 0.5 ml ilaç, 1 ml ilaç ve 2 ml ilaç yüklenen T-PRF membranların degradasyon yüzdeleri karşılaştırıldı.

Hastalardan elde edilen 4 adet T-PRF membranın kimyasal bozunma miktarları orbital shaker cihazında 1 hafta süreyle tutularak başlangıç ağırlıklarından son ağırlıklarının çıkarılması ve bu sonucun başlangıç ağırlığına bölünerek yüz ile çarpılması ile elde edildi.

İlaç yüklü T-PRF membranların degradasyon yüzdeleri kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük görüldü. 2 ml ilaç yüklü T-PRF membran grubunun degradasyon yüzdesi istatistiksel olarak diğer test gruplarına kıyasla anlamlı olarak daha az bulundu. ($p=0,0007$)

Tablo 4.3: T-PRF membranların degradasyon verilerinin ortalaması

Gruplar	N	Ortalama($\pm$ Ss)	P değeri
Kontrol Grubu	15	11,2 $\pm$ 11,05	NS
0,5 ml ilaç	15	3,04 $\pm$ 1,59	0.007*
1 ml ilaç	15	3,42 $\pm$ 4,06	0.032*
2 ml ilaç	15	2,84 $\pm$ 1,57	0.0007*

*: $p < 0,05$ gruplar arası istatistiksel fark var. Veriler, ortalama $\pm$ standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir. Bonferroni düzeltmeli post-hoc test Wilcoxon testi kullanıldı. N: Birey sayısı

4.4 Fibrin Ağ Deseni Skoru

Hematoksilen-eozin boyalı lamlarda mikroskop altında incelenen T-PRF membranlar, kan elemanlarının yapışma indeksi (BEAI) kullanılarak analiz edilmiştir. Bu analiz sonucunda, membranlar fibrin yoğunluklarına göre 0'dan 4'e kadar değişen skor değeri verildi.

Tablo 4.4: Fibrin ağ desen skorlarının birey sayısına göre dağılımı

Fibrin Ağ Desen Skoru	Kontrol Grubu	0,5 ml ilaç	1 ml ilaç	2 ml ilaç	Total	P değeri
2	13	13	8	4	38	$\leq 0,001^*$
3	2	2	7	11	22	
Total	15	15	15	15	60	

*: $p < 0,05$ gruplar arası istatistiksel fark var. Ki-kare testi

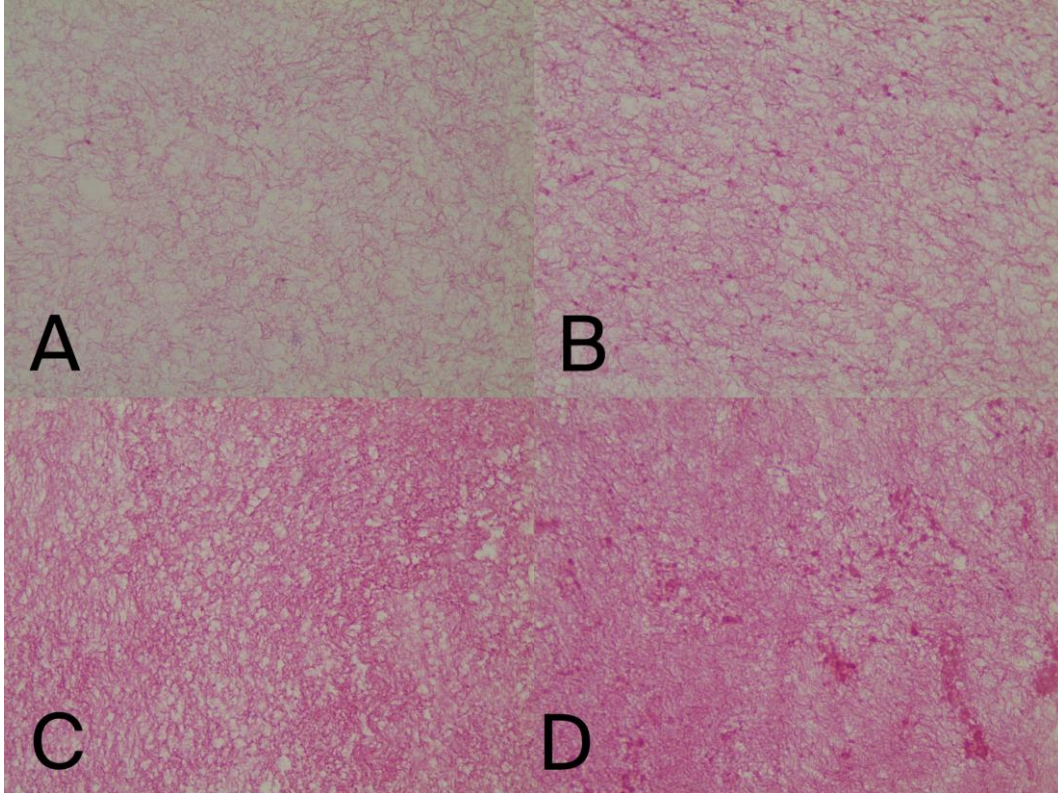
Test grubundaki T-PRF membranlarının fibrin ağ desen skorlarının ortalamaları hesaplanmıştır. İncelenen membranlar en düşük 2, en yüksek ise 3 skoruna sahipti. 2 ml ilaç yüklü T-PRF membran grubunda 0.5 ml ve 1 ml ilaç yüklü membranlara kıyasla daha yüksek fibrin ağ deseni skoru görüldü. İstatiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu. ($p \leq 0,001$)

Tablo 4.5: Bireylerin fibrin ağ desen skorlarının ortalaması

	Ortalama± Ss	Ortanca	Minimum	Maksimum
Kontrol Grubu	2±0,53	2	2	3
0,5ml ilaç	2,13±0,35	2	2	3
1 ml ilaç	2,46±0,51	2	2	3
2 ml ilaç	2,73±0,45	3	2	3
Total	2,33±0,54	2	2	3

Veriler, ortalama ± standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir. Independent Samples T Test kullanıldı.

4.5 Işık Mikroskobu Altında Histolojik İnceleme Sonuçları



Fotoğraf 4.1: A: İlaç yüklenmemiş T-PRF membranının ışık mikroskopunda x400'lük büyütmedeki görüntüsü B:0.5 mL ilaç yüklü T-PRF membranının ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüsü C: 1 mL ilaç yüklü T-PRF membranının ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüsü D: 2 mL ilaç yüklü T-PRF membranının ışık mikroskopuyla x400'lük büyütme görüntüsü

4.6 Antibakteriyel Aktivite

T-PRF membranların antibakteriyel aktiviteleri *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı 2 günlük inkübasyon süresince araştırıldı. Disk difüzyon tekniğiyle incelenen T-PRF membranlar inhibisyon alan çapları ölçülerek gösterildi. İki günün sonunda tüm gruplarda *P. aeruginosa*'ya karşı herhangi bir antibakteriyel aktivite görülmedi.

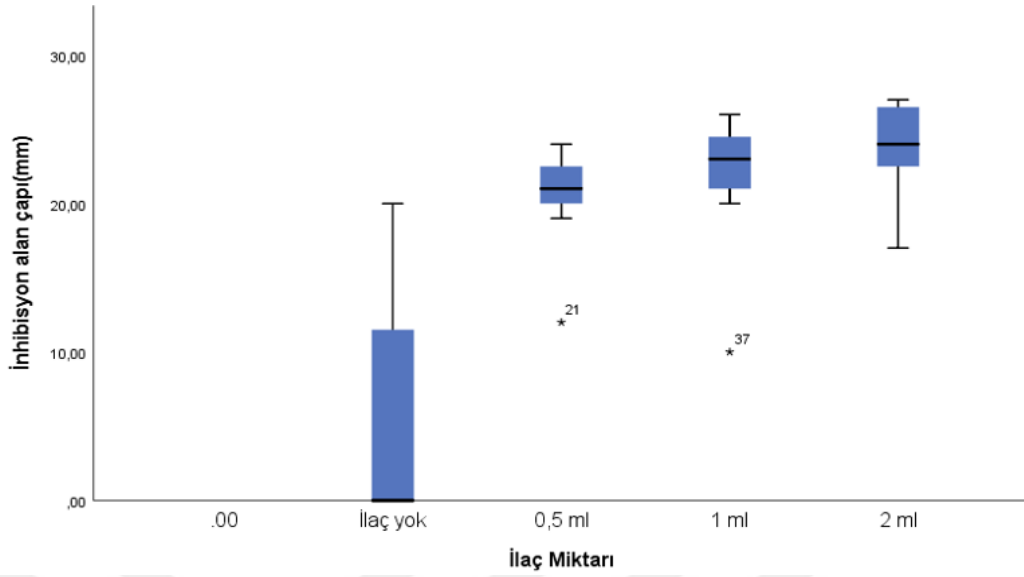
S. aureus'a karşı antibakteriyel aktivite kontrol grubunda ortalama $6,2 \pm 0,11$ mm, 0,5 ml ilaç yüklü grupta ortalama $21,33 \pm 0,09$ mm, 1 mL ilaç yüklü grupta $24,66 \pm 0,13$ mm, 2 mL ilaç yüklü grupta ise $27,33 \pm 0,11$ mm IZD ile önemli bir bakteriyel inhibisyon görüldü. Tablo 4.6'da gösterildiği gibi *S.aureus*'a karşı en büyük antibakteriyel aktivite 2 mL ilaç yüklü grupta gözlemlendi. Yüklenen ilaç dozu arttıkça *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktivitenin de arttığı görüldü.

Tablo 4.6: *S. aureus*'a gelişen inhibisyon alan çaplarının(mm) ortalaması

	Birey Sayısı	Ortalama $\pm$ Ss
İlaç yok	15	$6,2 \pm 0,11$
0,5 ml ilaç	15	$21,33 \pm 0,09$
1 ml ilaç	15	$24,66 \pm 0,13$
2 ml ilaç	15	$27,33 \pm 0,11$
Total	60	$23,5 \pm 0,06$

Veriler, ortalama $\pm$ standard sapma (Ss) olarak ifade edilmektedir. Independent Samples T Testi

Şekil 4.1: *S.aureus*'a gelişen inhibisyon alan çaplarının (mm) grafiği

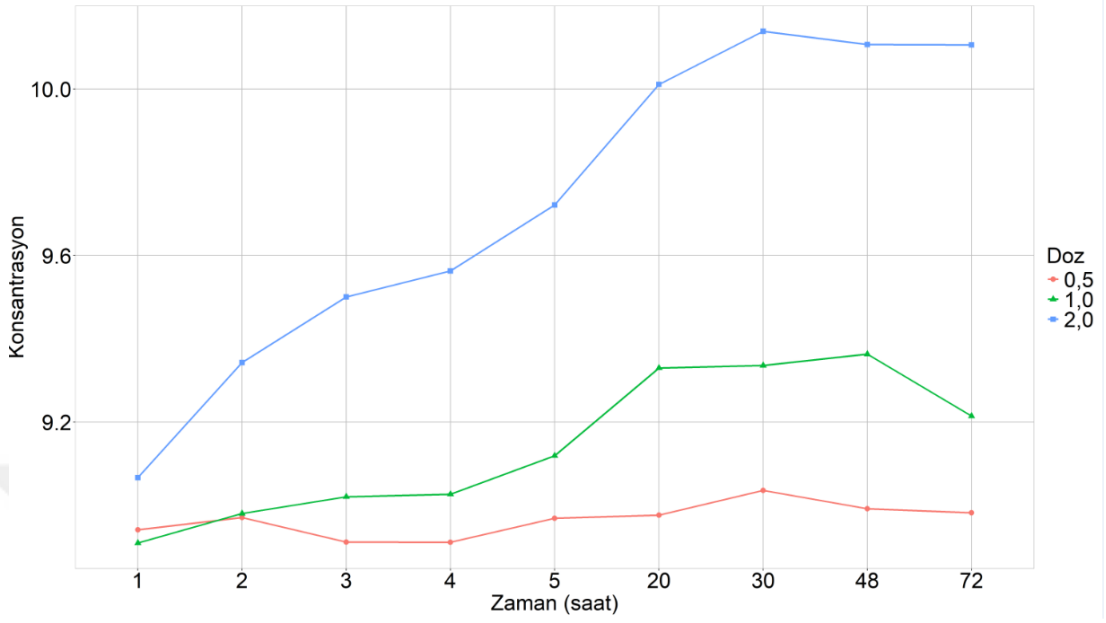


4.7 İlaç Salınımı

Hazırlanan ilaç yüklü T-PRF membranların antibiyotik salınımı, pH 7,4 ve 37 °C'lik fizyolojik koşullarda araştırıldı. Membranların µg/ml cinsinden doksisisiklin salınım profilleri Şekil 4.2'de gösterilmektedir.

0.5 ml ve 2 ml ilaç yüklü T-PRF membranlar 30. Saatte, 1 ml ilaç yüklü T-PRF membranlar ise 48. saatte maksimum salınım kapasitesine ulaştı. Kümülatif salınımla 72 saate kadar yavaş yavaş salınım devam etti. Test edilen gruplar arasında 2 ml ilaç yüklü T-PRF membran grubu daha yüksek miktarda ilaç salınım yapan gruptu ($p \leq 0,001$).

Şekil 4.2: Farklı dozlarda yüklü T-PRF membranların zamana bağlı ilaç salınım konsantrasyonları ($\mu\text{g/ml}$)



5. TARTIŞMA

Lokal anti-enfektif ajanlar, son yıllarda periodontal hastalıkların tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Lokal ilaç salınım sistemlerinin sistemik yan etkilerin bulunmaması ve bakteriyel direnç olmaksızın hedef bölgede yüksek ilaç konsantrasyona ulaşmaları gibi birçok avantajı bulunmaktadır. Lokal anti-enfektif ajanların uygulanması, kullanılan taşıyıcılar ve farmakolojik ajanlar açısından çeşitlilik göstermekte olup, bu konu geniş çapta araştırılmaktadır (187). Güncel çalışmalarda, sürekli ilaç dağıtım sistemleri, filmler, lifler, jeller, nanopartiküller vb. gibi sentetik ve doğal moleküller ve polimerlerin çeşitli formülasyon teknikleri kullanarak terapötik maddenin uzun süreli ve kontrollü bir şekilde salınması araştırılmaktadır (188).

Literatürde doksisisiklinin doğrudan periodontal cebe yerleştirilerek lokal anti-efektif ajan olarak kullanımıyla ilgili birçok çalışma bulunmaktadır (189,190). Başka bir çalışmada, doksisisiklinin inhalasyon yoluyla dağıtımı için sodyum karboksimetil selüloz, sodyum aljinat, polivinil alkol, polivinilpirolidon, nişasta ve karbopol gibi çeşitli muko yapışkan polimerlerden türetilen mikropartikül bazlı taşıyıcı sistemlerin kullanıldığı bildirilmiştir (191).

Lokal antibiyotik uygulama yolunun subgingival bölgelerde sistemik tedaviye kıyasla çok daha yüksek terapötik dozlara ulaşabileceği bilinmektedir (33,192). Ayrıca tetrasiklinin kök yüzeylerine kalıcılığı periodontal cepte uzun süreli varlığından kaynaklandığı bilinmektedir (34). Mekanik tedavi ile kombine sistemik tetrasiklin/doksisisiklin tedavisinin, dirençli periodontitis hastalarında klinik parametreleri iyileştirdiği, sondalama derinliğini azalttığı ve klinik ataçman kazancını arttırdığı gösterilmiştir (193,194).

Needleman ve ark. (189) sigara kullanan periodontitisli hastalarda cerrahi olmayan periodontal tedavi ve bu tedaviye ek olarak kullanılan DDD'in etkisini karşılaştırmışlar ve iki grup arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir. Yazarlar sigara içen periodontitis hastalarında DDD'in cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak kullanmanın anlamlı bir fark olmadığını bildirmişlerdir. Lee ve ark.'nın yaptıkları diğer bir çalışmada (190), cerrahi olmayan periodontal tedaviye ek olarak DDD'in etkinliği değerlendirilmiştir. Çalışma boyunca sondalama derinliği, klinik

ataçman kaybı, DOS miktarı ile MMP-8 ve MMP-13 düzeylerine bakılmıştır. Kontrol grubunda tüm klinik parametrelerde azalma görülse de DDD grubunda daha fazla bir azalma görülmüştür. MMP-8 ve MMP-13 seviyelerindeki azalmalar DDD grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha yüksek tespit edilmiştir. Bu çalışma periodontitis hastalarının uzun vadeli tedavisinde DDD tedavisine ek cerrahi olmayan periodontal tedavide etkin bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

Güncel yapılan bir çalışma, cerrahi olmayan periodontal tedavinin konak modüle edici bir ajan olan düşük doz doksisisiklin ile desteklenmesinin, şiddetli periodontitisli hastalarda derin ceplerin azaltılmasında klinik ve istatistiksel olarak anlamlı faydalar sağladığı gösterilmiştir (195). Cerrahi olmayan periodontal tedavi ile kombine lokal doksisisiklin tedavisinin sonuçları, diş taşı temizliğine ve subgingival küretaj işlemine yanıt vermeyen hastalarda (196) mekanik tedavi ile birlikte lokal uygulanan doksisisiklin ile olumlu klinik sonuçlar elde edilmiştir (197).

Stoller ve ark. yaptığı bir çalışmada, diş eti oluşu sıvısı (DOS), tükürük ve serumda biyolojik olarak parçalanabilen kontrollü salım sisteminden (Atridox™) doksisisiklin hiklatın salınım profili sistemik doksisisiklin dozlarıyla karşılaştırmış ve lokal uygulanan doksisisiklin grubunun sistemik olarak alınan doksisisiklin grubuna göre dişeti oluşu sıvısında daha yüksek ilaç konsantrasyonuna ulaşmıştır (198).

Trombositten zengin ürünler, yara iyileşmesi (199), furkasyon defektleri(173), diş eti çekilmelerinin tedavisi (200), periodontal kemik içi defektlerin rejenerasyonu, cerrahi olmayan periodontal tedavi ve çekim soketleri gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.

T-PRF, fibrin yapısı olarak L-PRF'ye benzemekle birlikte bazı farklılıklar göstermektedir. 2020 yılında Bhattacharya ve arkadaşlarının sağlıklı bireylerde yaptığı L-PRF ve T-PRF membranlarının karşılaştırılmasında, T-PRF'nin silika cam tüplerde hazırlanan L-PRF'ye kıyasla periodontal rejenerasyon alanında daha avantajlı olduğu ortaya koymuştur (201). Gummaluri ve arkadaşlarının kemik içi defektlerin tedavisine yönelik yaptıkları çalışmada ise T-PRF'nin, L-PRF'ye kıyasla defekt dolumunda daha etkili olduğu belirtilmiştir (202). Çalışmalar, T-PRF membranının, L-PRF membranına kıyasla silika cam partikülleri içermemesi, daha

kalın ve belirgin fibrin ağına sahip olması, daha iyi organize fibrin ve matriks yapısı içermesi nedeniyle tercih edilmesini desteklemektedir (203).

Literatürde PRF membranların farklı formlarda antibiyotik yüklenerek lokal ilaç taşıyıcısı olarak kullanıldığı birçok çalışma bulunmaktadır (204,205). Alhaffar ve ark.'nın farklı formlarında ve dozlarda Linkomisin kullanarak L-PRF membranların antibakteriyel etkinliklerini inceledikleri çalışmada *S.aureus* ve *E. faecalis* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitede en yüksek 0.5 ml ampül formundaki ilaç yüklü L-PRF membranının olduğu görülmüş ancak gruplar arası karşılaştırmada istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (204).

Polak ve ark. çalışmalarında üç farklı antibiyotiği (metronidazol, klindamisin ve penisilin) üç farklı dozda (0.5 ml, 1 ml ve 2 ml) L-PRF membranlara santrifüj öncesi yükleyerek *S. aureus* ve *F. nucleatum* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitelerini ve PRF membranların fiziksel özelliklerini incelemişlerdir. Çalışmada 1 ve 2 ml ilaç yüklenen gruplar santrifüj sonrası PRF membran yapısını bozduğu için bu grupların antibakteriyel aktiviteleri incelenememiştir. 0.5 ml ilaç yüklü PRF membran grupları test edilen iki bakteriye de karşı 4 gün boyunca önemli bir antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca klindamisin ve penisilin yüklü PRF membranlarda, *S. aureus*'a karşı istatistiksel olarak daha anlamlı antibakteriyel aktivite görülmüştür (205).

Çalışmamız bilgimiz dahilinde, farklı dozlarda doksisisiklin yüklü T-PRF membran yapısını in vitro inceleyen ilk çalışmadır. Çalışmamızda farklı dozlarda doksisisiklin yüklü T-PRF membran yapısının bozunma hızına, antimikrobiyal aktivitesine, ilaç salınımına ve fibrin ağ desen skoru üzerine etkilerini incelendi.

Çalışmamıza katılan hasta popülasyonu 22-63 yaş arası bireylerden oluşmaktadır. 18 yaş altı hastalar, büyüme ve gelişim dönemindeki hormonal dalgalanmaların kan parametrelerini etkileyebilmesi nedeniyle çalışma dışında bırakılmıştır. Aynı şekilde, 65 yaş üstü hastalar da sistemik hastalıklar ve ilaç kullanımı nedeniyle çalışmaya dahil edilmemiştir.

Çalışma sonuçlarımıza göre kontrol grubunda %11,2, 0.5 ml ilaç yüklü grupta %3,04, 1 ml ilaç yüklü grupta %3,42 ve 2 ml ilaç yüklü grupta %2,84 degradasyon

yüzdesine sahip olduğu bulunmuştur. Çalışmamızda kontrol grubuna kıyasla ilaç yüklü olan membranların oldukça düşük degradasyona uğradığı, doz miktarı arttıkça degradasyon yüzdesinin ve bozunma hızının azaldığı görülmüştür.

Literatürde farklı dozlarda doksisisiklin yüklü T-PRF membranların degradasyon oranını inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Sam ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sağlıklı bireylerden elde edilen T-PRF membranın fiziksel özellikleri kollajen membranlarla kıyaslanmış, bir haftalık in vitro çalkalama testinden sonra T-PRF membranın başlangıç ağırlığının yaklaşık %36'sının bozunduğu tespit edilmiştir (206).

Ravi ve arkadaşları, A-PRF, L-PRF ve T-PRF membranlarının bozunma hızlarını değerlendirdikleri çalışmada, membranlar, %7,4'lük PBS solüsyonunda, 50 rpm'lik orbital çalkalayıcıda bir hafta süreyle bekletilmiştir. Yedinci günün sonunda, L-PRF membranın bozunma hızı %85 ile en yüksek, A-PRF membranın bozunma hızı %84 ile ikinci sırada ve T-PRF membranın bozunma hızı %82 ile en düşük olarak tespit edilmiştir (185). Bu durum, T-PRF membranının daha yoğun ve sıkı fibrin ağına sahip olmasıyla açıklanabilir.

Saeed ve arkadaşları, farklı sterilizasyon yöntemleri kullanılarak steril edilen PRF membranların bozunma miktarlarını değerlendirdikleri çalışmada, PRF membranları, PBS solüsyonunda 10 gün boyunca çalkalama cihazında bekletmişler ve bu sürenin sonunda en fazla bozunma miktarı, steril edilmeyen PRF membranlarda (kontrol grubu) gözlenmiştir (206).

Farklı membran tiplerinin bozunabilirliği tripsin ve EDTA içeren PBS solüsyonlarında bozunma miktarları değerlendirildiği bir çalışmada, PPTF membranlarının diğer fibrin membranlardan daha hızlı bozunduğu ve A-PRF ile CGF'nin bozunma oranlarının ise benzer olduğu gösterilmiştir (207).

Çalışmamız literatürdeki benzer çalışmalar referans alınarak (206,207) T-PRF membranlar PBS solüsyonunda bir hafta süreyle orbital çalkalama cihazında bekletilmiştir.

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

Dental implant yüzeylerinde mikrobiyal kolonizasyon, peri-implantitisin başlaması ve ilerlemesi için tetikleyici bir faktör olabilir. Peri-implantitis lezyonları genellikle karmaşık bir anaerobik bakteri topluluğu içerir. Ancak, hastalığın başlangıcı ve ilerlemesinde *Staphylococcus aureus*'un önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (208). *Pseudomonas aeruginosa* ise birçok kronik enfeksiyonda tanımlanan bir bakteridir ve laboratuvar ortamında biyofilm oluşturma ve antibiyotik direnci geliştirme kabiliyetine sahiptir (209). Bu yüzden çalışmamızda bu iki bakteriye karşı farklı dozlarda doksisisiklin yüklü T-PRF membranların antibakteriyel aktivitesini inceledik.

Çalışmamızda ilaç yüklenmeyen, 0.5 ml, 1 ml ve 2 ml doksisisiklin yüklü T-PRF membranların *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinlikleri araştırıldı. *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinlik ilaç yüklememsi yapılmayan grupta 6,2 mm IZD, 0.5 ml ilaç yüklü grupta 21,3 mm IZD, 1 ml ilaç yüklü grupta 24,6 mm IZD, 2 ml ilaç yüklü grupta ise 27,3 mm IZD ölçüldü. Doz miktarı arttıkça *S. aureus*'a karşı etkinlik artırmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. *P. aeruginosa* ise çalışmamızdaki bütün gruplara karşı dirençli bulundu.

EUCAST'ın 2022 yılı konsensus raporuna göre *P. aeruginosa* tetrasiklin grubu antibiyotiklere dirençli bakterilerdir fakat değişken özellik gösteren bakteriler oldukları için duyarlılıkları da bu gruptaki antibiyotiklere göre değişmektedir. Çalışmamızda *P. aeruginosa* doksisisikline dirençli bulunmuştur. Bunun sebebi bakterinin incelendiği ortam özelliklerine, zamana, ısıya ve farklı suşların kullanımına göre değişken duyarlılık göstermesiyle açıklanabilir.

Ercan ve ark. yaptığı bir çalışmada ilaç yüklenmemiş T-PRF membranın, 0.5 ml Doksisisiklin yüklü T-PRF membranın ve 0.5 ml Doksisisiklin yüklü kollajen süngerin *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteleri incelenmiştir. Deney süresi boyunca doksisisiklin yüklü T-PRF'nin ilaç yüklenmeyen T-PRF'ye kıyasla her iki bakteriye karşı daha fazla inhibisyon alanı oluşturduğu görülmüştür.

Kollajen sünger grubunda neredeyse hiç inhibisyon bölgesi oluşmamıştır. Bu çalışmada T-PRF, her iki bakteri türüne karşı da antibakteriyel etki göstermiştir (210).

Feng ve ark. yaptığı bir çalışmada yatay santrifüjleme (H-PRF) ile hazırlanan lökosit ve trombosit açısından zengin fibrin (L-PRF) ve PRF, *S. aureus* ve *E. coli*'ye karşı antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (211). Bununla birlikte, H-PRF, L-PRF'ye göre daha üstün bir antibakteriyel etki göstermiştir. Ayrıca Castro ve arkadaşlarının yaptığı bir başka çalışmada, L-PRF membranının *P. intermedia*, *F. nucleatum* ve *A. actinomycetemcomitans* gibi periodontopatojenlere karşı antibakteriyel etki gösterdiği bulunmuştur (212).

Yang ve arkadaşları, PRP ve PRF'nin *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* ve *F. nucleatum* üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada, PRP, *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans*'ı inhibisyona sahipken, *F. nucleatum* üzerinde herhangi bir inhibisyon gözlenmemiştir. PRP'nin, PRF'ye kıyasla üstün antibakteriyel aktivite gösterdiği, ancak, PRP hazırlanma protokolünün zor olması sebebiyle sık kullanımı olmadığı vurgulanmıştır. Ayrıca, araştırmacılar çalışmalarında PRF'nin ne trombosit ne de lökosit içermediği konusunda bir beyanda bulunmamışlardır. Ancak, lökositlerin varlığına bakılmaksızın trombosit konsantrasyonunun arttığı kan türevi ürünler olan trombosit konsantrelerinin sonuçları dikkatle değerlendirilmelidir (213).

Kour ve ark. üç farklı PRF türünün *P. gingivalis* ve *A. actinomycetemcomitans* üzerindeki antibakteriyel kapasitelerini karşılaştırdıkları çalışmada tüm PRF gruplarının her iki bakteriye karşı bazı antibakteriyel aktiviteler sergilediğini tespit etmişlerdir. Ancak, PRP ve I-PRF, PRF'ye kıyasla *P. gingivalis*'e karşı önemli ölçüde daha fazla inhibisyon gösterdiği, *A. actinomycetemcomitans*'a karşı tüm PRF'lerin sınırlı inkübasyona sahip olduğu bulunmuştur (214).

PRF'yi taşıyıcı olarak kullanırken dikkat edilmesi gereken önemli noktalardan biri, trombosit açısından zengin kan ürünü elde etme yöntemidir. Bu yöntem, antibakteriyel aktiviteyi önemli ölçüde etkileyebilir. Örneğin, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı PRP bakteriyel inhibisyonu, trombosit jelinin hazırlanması sırasında pıhtılaşma aktivasyonunun antimikrobiyal aktivitenin azalmasına yol açabileceğini

göstermiştir (215). Bielecki ve ark. yaptığı bir çalışmada, çalışmamıza benzer olarak trombositten zengin jelin (PRP) *S. aureus*'un büyümesini inhibe ettiği, ancak *P. aeruginosa*'ya karşı herhangi bir antibakteriyel aktivite göstermediği, hatta *P. aeruginosa*'nın in vitro büyümesini indüklediğini göstermiştir (216).

Çalışmamızda fibrin ağ yapısı ışık mikroskobu altında incelendiğinde, doksisisiklin yüklü T-PRF membranlara ait fibrin ağ desen skorları kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha yüksek bulundu. Test gurupları arasında karşılaştırmada ise 2 ml doksisisiklin yüklü T-PRF membran grubunun diğer dozda doksisisiklin içeren membranlara kıyasla daha yüksek fibrin ağ desen skoruna sahipti. Bu sonuç doksisisiklin yüklenen membranların fibrin yapıları üzerindeki sekonder ağ yapısını artırması ile açıklanabilir.

Literatürde farklı dozlarda doksisisiklin yüklü membranların fibrin ağ deseni skorlarını inceleyen çalışma bulunmamaktadır.

Yajamanya ve ark. trombositten zengin fibrin (PRF)'in farklı yaş gruplarında fibrin ağ modellerindeki varyasyonları değerlendirdikleri çalışmada, ilerleyen yaşla birlikte fibrin ağ yoğunluğunda belirgin bir azalma ve gevşek tipte fibrin dizilişinde artış olduğunu ortaya koymuşlardır (217).

Farklı yaş gruplarında değişken santrifüjleme hızları ve farklı süreler kullanılarak elde edilen PRF'lerin fibrin ağ modelindeki varyasyonları değerlendiren bir çalışmada da, 20-34 yaş grubundaki bireylere ait PRF'nin diğer yaş gruplarına göre daha yoğun fibrin ağına sahip olduğu bulunmuştur (185). Bu çalışmada görülen bulgular ışığında, daha ileri yaş gruplarında PRF hazırlama sürecinde santrifüj hızı ve süresinin artırılmasının fibrin ağının yoğunluğunu üzerinde daha iyi sonuçlar verebileceğini öngörmüştür.

Sağlıklı ve hipertansif rahatsızlığa sahip olup aynı zamanda sigara kullanan bireylerde yapılan bir çalışmada, L-PRF ve T-PRF membranların histolojik olarak hücre bloğu sitolojisi yöntemiyle fibrin ağ yapıları karşılaştırılmıştır. Değerlendirme sonucuna göre hipertansif katılımcılarda, her iki trombosit konsantresinde de histolojik olarak gevşek fibrin ağ yapısının daha fazla olduğu

görülmüştür. Sağlıklı bireylerdeki T-PRF pıhtılarının L-PRF pıhtılarına kıyasla sürekli bütünlüğe sahip, oldukça organize ve daha kalın bir fibrin ağı gösterdiği belirtilmiştir (217).

Literatürde farklı L-PRF elde edilme yöntemleri ve cihazlarının karşılaştırıldığı çalışmada, sağlıklı gönüllülerden alınan kan, farklı santrifüjleme protokollerine tabi tutularak L-PRF'ler elde edilmiştir. Elde edilen L-PRF'lerin ışık mikroskobu altındaki fibrin ağ desenlerinin benzer olduğu görülmüştür (157).

Shats ve arkadaşları, aterosklerozun fibrin ağları üzerindeki etkisini değerlendirdikleri çalışmada, pH değerlerini değiştirerek farklı fibrin yapıları elde etmişlerdir. Düşük pH ile elde edilen fibrin ağlarının kalın, yüksek pH ile elde edilen fibrin ağlarının ise daha ince olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, düşük pH kullanılarak oluşturulan membranların düşük gerilme mukavemeti, daha yüksek geçirgenlik ve daha hızlı parçalanabilirlik gösterdiği rapor edilmiştir (218).

Çalışmamızda üç farklı dozda doksisisiklin yüklü T-PRF membran gruplarının 72 saat boyunca ilaç salınımları incelendi. Grupların tamamında 72 saat boyunca ilaç salınım konsantrasyonunda artış görüldü. 0.5 ml ve 2 ml ilaç yüklü gruplar 30. saatte maksimum konsantrasyonuna ulaşırken 1 ml ilaç yüklü grup 48. saatte en yüksek konsantrasyonuna ulaştı. 2 ml ilaç yüklü grubun zamana bağlı ilaç salınım konsantrasyon artışının diğer gruplara kıyasla önemli ölçüde yüksek olduğu bulundu. Doz artışıyla birlikte ilaç salınım konsantrasyonunun da arttığı görüldü.

Ercan ve ark. yaptığı çalışmada doksisisiklin yüklü T-PRF membran ve doksisisiklin yüklü kollajen süngerin ilaç salınım miktarları 72 saat boyunca incelenmiştir. Doksisisiklin yüklü T-PRF membran sadece %25'i 24 saatte salınmış, geri kalan miktarının büyük bir kısmı ise 72 saatlik çalışma süresi boyunca salınım yapmaya devam etmiştir. İn vivo koşullar altında, T-PRF bozundukça ilacın kalan miktarının salınması beklenmektedir. Bu nedenle, bu sonuçlar T-PRF'nin in vivo ilaç taşıyıcısı olarak kullanılma potansiyelini ortaya koymaktadır (210).

Moura ve ark. cerrahi olmayan periodontal tedavi gören kronik periodontitisli hastaların periodontal ceplerinde, poli (l-laktit-ko-glikolit) (PLGA) mikroküreler

aracılığıyla lokal taşınan doksisisiklinin salınım miktarını incelemiştir. Periodontal ceplere 5 mg doksisisiklin hiklat yüklü PLGA mikroküreleri uygulanmış, cebe salınan doksisisiklinin miktarını belirlemek için ilaç uygulamasından sonraki 2, 5, 7, 10, 15 ve 20. günlerde bölgelerden diş eti oluğu sıvısı toplanmıştır. 2, 5 ve 7. günlerde doksisisiklin konsantrasyonu sabit kalırken, 10. ve 15. günlerde ise azalma yönünde bir eğilim gözlenmiştir. Geliştirilen lokal ilaç dağıtım sistemi, uygulamadan sonra başarılı bir şekilde sürekli salınım göstermiştir (219).



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Çalışmaya katılan hastalardan alınan tam kan sayımı parametrelerinin (WBC, RBC, HCT, PLT, MCV, PDW, MPV) hepsi normal değer aralığındaydı.
2. 0,5 ml, 1 ml, 2 ml ilaç yüklü T-PRF membranlar ilaç yüklenmeyen T-PRF membrana kıyasla degradasyon yüzdesi istatistiksel anlamlı olarak daha düşük bulundu.
3. 2 ml ilaç yüklenen T-PRF membranlar diğer ilaç yüklenen membranlara kıyasla daha az miktarda bozunma gösterdi.
4. İlaç yüklenen ve ilaç yüklenmeyen membranların fibrin ağ desen skorları kıyaslandığında ilaç yüklü T-PRF membranların fibrin ağ desen skorları anlamlı derecede daha yüksekti.
5. 2 ml ilaç yüklenen T-PRF membranlar diğer dozlarda ilaç yüklemesi yapılan membranlara kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede daha yüksek skora sahipti.
6. Antibakteriyel aktivite incelemesi sonucunda grupların tamamında *P. aereginosa* 'ya karşı antibakteriyel etkinlik görülmedi.
7. *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinlik incelendiğinde 2 ml ilaç yüklü T-PRF membran grubunda daha yüksek inhibisyon alan çapı görüldü. Doz arttıkça *S. aureus* bakterisinin inhibisyon artmaktadır. İlaç yüklenmeyen grupta antibakteriyel etkinlik minimumdu.
8. İlaç salınımı miktarı 0,5 ml ve 1 ml ilaç yüklemesi yapılan T-PRF membranlarda başlangıçta benzer iken 2. Saat sonunda 1 ml ilaç yüklemesi yapılan grupta daha fazla salınım olduğu görüldü.
9. 2 ml ilaç yüklemesi yapılan T-PRF membranların diğer ilaç yüklemesi yapılan membranlara kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda ilaç salınımına sahip olduğu görüldü. Bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu.
10. T-PRF otolog ilaç taşıyıcı sistem olarak gelecek vaad etmektedir. Ancak bununla ilgili daha fazla ve klinik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

7. KAYNAKLAR

Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.

1. Arweiler NB, Pietruska M, Pietruski J, Skurska A, Dolińska E, Heumann C, et al. Six-month results following treatment of aggressive periodontitis with antimicrobial photodynamic therapy or amoxicillin and metronidazole. *Clin Oral Investig*. 2014 Dec 4;18(9):2129–35.
2. Hanes PJ, Purvis JP. Local anti-infective therapy: pharmacological agents. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003 Dec;8(1):79–98.
3. Gürkan A, Çınarcık S, Hüseyinov A. Adjunctive subantimicrobial dose doxycycline: effect on clinical parameters and gingival crevicular fluid transforming growth factor- β 1 levels in severe, generalized chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005 Mar 9;32(3):244–53.
4. Choukroun J& AF& SC& VA. Une opportunit?? en paro-implantologie: Le PRF. *Implantodontie*. 42:55–62.
5. Upadhyaya V, Arora A, Goyal A. Bioactive Platelet Aggregates: Prp, Prgf, Prf, Cgf And Sticky Bone. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences*. 2017 Jul;16:5–11.
6. Choukroun J. Advanced PRF &i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates? *J Periodont Med Clin Pract*. 2014 Jul;1.
7. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2013 Jul;51(5):438–43.
8. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Yaprak E, Toker H, et al. A Novel Platelet Concentrate: Titanium-Prepared Platelet-Rich Fibrin. *Biomed Res Int*. 2014;2014:1–7.
9. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000*. 2006 Feb 4;40(1):29–49.
10. Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*. 2017 Jun 22;3(1):17038.
11. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol*. 2012 Oct 3;10(10):717–25.
12. Stanko P, Izakovicova Holla L. Bidirectional association between diabetes mellitus and inflammatory periodontal disease. A review. *Biomedical Papers*. 2014 Apr 1;158(1):035–8.
13. Leite FRM, Nascimento GG, Scheutz F, López R. Effect of Smoking on Periodontitis: A Systematic Review and Meta-regression. *Am J Prev Med*. 2018 Jun;54(6):831–41.
14. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest*. 1976 Mar;34(3):235–49.
15. Bartold PM, Narayanan AS. Molecular and cell biology of healthy and diseased periodontal tissues. *Periodontol 2000*. 2006;40:29–49.

16. Esmon CT. The interactions between inflammation and coagulation. *Br J Haematol*. 2005 Nov;131(4):417–30.
17. Birkedal-Hansen H. Role of matrix metalloproteinases in human periodontal diseases. *J Periodontol*. 1993 May;64(5 Suppl):474–84.
18. Shaddox LM, Walker CB. Treating chronic periodontitis: current status, challenges, and future directions. *Clin Cosmet Investig Dent*. 2010;2:79–91.
19. Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principles of periodontology. *Periodontol 2000*. 2013 Feb;61(1):16–53.
20. Takei HH, Han TJ, Carranza FA, Kenney EB, Lekovic V. Flap technique for periodontal bone implants. Papilla preservation technique. *J Periodontol*. 1985 Apr;56(4):204–10.
21. Kim TS, Schenk A, Lungeanu D, Reitmeir P, Eickholz P. Nonsurgical and surgical periodontal therapy in single-rooted teeth. *Clin Oral Investig*. 2007 Dec;11(4):391–9.
22. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2006 Oct 23;42(1):180–218.
23. Lindhe J, Liljenberg B, Adielson B, Börjesson I. Use of metronidazole as a probe in the study of human periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1983 Jan;10(1):100–12.
24. López NJ, Gamonal JA, Martínez B. Repeated metronidazole and amoxicillin treatment of periodontitis. A follow-up study. *J Periodontol*. 2000 Jan;71(1):79–89.
25. Armitage GC. Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*. 2010 Jun;53:70–88.
26. Otomo-Corgel J, Pucher JJ, Rethman MP, Reynolds MA. State of the science: chronic periodontitis and systemic health. *J Evid Based Dent Pract*. 2012 Sep;12(3 Suppl):20–8.
27. Mombelli A, Cionca N, Almaghlouth A. Does adjunctive antimicrobial therapy reduce the perceived need for periodontal surgery? *Periodontol 2000*. 2011 Feb;55(1):205–16.
28. Müller H -P., Heinecke A, Borneff M, Knopf A, Kiencke C, Pohl S. Microbial ecology of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* and *Capnocytophaga* spp. in adult periodontitis. *J Periodontal Res*. 1997 Aug 30;32(6):530–42.
29. Müller HP, Lange DE, Müller RF. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* recovery from extracrevicular locations of the mouth. *Oral Microbiol Immunol*. 1993 Dec;8(6):344–8.
30. Monteiro AV, Ribeiro FV, Casarin RCV, Cirano FR, Pimentel SP, Casati MZ. Evaluation of the use of systemic antimicrobial agents by professionals for the treatment of periodontal diseases. *Braz J Oral Sci*. 2013 Dec;12(4):285–91.
31. Slots J. Selection of antimicrobial agents in periodontal therapy. *J Periodontal Res*. 2002 Oct;37(5):389–98.
32. Walker CB, Tyler KZ, Low SB, King CJ. Penicillin-degrading enzymes in sites associated with adult periodontitis. *Oral Microbiol Immunol*. 1987 Sep 18;2(3):129–31.

33. Slots J, Rams TE. Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol*. 1990 Aug;17(7 (Pt 2)):479–93.
34. Baker PJ, Evans RT, Coburn RA, Genco RJ. Tetracycline and Its Derivatives Strongly Bind to and Are Released From the Tooth Surface in Active Form. *J Periodontol*. 1983 Oct;54(10):580–5.
35. Peros WJ, Gibbons RJ. Influence of Sublethal Antibiotic Concentrations on Bacterial Adherence to Saliva-Treated Hydroxyapatite. *Infect Immun*. 1982 Jan;35(1):326–34.
36. Golub LM, Ramamurthy N, McNamara TF, Gomes B, Wolff M, Casino A, et al. Tetracyclines inhibit tissue collagenase activity. A new mechanism in the treatment of periodontal disease. *J Periodontal Res*. 1984 Nov;19(6):651–5.
37. Wikesjö UM, Baker PJ, Christersson LA, Genco RJ, Lyall RM, Hic S, et al. A biochemical approach to periodontal regeneration: tetracycline treatment conditions dentin surfaces. *J Periodontal Res*. 1986 Jul;21(4):322–9.
38. Chow AW, Marshall JR, Guze LB. A double-blind comparison of clindamycin with penicillin plus chloramphenicol in treatment of septic abortion. *J Infect Dis*. 1977 Mar;135 Suppl:S35–9.
39. Jousimies-Somer H, Asikainen S, Suomala P, Summanen P. Activity of metronidazole and its hydroxy metabolite against clinical isolates of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol*. 1988 Mar 18;3(1):32–4.
40. Lacroix J, Mayrand D. The effect of subminimal inhibitory concentrations of antimicrobial agents on three bacterial mixtures. *Oral Microbiol Immunol*. 1989 Jun 18;4(2):82–8.
41. Sanders CC. Ciprofloxacin: In Vitro Activity, Mechanism of Action, and Resistance. *Clinical Infectious Diseases*. 1988 May 1;10(3):516–27.
42. Pappas, J. D. & Walker, C. (1987) Gingival crevicular fluid levels of erythromycin and the in vitro effect on periodontal bacteria. .
43. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002;28:12–55.
44. Bidault P, Chandad F, Grenier D. Systemic antibiotic therapy in the treatment of periodontitis. *J Can Dent Assoc*. 2007;73(6):515–20.
45. Slots J, Rosling BG. Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. *J Clin Periodontol*. 1983 Sep;10(5):465–86.
46. Mandell RL, Socransky SS. Microbiological and clinical effects of surgery plus doxycycline on juvenile periodontitis. *J Periodontol*. 1988 Jun;59(6):373–9.
47. Kardas P, Devine S, Golembesky A, Roberts C. A systematic review and meta-analysis of misuse of antibiotic therapies in the community. *Int J Antimicrob Agents*. 2005 Aug;26(2):106–13.
48. Pradeep A, Bajaj P, Agarwal E, Rao N, Naik S, Kalra N, et al. Local drug delivery of 0.5% azithromycin in the treatment of chronic periodontitis among smokers. *Aust Dent J*. 2013 Mar 30;58(1):34–40.

49. Eastham JE, Seymour RA. Local drug delivery in the management of periodontal diseases part 2: specific agents. *Dent Update*. 2014 Nov 2;41(9):796–810.
50. Pradeep AR, Sagar SV, Daisy H. Clinical and Microbiologic Effects of Subgingivally Delivered 0.5% Azithromycin in the Treatment of Chronic Periodontitis. *J Periodontol*. 2008 Nov;79(11):2125–35.
51. Greenstein G, Polson A. The Role of Local Drug Delivery in the Management of Periodontal Diseases: A Comprehensive Review. *J Periodontol*. 1998 May;69(5):507–20.
52. Vyas SP, Sihorkar V, Mishra V. Controlled and targeted drug delivery strategies towards intraperiodontal pocket diseases. *J Clin Pharm Ther*. 2000 Jan;25(1):21–42.
53. Jenkins S, Addy M, Newcombe RG. A comparison of cetylpyridinium chloride, triclosan and chlorhexidine mouthrinse formulations for effects on plaque regrowth. *J Clin Periodontol*. 1994 Jul 13;21(6):441–4.
54. Stoltze K, Stellfeld M. Systemic absorption of metronidazole after application of a metronidazole 25% dental gel. *J Clin Periodontol*. 1992 Oct 16;19(9):693–7.
55. Wieder SG, Newman HN, Strahan JD. Stannous fluoride and subgingival chlorhexidine irrigation in the control of plaque and chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1983 Apr 14;10(2):172–81.
56. Tinanoff N, Hock J, Camosci D, Helldén L. Effect of stannous fluoride mouthrinse on dental plaque formation. *J Clin Periodontol*. 1980 Jun 14;7(3):232–41.
57. Soh LL, Newman HN, Strahan JD. Effects of subgingival chlorhexidine irrigation on periodontal inflammation. *J Clin Periodontol*. 1982 Feb 14;9(1):66–74.
58. Shapira L, Friedman I, Goultschin J, Sela MN, Gedalia I. Subgingival irrigation with amine fluoride-stannous fluoride gel in treated periodontal pockets. *Am J Dent*. 1994 Oct;7(5):235–8.
59. Wan Yusof WZA, Newman HN, Strahan JD, Coventry JF. Subgingival metronidazole in dialysis tubing and subgingival chlorhexidine irrigation in the control of chronic inflammatory periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1984 Mar 14;11(3):166–75.
60. Pedrazzoli V, Kilian M, Karring T. Comparative clinical and microbiological effects of topical subgingival application of metronidazole 25% dental gel and scaling in the treatment of adult periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1992 Oct 16;19(9):715–22.
61. Unsal E, Akkaya M, Walsh TF. Influence of a single application of subgingival chlorhexidine gel or tetracycline paste on the clinical parameters of adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 1994 May 13;21(5):351–5.
62. Lenart-Boroń A, Wolny-Koładka K, Juraszek K, Kasprowicz A. Phenotypic and molecular assessment of antimicrobial resistance profile of airborne *Staphylococcus* spp. isolated from flats in Kraków. *Aerobiologia (Bologna)*. 2017;33(3):435–44.
63. Schnappinger D, Hillen W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Arch Microbiol*. 1996 Jun 24;165(6):359–69.

64. Golub LM, Wolff M, Lee HM, McNamara TF, Ramamurthy NS, Zambon J, et al. Further evidence that tetracyclines inhibit collagenase activity in human crevicular fluid and from other mammalian sources. *J Periodontal Res.* 1985 Jan 30;20(1):12–23.
65. Cazalis J, Bodet C, Gagnon G, Grenier D. Doxycycline Reduces Lipopolysaccharide-Induced Inflammatory Mediator Secretion in Macrophage and Ex Vivo Human Whole Blood Models. *J Periodontol.* 2008 Sep;79(9):1762–8.
66. Chopra I, Roberts M. Tetracycline antibiotics: mode of action, applications, molecular biology, and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* 2001 Jun;65(2):232–60 ; second page, table of contents.
67. Schnappinger D, Hillen W. Tetracyclines: antibiotic action, uptake, and resistance mechanisms. *Arch Microbiol.* 1996 Jun 24;165(6):359–69.
68. Vyas SP, Sihorkar V, Mishra V. Controlled and targeted drug delivery strategies towards intraperiodontal pocket diseases. *J Clin Pharm Ther.* 2000 Jan;25(1):21–42.
69. Medlicott NJ, Rathbone MJ, Tucker IG, Holborow DW. Delivery systems for the administration of drugs to the periodontal pocket. *Adv Drug Deliv Rev.* 1994 Jan;13(1–2):181–203.
70. Goodson JM, Holborow D, Dunn RL, Hogan P, Dunham S. Monolithic Tetracycline-containing Fibers for Controlled Delivery to Periodontal Pockets. *J Periodontol.* 1983 Oct;54(10):575–9.
71. Goodson JM, Offenbacher S, Farr DH, Hogan PE. Periodontal Disease Treatment by Local Drug Delivery. *J Periodontol.* 1985 May;56(5):265–72.
72. Coventry J, Newman HN. Experimental use of a slow release device employing chlorhexidine gluconate in areas of acute periodontal inflammation. *J Clin Periodontol.* 1982 Apr 14;9(2):129–33.
73. Addy M, Rawle L, Handley R, Newman HN, Coventry JF. The Development and *in Vitro* Evaluation of Acrylic Strips and Dialysis Tubing for Local Drug Delivery. *J Periodontol.* 1982 Nov;53(11):693–9.
74. Medlicott NJ, Rathbone MJ, Tucker IG, Holborow DW. Delivery systems for the administration of drugs to the periodontal pocket. *Adv Drug Deliv Rev.* 1994 Jan;13(1–2):181–203.
75. Tonetti M, Cugini MA, Goodson JM. Zero-order delivery with periodontal placement of tetracycline-loaded ethylene vinyl acetate fibers. *J Periodontal Res.* 1990 Jul 30;25(4):243–9.
76. Goodson JM, Cugini MA, Kent RL, Armitage GC, Cobb CM, Fine D, et al. Multicenter evaluation of tetracycline fiber therapy: I. Experimental design, methods, and baseline data. *J Periodontal Res.* 1991 Jul 30;26(4):361–70.
77. Newman MG, Kornman KS, Doherty FM. A 6-Month Multi-Center Evaluation of Adjunctive Tetracycline Fiber Therapy Used in Conjunction With Scaling and Root Planing in Maintenance Patients: Clinical Results. *J Periodontol.* 1994 Jul;65(7):685–91.

78. Baker RW, Krisko EA, Kochinke F, et al. (1988) A controlled release drug delivery system for periodontal pocket. International Symposium on Controlled Release Bioactive Materials USA. Controlled 14 Release Society, 238a±238b.
79. Noguchi T, Izumizawa K, Fukuda M, Kitamura S, Suzuki Y, Ikura H. New method for local drug delivery using resorbable base material in periodontal therapy. Bull Tokyo Med Dent Univ. 1984 Sep;31(3):145–53.
80. Higashi K, Morisaki K, Hayashi S, Kitamura M, Fujimoto N, Kimura S, et al. Local ofloxacin delivery using a controlled-release insert (PT-01) in the human periodontal pocket. J Periodontal Res. 1990 Jan 30;25(1):1–5.
81. Addy M, Hassan H, Moran J, Wade W, Newcombe R. Use of Antimicrobial Containing Acrylic Strips in the Treatment of Chronic Periodontal Disease. J Periodontol. 1988 Sep;59(9):557–64.
82. Poison AM, Stoller NH, Hanes PJ, Bandt CL, Garrett S, Lee Southard G. 2 multi-center trials assessing the clinical efficacy of 5% sanguinarine in a biodegradable drug delivery system. J Clin Periodontol. 1996 Aug 13;23(8):782–8.
83. Noguchi T, Izumizawa K, Fukuda M, Kitamura S, Suzuki Y, Ikura H. New method for local drug delivery using resorbable base material in periodontal therapy. Bull Tokyo Med Dent Univ. 1984 Sep;31(3):145–53.
84. Deasy PB, Collins AEM, Maccarthy DJ, Russell RJ. Use of Strips Containing Tetracycline Hydrochloride or Metronidazole for the Treatment of Advanced Periodontal Disease. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011 Apr 12;41(10):694–9.
85. Slots J, van Winkelhoff AJ. Antimicrobial therapy in periodontics. J Calif Dent Assoc. 1993 Nov;21(11):51–6.
86. Deasy PB, Collins AEM, Maccarthy DJ, Russell RJ. Use of Strips Containing Tetracycline Hydrochloride or Metronidazole for the Treatment of Advanced Periodontal Disease. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011 Apr 12;41(10):694–9.
87. Steinberg D, Friedman M, Soskolne A, Sela MN. A New Degradable Controlled Release Device for Treatment of Periodontal Disease: In Vitro Release Study. J Periodontol. 1990 Jul;61(7):393–8.
88. Soskolne WA FM (1996). Intraparodontal 13 pocket drug delivery systems. In: Rathbone SJ, eds. Oral Mucosal Drug Delivery. NewYork: Marcel Dekker Inc, 360.
89. Minabe M, Takeuchi K, Tomomatsu E, Hori T, Umemoto T. Clinical effects of local application of collagen film–immobilized tetracycline. J Clin Periodontol. 1989 May 14;16(5):291–4.
90. Stabholz A, Soskolne WA, Friedman M, Sela MN. The Use of Sustained Release Delivery of Chlorhexidine for the Maintenance of Periodontal Pockets: 2-Year Clinical Trial. J Periodontol. 1991 Jul;62(7):429–33.
91. Deasy PB, Collins AEM, Maccarthy DJ, Russell RJ. Use of Strips Containing Tetracycline Hydrochloride or Metronidazole for the Treatment of Advanced Periodontal Disease. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2011 Apr 12;41(10):694–9.

92. Steinberg D, Friedman M, Soskolne A, Sela MN. A New Degradable Controlled Release Device for Treatment of Periodontal Disease: In Vitro Release Study. *J Periodontol.* 1990 Jul;61(7):393–8.
93. Hitzig C, Charbit Y, Bitton C, Fosse T, Teboul M, Hannoun L, et al. Topical metronidazole as an adjunct to subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 1994 Feb 13;21(2):146–51.
94. Norling T, Lading P, Engström S, Larsson K, Krog N, Nissen SS. Formulation of a drug delivery system based on a mixture of monoglycerides and triglycerides for use in the treatment of periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1992 Oct 16;19(9):687–92.
95. Lawter JR LMBN et al. (1990). Sustained drug delivery to the periodontal pocket. . International Symposium on Controlled Release Bioac- 15 tive Materials USA Controlled Release Society, 230± 231.
96. Kornman KS. Controlled release local drug delivery antimicrobials in periodontics: perspective for the future. . *Journal of Periodontology*, 64, 782±791. 1993;
97. Levin-Goldstein D. The local drug delivery of tetracycline, metronidazole, and chlorhexidine in periodontal therapy. *J Dent Hyg.* 1992;66(9):410–6.
98. Fiorellini JP, Paquette DW. The potential role of controlled-release delivery systems for chemotherapeutic agents in periodontics. *Curr Opin Dent.* 1992 Mar;2:63–79.
99. Southard GL, Godowski KC. Subgingival controlled release of antimicrobial agents in the treatment of periodontal disease. *Int J Antimicrob Agents.* 1998 Feb;9(4):239–53.
100. Shani S, Friedman M, Steinberg D. In Vitro Assessment of the Antimicrobial Activity of a Local Sustained Release Device Containing Amine Fluoride for the Treatment of Oral Infectious Diseases. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1998 Feb;30(2):93–7.
101. Greene PR. Locally delivered antimicrobials in periodontal therapy. *Dent Update.* 1997 Jun;24(5):204–7.
102. Baker RW FJ. Baker RW, Farrant J. (1989) US Patent no. 4 764 377, Current U.S. Patent. *Journal of Controlled Release*, 9, 89. *Journal of Controlled Release*.
103. Lawter JR LMBN et al. Sustained drug delivery to the periodontal pocket. International Symposium on Controlled Release Bioac- 15 tive Materials USA. . Controlled Release Society, 230± 231. 1990;
104. Estaniel CP. An update on the non-surgical treatment of periodontal disease. *J Philipp Dent Assoc.* 1995;47(1):19–26.
105. Tawfik MS, Abdel-Ghaffar KA, Gamal AY, El-Demerdash FH, Gad HA. Lycopene solid lipid microparticles with enhanced effect on gingival crevicular fluid protein carbonyl as a biomarker of oxidative stress in patients with chronic periodontitis. *J Liposome Res.* 2019 Oct 2;29(4):375–82.
106. Mundargi RC, Srirangarajan S, Agnihotri SA, Patil SA, Ravindra S, Setty SB, et al. Development and evaluation of novel biodegradable microspheres based on poly(d,l-lactide-co-glycolide) and poly(ε-caprolactone) for controlled delivery of doxycycline in the

- treatment of human periodontal pocket: In vitro and in vivo studies. *Journal of Controlled Release*. 2007 May;119(1):59–68.
107. Eakle WS, Ford C, Boyd RL. Depth of penetration in periodontal pockets with oral irrigation. *J Clin Periodontol*. 1986 Jan 14;13(1):39–44.
 108. M.G. Newman FACHTPRK. Supragingival and Subgingival Irrigation. In: Carranza's clinical periodontology. 2006. p. 615–6.
 109. Wilson M, Patel H, Fletcher J. Susceptibility of biofilms of *Streptococcus sanguis* to chlorhexidine gluconate and cetylpyridinium chloride. *Oral Microbiol Immunol*. 1996 Jun 19;11(3):188–92.
 110. Barros SP, Williams R, Offenbacher S, Morelli T. Gingival crevicular fluid as a source of biomarkers for periodontitis. *Periodontol 2000*. 2016 Feb 10;70(1):53–64.
 111. Medicott NJ, Rathbone MJ, Tucker IG, Holborow DW. Delivery systems for the administration of drugs to the periodontal pocket. *Adv Drug Deliv Rev*. 1994 Jan;13(1–2):181–203.
 112. Larsen T. In Vitro Release of Doxycycline From Bioabsorbable Materials and Acrylic Strips. *J Periodontol*. 1990 Jan;61(1):30–4.
 113. Andreu V, Arruebo M. Current progress and challenges of nanoparticle-based therapeutics in pain management. *Journal of Controlled Release*. 2018 Jan;269:189–213.
 114. Shin WK, Cho J, Kannan AG, Lee YS, Kim DW. Cross-linked Composite Gel Polymer Electrolyte using Mesoporous Methacrylate-Functionalized SiO₂ Nanoparticles for Lithium-Ion Polymer Batteries. *Sci Rep*. 2016 May 18;6(1):26332.
 115. Zazo H, Colino CI, Lanao JM. Current applications of nanoparticles in infectious diseases. *Journal of Controlled Release*. 2016 Feb;224:86–102.
 116. Vial S, Reis RL, Oliveira JM. Recent advances using gold nanoparticles as a promising multimodal tool for tissue engineering and regenerative medicine. *Curr Opin Solid State Mater Sci*. 2017 Apr;21(2):92–112.
 117. Kong LX, Peng Z, Li S, Bartold PM. Nanotechnology and its role in the management of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2006 Feb 4;40(1):184–96.
 118. Thorat ND, Bohara RA, Noor MR, Dhamecha D, Soulimane T, Tofail SAM. Effective Cancer Theranostics with Polymer Encapsulated Superparamagnetic Nanoparticles: Combined Effects of Magnetic Hyperthermia and Controlled Drug Release. *ACS Biomater Sci Eng*. 2017 Jul 10;3(7):1332–40.
 119. Jadhav K, Dhamecha D, Dalvi B, Patil M. Green Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Salacia chinensis* : Characterization and its Antibacterial Activity. *Particulate Science and Technology*. 2015 Sep 3;33(5):445–55.
 120. Dhamecha D, Jalalpure S, Jadhav K, Sajjan D. Green synthesis of gold nanoparticles using *Pterocarpus marsupium* : Characterization and biocompatibility studies. *Particulate Science and Technology*. 2016 Mar 3;34(2):156–64.

121. Lu Z, Rong K, Li J, Yang H, Chen R. Size-dependent antibacterial activities of silver nanoparticles against oral anaerobic pathogenic bacteria. *J Mater Sci Mater Med*. 2013 Jun 26;24(6):1465–71.
122. Górski R, Nędzi-Góra M. The effects of the initial treatment phase and of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and MMP-8, MMP-9, and TIMP-1 levels in the saliva and peripheral blood of patients with chronic periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2006 Dec 21;54(6):419–26.
123. Emingil G, Gürkan A, Atilla G, Berdeli A, Çınarcık S. Adjunctive low-dose doxycycline therapy effect on clinical parameters and gingival crevicular fluid tissue plasminogen activator levels in chronic periodontitis. *Inflammation Research*. 2006 Dec;55(12):550–8.
124. Newman MG THKP. Periodontal Pathogenesis. In: Carranza FA (Eds). *Carranza's Clinical Periodontology*. (12th ed.) Elsevier Saunders, China, pp:76-100.). 12th ed. 2015. 76–100 p.
125. KINGSLEY CS. Blood coagulation; evidence of an antagonist to factor VI in platelet-rich human plasma. *Nature*. 1954 Apr 17;173(4407):723–4.
126. KNIGHTON DR, CIRESI KF, FIEGEL VD, AUSTIN LL, BUTLER EL. Classification and Treatment of Chronic Nonhealing Wounds. *Ann Surg*. 1986 Sep;204(3):322–30.
127. M. Dohan Ehrenfest D, Bielecki T, Jimbo R, Barbe G, Del Corso M, Inchingolo F, et al. Do the Fibrin Architecture and Leukocyte Content Influence the Growth Factor Release of Platelet Concentrates? An Evidence-based Answer Comparing a Pure Platelet-Rich Plasma (P-PRP) Gel and a Leukocyte- and Platelet-Rich Fibrin (L-PRF). *Curr Pharm Biotechnol*. 2012 May 1;13(7):1145–52.
128. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 1998 Jun;85(6):638–46.
129. Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, Sawada K, Sculean A, Schaller B, et al. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clin Oral Investig*. 2016 Dec 25;20(9):2353–60.
130. Lucarelli E, Beretta R, Dozza B, Tazzari P, O'Connell S, Ricci F, et al. A recently developed bifacial platelet-rich fibrin matrix. *Eur Cell Mater*. 2010 Jul 1;20:13–23.
131. Kim TH, Kim SH, Sándor GK, Kim YD. Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Arch Oral Biol*. 2014 May;59(5):550–8.
132. Choukroun Joseph. Advanced PRF & i-PRF: platelet concentrates or blood concentrates? *Periodont Med Clin Pract*. 2014;
133. Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, Kandam U, Zhang Y, Ghanaati S, et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clin Oral Investig*. 2017 Nov 2;21(8):2619–27.
134. Harker LA, Roskos LK, Marzec UM, Carter RA, Cherry JK, Sundell B, et al. Effects of megakaryocyte growth and development factor on platelet production, platelet life span, and platelet function in healthy human volunteers. *Blood*. 2000 Apr 15;95(8):2514–22.

135. Laki K. OUR ANCIENT HERITAGE IN BLOOD CLOTTING AND SOME OF ITS CONSEQUENCES. *Ann N Y Acad Sci.* 1972 Dec 16;202(1):297–307.
136. ANDRADE M, DEFREITASBRANDAO C, SA C, DEBITTENCOURT T, SADIGURSKY M. Evaluation of factors that can modify platelet-rich plasma properties. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2008 Jan;105(1):e5–12.
137. Everts PAM, van Zundert A, Schönberger JPAM, Devilee RJJ, Knappe JTA. What do we use: Platelet-rich plasma or platelet-leukocyte gel? *J Biomed Mater Res A.* 2008 Jun 15;85A(4):1135–6.
138. Nyman S, Lindhe J, Karring T, Rylander H. New attachment following surgical treatment of human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1982 Aug 14;9(4):290–6.
139. Pierce GF, Vande Berg J, Rudolph R, Tarpley J, Mustoe TA. Platelet-derived growth factor-BB and transforming growth factor beta 1 selectively modulate glycosaminoglycans, collagen, and myofibroblasts in excisional wounds. *Am J Pathol.* 1991 Mar;138(3):629–46.
140. Reigstad LJ, Varhaug JE, Lillehaug JR. Structural and functional specificities of PDGF-C and PDGF-D, the novel members of the platelet-derived growth factors family. *FEBS J.* 2005 Nov 8;272(22):5723–41.
141. Luttenberger T, Schmid-Kotsas A, Menke A, Siech M, Beger H, Adler G, et al. Platelet-Derived Growth Factors Stimulate Proliferation and Extracellular Matrix Synthesis of Pancreatic Stellate Cells: Implications in Pathogenesis of Pancreas Fibrosis. *Laboratory Investigation.* 2000 Jan;80(1):47–55.
142. SERVIN-TRUJILLO MA, REYES-ESPARZA JA, GARRIDO-FARIÑE A G, FLORES-GAZCA E, OSUNA-MARTINEZ U, RODRIGUEZ-FRAGOSO L. Use of a Graft of Demineralized Bone Matrix Along with TGF- β 1 Leads to an Early Bone Repair in Dogs. *Journal of Veterinary Medical Science.* 2011;73(9):1151–61.
143. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part III: Leucocyte activation: A new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2006 Mar;101(3):e51–5.
144. Gaur U, Aggarwal BB. Regulation of proliferation, survival and apoptosis by members of the TNF superfamily. *Biochem Pharmacol.* 2003 Oct;66(8):1403–8.
145. Tamimi FM, Montalvo S, Tresguerres I, Blanco Jerez L. A Comparative Study of 2 Methods for Obtaining Platelet-Rich Plasma. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery.* 2007 Jun;65(6):1084–93.
146. Andrae J, Gallini R, Betsholtz C. Role of platelet-derived growth factors in physiology and medicine. *Genes Dev.* 2008 May 15;22(10):1276–312.
147. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2006 Mar;101(3):e56–60.

148. Matras H. [Effect of various fibrin preparations on reimplantations in the rat skin]. *Osterr Z Stomatol.* 1970 Sep;67(9):338–59.
149. Gibble JW, Ness PM. Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion (Paris).* 1990 Oct 5;30(8):741–7.
150. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009 Mar;27(3):158–67.
151. Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. *Journal of Oral Implantology.* 2014 Dec 1;40(6):679–89.
152. Pierce GF, Mustoe TA, Altrrock BW, Deuel TF, Thomason A. Role of platelet-derived growth factor in wound healing. *J Cell Biochem.* 1991 Apr 19;45(4):319–26.
153. Dohan DM, Choukroun J, Diss A, Dohan SL, Dohan AJJ, Mouhyi J, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* 2006 Mar;101(3):e37–44.
154. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol.* 2009 Mar;27(3):158–67.
155. Cortellini P, Bowers GM. Periodontal regeneration of intrabony defects: an evidence-based treatment approach. *Int J Periodontics Restorative Dent.* 1995 Apr;15(2):128–45.
156. Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden A. Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* 2004 Nov 30;91(01):4–15.
157. Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier J. Three-Dimensional Architecture and Cell Composition of a Choukroun's Platelet-Rich Fibrin Clot and Membrane. *J Periodontol.* 2010 Apr;81(4):546–55.
158. Aroca S, Kogevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical Evaluation of a Modified Coronally Advanced Flap Alone or in Combination With a Platelet-Rich Fibrin Membrane for the Treatment of Adjacent Multiple Gingival Recessions: A 6-Month Study. *J Periodontol.* 2009 Feb;80(2):244–52.
159. Bhedasgaonkar S, Kapadia J, Patil N. Treatment of infrabony defects with platelet-rich fibrin along with bone graft: Case report. *Journal of the International Clinical Dental Research Organization.* 2015;7(1):69.
160. Deodhar AK, Rana RE. Surgical physiology of wound healing: a review. *J Postgrad Med.* 1997;43(2):52–6.
161. Giannobile WV. Periodontal tissue engineering by growth factors. *Bone.* 1996 Jul;19(1):S23–37.
162. Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, Girard MO, Schoeffler C, Dohan SL, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part IV: Clinical effects on tissue

- healing. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. 2006 Mar;101(3):e56–60.
163. Chang I, Tsai C, Chang Y. Platelet-rich fibrin modulates the expression of extracellular signal-regulated protein kinase and osteoprotegerin in human osteoblasts. *J Biomed Mater Res A*. 2010 Oct 19;95A(1):327–32.
 164. Tsai CH, Shen SY, Zhao JH, Chang YC. Platelet-rich fibrin modulates cell proliferation of human periodontally related cells in vitro. *J Dent Sci*. 2009 Sep;4(3):130–5.
 165. Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, Mahler P. 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*. 2008 May;105(5):572–9.
 166. Sánchez AR, Sheridan PJ, Kupp LI. Is platelet-rich plasma the perfect enhancement factor? A current review. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2003;18(1):93–103.
 167. Ghanaati S, Booms P, Orlowska A, Kubesch A, Lorenz J, Rutkowski J, et al. Advanced Platelet-Rich Fibrin: A New Concept for Cell-Based Tissue Engineering by Means of Inflammatory Cells. *Journal of Oral Implantology*. 2014 Dec 1;40(6):679–89.
 168. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Trends Biotechnol*. 2009 Mar;27(3):158–67.
 169. Kasnak G, Tunalı M, Fıratlı E. Geçmişten Günümüze Kan Kaynaklı Ürünler ve Trombosit Zengin Fibrinler. *Türkiye Klinikleri Perioodontoloji Özel Sayısı*. 2017 Jul;3:109–12.
 170. Sacco L. Lecture. International academy of implant prosthesis and osteoconnection. 2006;12.
 171. Abdul Cader N M A S, Suresh S, Sudhakar U, Ravindran N, Rose A Paul R. Concentrated growth factor: A effective regenerative tool for soft and hard tissues in periodontics. *IP International Journal of Periodontology and Implantology*. 2020 Mar 28;5(1):6–10.
 172. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Yaprak E, Toker H, et al. A Novel Platelet Concentrate: Titanium-Prepared Platelet-Rich Fibrin. *Biomed Res Int*. 2014;2014:1–7.
 173. Ustaoglu G, Uğur Aydın Z, Özelçi F. Comparison of GTR, T-PRF and open-flap debridement in the treatment of intrabony defects with endo-perio lesions: a randomized controlled trial. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2020;e117–23.
 174. Barbu HM, Iancu SA, Hancu V, Referendaru D, Nissan J, Naishlos S. PRF-Solution in Large Sinus Membrane Perforation with Simultaneous Implant Placement-Micro CT and Histological Analysis. *Membranes (Basel)*. 2021 Jun 10;11(6):438.
 175. Borie E, Olivı DG, Orsi IA, Garlet K, Weber B, Beltrán V, et al. Platelet-rich fibrin application in dentistry: a literature review. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(5):7922–9.
 176. Saluja H, Dehane V, Mahindra U. Platelet-Rich fibrin: A second generation platelet concentrate and a new friend of oral and maxillofacial surgeons. *Ann Maxillofac Surg*. 2011;1(1):53.

177. Tatullo M, Marrelli M, Cassetta M, Pacifici A, Stefanelli LV, Scacco S, et al. Platelet Rich Fibrin (P.R.F.) in Reconstructive Surgery of Atrophied Maxillary Bones: Clinical and Histological Evaluations. *Int J Med Sci.* 2012;9(10):872–80.
178. Joshi A, Suragimath G, Varma S, Zope S, Pisal A. Is platelet rich fibrin a viable alternative to subepithelial connective tissue graft for gingival root coverage? *Indian Journal of Dental Research.* 2020;31(1):67.
179. Collins JR, Cruz A, Concepción E, López C, Hou W, Romanos GE. Connective Tissue Graft vs Platelet-rich Fibrin in the Treatment of Gingival Recessions: A Randomized Split-mouth Case Series. *J Contemp Dent Pract.* 2021 Apr 1;22(4):327–34.
180. Aroca S, Keglevich T, Barbieri B, Gera I, Etienne D. Clinical Evaluation of a Modified Coronally Advanced Flap Alone or in Combination With a Platelet-Rich Fibrin Membrane for the Treatment of Adjacent Multiple Gingival Recessions: A 6-Month Study. *J Periodontol.* 2009 Feb;80(2):244–52.
181. Yoon JS, Lee SH, Yoon HJ. The influence of platelet-rich fibrin on angiogenesis in guided bone regeneration using xenogenic bone substitutes: A study of rabbit cranial defects. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* 2014 Oct;42(7):1071–7.
182. Fan Y, Perez K, Dym H. Clinical Uses of Platelet-Rich Fibrin in Oral and Maxillofacial Surgery. *Dent Clin North Am.* 2020 Apr;64(2):291–303.
183. Florjanski W, Malysa A, Orzeszek S, Smardz J, Olchowcy A, Paradowska-Stolarz A, et al. Evaluation of Biofeedback Usefulness in Masticatory Muscle Activity Management—A Systematic Review. *J Clin Med.* 2019 May 30;8(6):766.
184. Uyanik LO, Bilginaylar K, Etikan İ. Effects of platelet-rich fibrin and piezosurgery on impacted mandibular third molar surgery outcomes. *Head Face Med.* 2015 Dec 26;11(1):25.
185. Ravi S, Santhanakrishnan M. Mechanical, chemical, structural analysis and comparative release of PDGF-AA from L-PRF, A-PRF and T-PRF - an in vitro study. *Biomater Res.* 2020 Mar 20;24(1).
186. Clsi. M07-A9: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard—Ninth Edition [Internet]. Available from: www.clsi.org.
187. Hanes PJ, Purvis JP. Local Anti-Infective Therapy: Pharmacological Agents. A Systematic Review. *Ann Periodontol.* 2003 Dec;8(1):79–98.
188. Steinberg D, Friedman M. Sustained-release delivery of antimicrobial drugs for the treatment of periodontal diseases: Fantasy or already reality? *Periodontol 2000.* 2020 Oct 25;84(1):176–87.
189. Needleman I, Suvan J, Gilthorpe MS, Tucker R, St George G, Giannobile W, et al. A randomized-controlled trial of low-dose doxycycline for periodontitis in smokers. *J Clin Periodontol.* 2007 Apr;34(4):325–33.

190. Lee JY, Lee YM, Shin SY, Seol YJ, Ku Y, Rhyu IC, et al. Effect of subantimicrobial dose doxycycline as an effective adjunct to scaling and root planing. *J Periodontol*. 2004 Nov;75(11):1500–8.
191. Mishra M, Mishra B. Mucoadhesive microparticles as potential carriers in inhalation delivery of doxycycline hyclate: a comparative study. *Acta Pharm Sin B*. 2012 Oct;2(5):518–26.
192. Greenstein G, Polson A. The Role of Local Drug Delivery in the Management of Periodontal Diseases: A Comprehensive Review. *J Periodontol*. 1998 May;69(5):507–20.
193. Rams TE, Keyes PH, Wright WE, Howard SA. Long-term effects of microbiologically modulated periodontal therapy on advanced adult periodontitis. *The Journal of the American Dental Association*. 1985 Sep;111(3):429–41.
194. Slots J, Mashimo P, Levine MJ, Genco RJ. Periodontal Therapy in Humans: I. Microbiological and Clinical Effects of a Single Course of Periodontal Scaling and Root Planing, and of Adjunctive Tetracycline Therapy. *J Periodontol*. 1979 Oct;50(10):495–509.
195. Al Hulami H, Babay N, Awartani F, Anil S. The effect of locally delivered doxycycline as an adjunctive therapy to scaling and root planing in smokers. *Saudi Dent J*. 2011 Jul;23(3):143–8.
196. Newman MG, Kornman KS, Doherty FM. A 6-Month Multi-Center Evaluation of Adjunctive Tetracycline Fiber Therapy Used in Conjunction With Scaling and Root Planing in Maintenance Patients: Clinical Results. *J Periodontol*. 1994 Jul;65(7):685–91.
197. Vandekerckhove BNA, Quirynen M, van Steenberghe D. The Use of Tetracycline-Containing Controlled-Release Fibers in the Treatment of Refractory Periodontitis. *J Periodontol*. 1997 Apr;68(4):353–61.
198. Stoller NH, Johnson LR, Trapnell S, Harrold CQ, Garrett S. The Pharmacokinetic Profile of a Biodegradable Controlled-Release Delivery System Containing Doxycycline Compared to Systemically Delivered Doxycycline in Gingival Crevicular Fluid, Saliva, and Serum. *J Periodontol*. 1998 Oct;69(10):1085–91.
199. Ustaoglu G, Ercan E, Tunalı M. The role of titanium-prepared platelet-rich fibrin in palatal mucosal wound healing and histoconduction. *Acta Odontol Scand*. 2016 Oct 2;74(7):558–64.
200. Agarwal SK, Jhingran R, Bains VK, Srivastava R, Madan R, Rizvi I. Patient-centered evaluation of microsurgical management of gingival recession using coronally advanced flap with platelet-rich fibrin or amnion membrane: A comparative analysis. *Eur J Dent*. 2016 Jan 23;10(01):121–33.
201. Wennström A, Wennström J, Lindhe J. Healing following surgical and non-surgical treatment of juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol*. 1986 Oct 14;13(9):869–82.
202. Gummaluri SS, Bhattacharya HS, Astekar M, Cheruvu S. Evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin and leucocyteplatelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects: A randomized clinical trial. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*. 2020 Jun 17;14(2):83–91.

203. Tunalı M, Özdemir H, Küçükodacı Z, Akman S, Fıratlı E. In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2013 Jul;51(5):438–43.
204. Bahaa M, Alhaffar A, Shibibe LA, Soukkarieh C, Sulaiman AA. Modified Protocol to Use Platelet Rich Fibrin (PRF) as a local antibiotic delivery system-In Vitro study. 2021; Available from: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-101123/v2>
205. Polson AM, Garrett S, Stoller NH, Bandt CL, Hanes PJ, Killoy WJ, et al. Multi-Center Comparative Evaluation of Subgingivally Delivered Sanguinarine and Doxycycline in the Treatment of Periodontitis. I. Study Design, Procedures, and Management. *J Periodontol*. 1997 Feb;68(2):110–8.
206. Sam G, Vadakkekuttikal R, Amol N. In vitro evaluation of mechanical properties of platelet-rich fibrin membrane and scanning electron microscopic examination of its surface characteristics. *J Indian Soc Periodontol*. 2015;19(1):32.
207. Isobe K, Watanebe T, Kawabata H, Kitamura Y, Okudera T, Okudera H, et al. Mechanical and degradation properties of advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), concentrated growth factors (CGF), and platelet-poor plasma-derived fibrin (PPTF). *Int J Implant Dent*. 2017 Dec 2;3(1):17.
208. Mandell RL, Tripodi LS, Savitt E, Goodson JM, Socransky SS. The Effect of Treatment on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Localized Juvenile Periodontitis. *J Periodontol*. 1986 Feb;57(2):94–9.
209. Souto R, Silva-Boghossian CM, Colombo APV. Prevalence of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014 Jun;45(2):495–501.
210. Ercan E, Suner SS, Silan C, Yilmaz S, Siddikoglu D, Sahiner N, et al. Titanium platelet-rich fibrin (T-PRF) as high-capacity doxycycline delivery system. *Clin Oral Investig*. 2022 Aug 1;26(8):5429–38.
211. Feng M, Wang Y, Zhang P, Zhao Q, Yu S, Shen K, et al. Antibacterial effects of platelet-rich fibrin produced by horizontal centrifugation. *Int J Oral Sci*. 2020 Dec 26;12(1):32.
212. Deo V, Ansari S, Mandia S, Bhongade M. Therapeutic Efficacy of Subgingivally Delivered Doxycycline Hyclate as an Adjunct to Non-surgical Treatment of Chronic Periodontitis. *J Oral Maxillofac Res*. 2010 Dec 20;2(1).
213. Yang L, Hu S, Yan M, Yang J, Tsou S, Lin Y. Antimicrobial Activity of Platelet-Rich Plasma and Other Plasma Preparations Against Periodontal Pathogens. *J Periodontol*. 2015 Feb;86(2):310–8.
214. Kour P, Pudakalkatti P, Vas A, Das S, Padmanabhan S. 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*. *Contemp Clin Dent*. 2018;9(6):325.
215. Burnouf T, Chou M, Wu Y, Su C, Lee L. Antimicrobial activity of platelet (PLT)-poor plasma, PLT-rich plasma, PLT gel, and solvent/detergent-treated PLT lysate biomaterials against wound bacteria. *Transfusion (Paris)*. 2013 Jan 7;53(1):138–46.

216. Donmezer CM, Bilginaylar K. Comparison of the Postoperative Effects of Local Antibiotic versus Systemic Antibiotic with the Use of Platelet-Rich Fibrin on Impacted Mandibular Third Molar Surgery: A Randomized Split-Mouth Study. *Biomed Res Int.* 2021 Dec 2;2021:1–7.
217. Yajamanya S, Chatterjee A, Babu C, Karunanithi D. Fibrin network pattern changes of platelet-rich fibrin in young versus old age group of individuals: A cell block cytology study. *J Indian Soc Periodontol.* 2016;20(2):151.
218. Shats EA, Nair CH, Dhall DP. Interaction of endothelial cells and fibroblasts with modified fibrin networks: role in atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 1997 Feb;129(1):9–15.
219. Lucas Alves Moura Fernanda Vieira Ribeiro TBAEApDRDEASFHNJMZC, Sallum AW. Characterization of the release profile of doxycycline by PLGA microspheres adjunct to non-surgical periodontal therapy. *J Biomater Sci Polym Ed [Internet].* 2015;26(10):573–84. Available from: <https://doi.org/10.1080/09205063.2015.1045249>



8. EKLER

EK 1: Bilgilendirilmiş Olur Formu Kontrol Listesi

BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU KONTROL LİSTESİ

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

Yürütücülüğünü yaptığım **Farklı Dozlarda Doksisiklin İçeren T-PRF Membran Yapısının İn Vitro Olarak İncelenmesi** başlıklı araştırmaya ait Bilgilendirilmiş Olur Formu'nu, yukarıda bulunan ve bir Bilgilendirilmiş Olur Formu'nda olması gerekli asgari bilgiler doğrultusunda hazırladım.

Araştırma Yürütücüsü

İmza

Tarih

Dr. Öğr. Üyesi Esra Ateş YILDIRIM