

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOBALAMİN VE ALFA-TOKOFEROL'ÜN TROMBOSİTTEN
ZENGİN FİBRİN İÇERİSİNDEKİ BÜYÜME FAKTÖRLERİNE
ETKİSİ: IN-VITRO PİLOT ÇALIŞMA**

Dt. HALİL SAYGI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Onur UÇAK TÜRER

ADANA / 2025

T.C
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
DİŞ HEKİMLİĞİ FAKÜLTESİ
PERİODONTOLOJİ ANABİLİM DALI

**KOBALAMİN VE ALFA-TOKOFEROL'ÜN TROMBOSİTTEN
ZENGİN FİBRİN İÇERİSİNDEKİ BÜYÜME FAKTÖRLERİNE
ETKİSİ: IN-VITRO PİLOT ÇALIŞMA**

Dt. HALİL SAYGI

UZMANLIK TEZİ

DANIŞMANI
Prof. Dr. Onur UÇAK TÜRER

Bu proje, Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Projeler Birimi tarafından TDH 2024-17150 No'lu proje olarak desteklenmiştir.

ADANA / 2025

KABUL VE ONAY

Uzmanlık Programı Çerçevesinde yürütölmüş olan
“Kobalamin Ve Alfa-Tokoferol’ün Trombositten Zengin Fibrin İçerisindeki Büyüme
Faktörlerine Etkisi”
adlı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarihi: 05/09/2025

TEZ SINAV JÜRİSİ

Dr.
Üniversitesi
Başkan

Dr.
Üniversitesi
Üye

Dr.
Üniversitesi
Üye

Dr.
Üniversitesi
Üye

Dr.
Üniversitesi
Üye

Yukarıdaki Tez, Yönetim Kurulunun 10/09/2025 tarih ve 34/1 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

TEŞEKKÜR



İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER.....	II
ÇİZELGE LİSTESİ	IV
ŞEKİL LİSTESİ	V
KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ÖZET	VIII
ABSTRACT	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Trombosit Konsantrelerinin Tarihi ve Tarihçesi	3
2.1.1. Fibrin Yapıştırıcılar	3
2.1.2. Trombositten Zengin Plazma	4
2.1.2.1. Trombositten Zengin Plazma Elde Etme Yöntemi.....	5
2.1.3. Plazma Açısından Zengin Büyüme Faktörü (PRGF)	6
2.1.4. Trombositten Zengin Fibrin (TZF).....	8
2.1.4.1. Trombositten Zengin Fibrin (TZF) Elde Etme Yöntemi	9
2.1.4.2. Trombositten Zengin Fibrin Membranlarının Hazırlanması	10
2.1.5. Konsantre Büyüme Faktörü (CGF)	11
2.1.5.1. Konsantre Büyüme Faktörü Elde Etme Protokolü.....	11
2.1.6. İleri Trombositten Zengin Fibrin.....	12
2.1.7. Geliştirilmiş + Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF+)	13
2.1.8. Titanyumla Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF).....	13
2.1.9. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (İ-TZF)	14
2.2. Trombosit Konsantrelerinin Kullanım Alanları	15
2.3. Trombositlerin Yapısı ve İçeriğindeki Büyüme Faktörleri	16
2.3.1. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)	17
2.3.2. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF).....	17
2.3.3. Transforme Büyüme Faktörü (TGF-β)	17
2.3.4. Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü (VEGF)	17
2.3.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-1).....	18
2.4. İnflamasyonun Temel Mediatorleri: IL-1β ve TNF-α	18
2.5. Trombositten Zengin Fibrinin Histolojik Yapısı ve Biyolojik Etkileri	19

2.5.1. TZF'deki Büyüme Faktörlerinin Biyolojik Etkileri.....	21
2.5.2. TZF'nin Yara İyileşme Mekanizması Üzerine Biyolojik Etkileri.....	22
2.5.3. Trombositten Zengin Fibrinin Taşıyıcı Sistem Olarak Kullanımı.....	23
2.5.3.1. TZF ve Antibiyotik Kombinasyonu	24
2.5.3.2. TZF ve Hyalüronik Asit Kombinasyonu.....	25
2.5.3.3. TZF ve Steroid Olmayan Anti-İnflamatuar İlaçların Kombinasyonu	26
2.5.3.4. TZF ve Bifosfonatların Kombinasyonu	26
2.5.3.5. TZF ve Mine Matriks Proteini (EMD) Kombinasyonu	26
2.5.3.6. TZF ve Statinlerin Kombinasyonu	27
2.6. B12 Vitamini (Kobalaminler)	27
2.6.1. B12 Vitamini Ve Periodontal Dokularla İlişkisi.....	29
2.7. E Vitamini (Alfa -Tokoferol)	30
2.7.1. E Vitamini Ve Periodontal Dokularla İlişkisi	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1. Hasta Seçimi.....	33
3.1.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi	33
3.2. Çalışma Protokolü	34
3.2.1. Vitamin Dozlarının Belirlenmesi.....	35
3.3. TZF Hazırlık Protokolü.....	35
3.4. Büyüme Faktörlerinin Belirlenmesi.....	36
3.5. İstatiksel Analiz	37
4. BULGULAR	39
4.1. TZF Gruplarının Büyüme Faktör Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	39
4.2. TZF Gruplarının İnflamatuar Sitokin Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	43
5. TARTIŞMA.....	48
6. SONUÇ.....	51
KAYNAKÇA.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	68

ÇİZELGE LİSTESİ

Çizelge 1. Grup İçi ve Gruplar Arası Büyüme Faktörlerinin Ölçümlerinin Karşılaştırılması..46



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. TZP hazırlama protokolü	6
Şekil 2. PRGF	7
Şekil 3. TZF'nin komponentleri.....	10
Şekil 4. TZF membran hazırlanması	11
Şekil 5. Konsantre büyüme faktörü.....	12
Şekil 6. TZF tüpleri	14
Şekil 7. Aktif (a) ve inaktif (b) trombosit yapısı	20
Şekil 8. Büyüme faktörleri ve yara iyileşmesi	23
Şekil 9. B12 ve E vitamini.....	34
Şekil 10. B12 vitaminin enjektöre çekilmesi	35
Şekil 11. E vitaminin enjektöre çekilmesi	35
Şekil 12. Santrifüj sonrası çalışma grupları.....	35
Şekil 13. B12 vitamini eklenerek elde edilen trombosit zengin fibrin	36
Şekil 14. E vitamini eklenerek elde edilen trombosit zengin fibrin	36
Şekil 15. Orbital shaker ile düşük hızda inkübasyon	37
Şekil 16. Elisa analizi	37

KISALTMALAR DİZİNİ

APC	: Otolog trombosit konsantresi
Anti-TNF	: Anti Tümör Nekroz Faktör
ADP	: Adenozin Difosfat
A-TZF	: İleri Trombositten Zengin Fibrin
A-TZF+	: İleri Trombositten Zengin Fibrin +
BKH	: Beyaz Kan Hücresi
C-TZF	: Konsantre Trombositten Zengin Fibrin
CGF	: Konsantre Büyüme Faktörü
CHA	: Kombine Hiyalüronik Asit
CAL	: Klinik Atışman Kaybı
CaCl₂	: Kalsiyum Klorür
Da	: Dalton
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DKKA	: Dondurularak Kurutulmuş Kemik Allogrefti
ECM	: Ekstra Sellüler Matriks
ELISA	: Enzim Bağlantılı İmmünosorbent Analizi
EMD	: Mine Matris Türevi
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
HA	: Hiyalüronik Asit
HGF	: Hepatosit Büyüme Faktörü
HCl	: Hidroklorik Asit
IGF-1	: İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü 1
IL-1β	: İnterlökin 1 Beta
IL-1	: İnterlökin 1
IL-4	: İnterlökin 4
IL-6	: İnterlökin 6
IL1R1	: İnterlökin 1 reseptör 1
i-TZF	: Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin
KKH	: Kırmızı Kan Hücreleri
L-TZP	: Lökosit ve Trombositten Zengin Plazma
L-TZF	: Lökosit ve Trombosit Açısından Zengin Fibrin

MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MCP-1	: Monosit Kemotaktik Protein 1
Mg	: Magnezyum
mg	: miligram
MyD88	: Myeloid farklılaşma birincil yanıtı 88
MAP	: Mitogenle Aktive Olan Protein Kinaz
NFκB	: Nükleer Faktör-Kappa B
NHANES	: Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi
ng/mL	: nanogram/mililitre
nmol/L	: nanomol/litre
ORN	: Osteoradyonekroz
OFD	: Açık Flap Debridmanı
PRGF	: Büyüme faktörlerinden Zengin Plazma
PDGF	: Trombosit Dönüştürücü Büyüme Faktörü
PDWHF	: Trombosit Kaynaklı Yara İyileştirme Faktörleri
Pro-IL-1 β	: İnaktif İnterlökin 1 β
RPM	: Dakikadaki Devir Sayısı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
T-TZF	: Titanyumla Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin
TZP	: Trombositten Zengin Plazma
TZF	: Trombositten Zengin Fibrin
TFP	: Trombositten Fakir Plazma
TNF-α	: Tümör Nekroz Faktör alfa
TGFβ	: Dönüştürücü Büyüme Faktörü
TxA2	: Tromboksan A2
TME	: Temporomandibular Eklem
TACE	: Tümör Nekroz Faktör Dönüştürücü Enzim
TNFR	: Tümör Nekroz Faktör Reseptörü
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

ÖZET

Kobalamin Ve Alfa-Tokoferol'ün Trombositten Zengin Fibrin İçerisindeki Büyüme Faktörlerine Etkisi: In-Vitro Pilot Çalışma

Amaç: Bu çalışma, kobalamin (vitamin B12) ve alfa-tokoferol (vitamin E) katkısının trombositten zengin fibrin (TZF) içeriğindeki büyüme faktörleri ve proinflamatuar sitokin düzeyleri üzerindeki etkilerini in vitro koşullarda değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya sistemik hastalığı olmayan 12 sağlıklı gönüllü (6 kadın, 6 erkek) dahil edilmiştir. Katılımcılardan alınan venöz kan örnekleri üç gruba ayrılmıştır: yalnızca TZF (kontrol grubu), B12 vitamini eklenmiş TZF ve E vitamini eklenmiş TZF. Elde edilen TZF örneklerinden 24. ve 72. saatlerde büyüme faktörleri [PDGF, TGF- β 1, VEGF, IGF-1, FGF-2] ve proinflamatuar sitokinler [IL-1 β , TNF- α] ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Veriler uygun istatistiksel testler kullanılarak değerlendirilmiştir.

Bulgular: Vitamin B12 ve E vitamini katkısının, TZF'nin büyüme faktörü salınım profili ve sitokin düzeylerinde belirgin değişiklikler oluşturabileceği gözlenmiştir. Bu değişiklikler, rejeneratif kapasitenin artmasına işaret etmektedir.

Sonuç: Vitamin B12 ve E vitamini ile zenginleştirilmiş TZF, periodontal ve oral cerrahi uygulamalarda iyileşme sürecini hızlandırma ve doku kalitesini artırma potansiyeline sahiptir. Bulgular, bu yaklaşımın klinik kullanımını desteklemekle birlikte, etkinliğin doğrulanması için ileri düzey in vivo çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: Trombositten zengin fibrin, B12 vitamini, E vitamini, büyüme faktörleri, sitokinler

ABSTRACT

The Effect of Cobalamin and Alpha-Tocopherol on the Growth Factors in Platelet-Rich Fibrin: An In-Vitro Pilot Study

Objective: This study aimed to evaluate the effects of cobalamin (vitamin B12) and alpha-tocopherol (vitamin E) supplementation on the levels of growth factors and proinflammatory cytokines in platelet-rich fibrin (PRF) under in vitro conditions.

Materials and Methods: Twelve healthy volunteers (6 females, 6 males) without systemic diseases were included in the study. Venous blood samples were divided into three groups: PRF alone (control group), PRF with added vitamin B12, and PRF with added vitamin E. Growth factors [PDGF, TGF- β 1, VEGF, IGF-1, FGF-2] and proinflammatory cytokines [IL-1 β , TNF- α] were measured at 24 and 72 hours using the ELISA method. Data were analyzed using appropriate statistical tests.

Results: The addition of vitamins B12 and E to PRF was found to induce notable changes in growth factor release profiles and cytokine levels, suggesting an enhancement of regenerative capacity.

Conclusion: Vitamin B12- and vitamin E-enriched PRF may have the potential to accelerate healing and improve tissue quality in periodontal and oral surgical applications. While these findings support its potential clinical use, further advanced in vivo studies are required to confirm its efficacy.

Keywords: Platelet-rich fibrin, vitamin B12, vitamin E, growth factors, cytokines

1. GİRİŞ

Geleneksel doku mühendisliği yaklaşımları genellikle sentetik malzemelere dayanmaktadır; ancak günümüzde biyolojik özelliklerinden ötürü doğal malzemelerin kullanımı da artış göstermektedir. Bu yöntemler arasında otolog trombosit konsantreleri de önemli bir yer tutmaktadır. Trombositlerin biyomoleküllerin aktivasyonu ve salınımı ile ilişkili önemli işlevler üstlendiği bilinmektedir. Bu özellikleri nedeniyle, trombositler doku onarımında ve iyileşme süreçlerinde hayati bir rol oynar. ¹

Otolog trombosit konsantrelerinin diş hekimliğinin çeşitli alanlarında kullanımı 1980-1990 yıllarına dayanmaktadır. Bu dönemden itibaren, trombosit konsantreleri ve büyüme faktörleri periodontal cerrahi işlemler, pulpodentin kompleksinin rejenerasyonu, dental implant uygulamaları ve oral cerrahi prosedürlerde sert ve yumuşak doku rejenerasyonunu desteklemek amacıyla rutin bir şekilde kullanılmaktadır. ²

Büyüme faktörleri içeren trombositler, hücrelerin migrasyonu, proliferasyonu, farklılaşması ve anjiyogenez gibi süreçlerde önemli rol oynar ve bu roller doku rejenerasyonu süreciyle doğrudan ilişkilidir. Otolog trombosit konsantreleri (APC'ler), venöz kanın farklı hızlarda santrifüjlenmesi, trombin ve antikoagülanların kullanımı veya kullanılmaması yoluyla hazırlanır. Bu işlem protokolleri sonucunda, trombosit ve lökosit içeren bir fibrin pıhtısı oluşur. ³

Trombosit konsantreleri, tarihsel süreç içinde fibrin yapıştırıcılardan başlayarak, Trombositten Zengin Plazma (TZP), Trombositten Zengin Fibrin (TZF), İleri Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF), Titanyum ile hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF), Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (İ-TZF) ve Konsantre Büyüme Faktörü (CGF) gibi farklı formlara dönüşmüştür. ⁴

TZF hazırlığında antikoagülanlar kullanılmadığından, tamamen doğal ve biyolojik bir şekilde doku mühendisliğinin üç temel kriterini karşılayan üç boyutlu bir fibrin iskeleti oluşur. Zamanla, fibrinin yalnızca farklı hücre tiplerini barındırmakla kalmayıp, büyüme faktörlerini yavaş ve kademeli bir şekilde saldığı anlaşılmıştır. Bu salınım profilinin anjiyogenezi, hücre aktivitesini ve doku yenilenmesini desteklediği gösterilmiştir. ³

Trombositten zengin fibrin (TZF), ilaç taşıyıcı sistem olarak değerlendirildiğinde; biyoyumluluk, mekanik stabilite ve morfolojik bütünlüğün korunması gibi çok sayıda fizikokimyasal özelliğin dikkatle optimize edilmesi gerekmektedir. Bu parametrelerin etkin biçimde sağlanması, TZF temelli sistemlerin terapötik başarısını ve biyolojik güvenliğini doğrudan etkilemektedir. Bu bağlamda, TZF'nin farmasötik taşıyıcı platform olarak

geliştirilmesi; hedefe yönelik ilaç salınımını artırmak ve sistemik toksisiteyi en aza indirmek amacıyla disiplinler arası bir araştırma stratejisi gerektirir.⁵

Vitamin B12 (kobalamin) ve E vitamini (alfa-tokoferol), hem genel hem de periodontal sağlığın korunmasında önemli biyolojik roller üstlenmektedir. Vitamin B12, nükleik asit sentezi, amino asit ve yağ asidi metabolizmasında koenzim olarak görev yapmasının yanı sıra, eritrosit üretimi ve miyelin sentezi için de elzem bir vitamindir. B12 eksikliği, oral mukozada solukluk, stomatit, kanamalı diş etleri ve alveolar kemik kaybı gibi çeşitli klinik belirtilerle kendini gösterebilir.⁶

Literatürde, ciddi B12 eksikliği ile karakterize anemi durumlarında belirgin periodontal yıkımın gözlemlendiği vakalar bildirilmiştir.⁷

Öte yandan, E vitamini güçlü bir antioksidan olarak, hücrel lipit peroksidasyonunu engelleyerek serbest radikallerin oluşturduğu hasarı sınırlamakta ve periodontal dokularda oksidatif stresin azaltılmasında rol oynamaktadır. Özellikle kollajen yapısının stabilizasyonunda ve hemolizin önlenmesinde önemli bir faktördür.⁶ Kronik periodontitis hastalarında yapılan çalışmalar, sistemik ve lokal süperoksit dismutaz (SOD) düzeylerinin azaldığını ve destekleyici E vitamini takviyesinin periodontal iyileşme ile birlikte antioksidan savunma sistemini güçlendirdiğini ortaya koymuştur.⁸

B12 ve E vitaminlerinin potansiyel yararları göz önüne alındığında, bu vitaminlerin santrifüj öncesi lokal uygulama ile Trombositten Zengin Fibrin (TZF) içerisine dahil edilmesinin; büyüme faktörleri, sitokinler ve mekanik özellikler üzerinde olumlu etkiler oluşturabileceği öngörülmektedir. Böyle bir yaklaşımın, TZF'nin rejeneratif kapasitesini artırarak periodontal tedavi süreçlerinde daha etkin ve başarılı klinik sonuçlara katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Cerrahi işlemlerde rutin olarak kullanılan TZF'nin içeriğindeki otolog büyüme faktörlerinin yara iyileşmesi üzerindeki olumlu etkisi birçok çalışmada gösterilmiştir. Çalışmamızda TZF'ye eklenen vitamin B12 (kobalamin) ve vitamin E'nin (alfa-tokoferol) büyüme faktörlerine etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Trombosit Konsantrelerinin Tarihi ve Tarihçesi

Trombosit konsantreleri, hastanın kendi kanından elde edilen ve içeriklerinde doku rejenerasyonunu destekleyen sitokinler, büyüme faktörleri ve otojen trombositlerin yanı sıra anjiyogenezis, kemotaksis, hücre dışı matris sentezi, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını teşvik eden biyolojik bileşenler barındıran kan türevleridir. ⁹

1954 yılında Kingsley, kan pıhtılaşmasıyla ilgili deneyleri sırasında, trombosit konsantresini tanımlamak amacıyla ilk kez "trombositten zengin plazma" terimini kullanmıştır. 1970 yılında ise Matras, "fibrin yapıştırıcıyı" sıçan modellerinde deri yaralarının iyileşmesini inceleyen deneylerde tanıtarak geliştirmiştir. Fibrin yapıştırıcısı, fibrinojenin trombin ve kalsiyum ile polimerizasyonu sonucu elde edilmiştir. 1986 yılında Knighton ve ekibi, trombosit konsantrelerinin cilt ülserlerinin iyileşmesindeki etkilerini göstermiş ve bu ürünleri "trombosit kaynaklı yara iyileştirme faktörleri (PDWHF)" olarak adlandırmıştır. ⁴

Whitman, trombosit konsantrelerinin ilk nesli olan trombosit zengin plazmanın (TZP) ağız ve çene-yüz cerrahisindeki kullanımını ele alan ilk bilimsel makaleyi yayımlamıştır. 2001 yılında Choukroun ve çalışma arkadaşları, yeni nesil bir trombosit konsantresi olarak trombosit zengin fibrini (TZF) tanıtmıştır. ¹⁰ Bunu takip eden 20 yıl boyunca TZF üzerine yapılan çalışmalar devam etmiş ve İ-TZF, A-TZF gibi farklı trombosit konsantresi türleri tanımlanmıştır. ⁴

Trombosit ürünlerinin elde edilmesinde kullanılan çeşitli yöntemler, bu ürünlerin içeriklerini de farklılaştırmaktadır. Bu bağlamda, trombosit ürünleri fibrin ve lökosit içeriklerine göre Ehrenfest ve çalışma arkadaşları tarafından sınıflandırılmıştır. ¹¹

- 1- Saf trombosit zengin plazma (P-TZP)
- 2- Lökosit ve trombosit zengin plazma (L-TZP)
- 3- Saf trombosit zengin fibrin (P-TZF)
- 4- Lökosit ve trombosit zengin fibrin (L-TZF) ¹¹

2.1.1. Fibrin Yapıştırıcılar

Fibrin yapıştırıcılar, fibrinojen ve trombin bileşenlerini içeren, plazma kaynaklı biyolojik doku yapıştırıcılarıdır. Fibrinojenin trombin aracılığıyla aktive edilmesi sonucu oluşan bu yapılar, kan pıhtılaşma sürecinin son aşamalarını taklit eder. Kolay uygulanabilir ve

pratik kullanıma uygun olmaları, fibrin yapıştırıcılarının cerrahi ve klinik alanlarda yaygın olarak tercih edilmesini sağlamaktadır. ¹²

Hazırlama yöntemleri açısından trombosit ürünleri, kan merkezlerinden elde edilen allojenik kaynaklardan ya da hastanın kendi kanından üretilen otolog kaynaklardan temin edilebilir. Ayrıca, bu ürünler ticari amaçlarla da üretilmektedir. ¹³

Ticari fibrin yapıştırıcılar, iki ana bileşenden oluşmaktadır: birinci bileşen, fibrinojen, Faktör XIII ve aprotinin içeren bir solüsyon; ikinci bileşen ise sığır trombini ve kalsiyum klorür (CaCl₂) içeren bir solüsyondur. Bu iki bileşen bir araya getirildiğinde, pıhtılaşma süreci taklit edilerek jel benzeri bir fibrin pıhtısı oluşmaktadır. ¹⁴

Oluşan bu fibrin pıhtısı, topikal olarak uygulanabilmekte olup; yalnızca hemostatik bir ajan olarak değil, aynı zamanda doku bütünlüğünün bozulduğu durumlarda biyolojik bir yapıştırıcı olarak ya da kemik grefti partiküllerinin bir arada tutulmasında yardımcı bir matriks materyali şeklinde de etkili bir biçimde kullanılabilir. Bununla birlikte, düşük trombosit içeriği ve kararsız stabilite özellikleri nedeniyle fibrin yapıştırıcıları, trombosit konsantrlerine kıyasla daha az tercih edilen bir seçenek haline gelmiştir. ¹⁵

2.1.2. Trombositten Zengin Plazma

Trombositten zengin plazma (TZP), rejeneratif özellikleri nedeniyle tıp ve diş hekimliği alanlarında yaygın olarak kullanılan, hastanın kendi kanından elde edilen doğal bir biyomateryaldir. ¹⁶ Yüksek konsantrasyonda trombosit içeren ve otolog bir ürün olan TZP, kemik ve yumuşak doku iyileşmesini hızlandıran büyüme faktörleri bakımından oldukça zengindir. Bu özellikleri, fibrin yapıştırıcılar ve trombosit içermeyen diğer doku yapıştırıcılarına kıyasla TZP'yi benzersiz kılmaktadır. ¹⁷

TZP'nin içerdiği büyüme faktörleri ve sitokinler, uygulama alanında endotel ve epitel rejenerasyonunu hızlandırır, anjiyogenezi uyarır, kollajen sentezini destekler, yumuşak doku iyileşmesini teşvik eder ve hemostatik yanıtı güçlendirir. ^{17,18} Ayrıca, içerdiği interlökinler (IL) ve lökositler sayesinde immün sistemi destekleyerek antimikrobiyal özellikler sergilediği rapor edilmiştir. ¹⁹ TZP'nin oral cerrahi prosedürlerde kemik greftlerinde osteoprogenitör hücrelerin artışı sağladığı gösterilmiştir. ²⁰ TZP'nin otolog bir kan ürünü olması, immünojenik reaksiyon ve bulaşıcı hastalık riski taşıma endişelerini ortadan kaldırmaktadır. ^{21,22}

Doğal bir kan pıhtısı yaklaşık %94 kırmızı kan hücresi (KKH), %5 trombosit ve %1 beyaz kan hücresi (BKH) içerirken, TZP'nin %95'i trombositlerden oluşmaktadır. Ancak, TZP'nin bazı dezavantajları bulunmaktadır. Bunlar arasında, sığır trombini ve kalsiyum klorür kullanımına bağlı alerjik reaksiyon riski, çok adımlı hazırlama protokolü ve hastalar arasında

etkinliğin değişkenlik göstermesi nedeniyle farklı başarı oranlarının gözlemlenmesi yer almaktadır. ^{20,23-25}

Büyüme faktörlerinin salınımı, TZP hazırlandıktan sonraki ilk 10 dakika içinde başlamakta ve bu faktörlerin yaklaşık %95'i ilk bir saat içerisinde salınmaktadır. Bu nedenle, TZP'nin optimum sonuçlar için taze hazırlandıktan sonraki 4 saat içinde uygulanması gerekmektedir. ²⁶ Bununla birlikte, büyüme faktörlerinin kısa süreli salınımı, TZP'nin kemik rejenerasyonu üzerindeki klinik başarı potansiyelini sınırlayan bir faktör olarak değerlendirilmektedir. ²⁷

2.1.2.1. Trombositten Zengin Plazma Elde Etme Yöntemi

Çift santrifüjleme yöntemiyle trombosit zengin plazma (TZP) elde edilmesi süreci, antikoagülan içeren steril santrifüj tüplerine venöz kanın alınmasıyla başlatılmaktadır. ¹⁰ İlk aşamada, 1300 RPM'de 10 dakika süreyle “yumuşak dönüş” olarak adlandırılan bir santrifüjleme işlemi gerçekleştirilir. ²⁸ Bu işlem, kanın üç farklı katmana ayrılmasını sağlar:

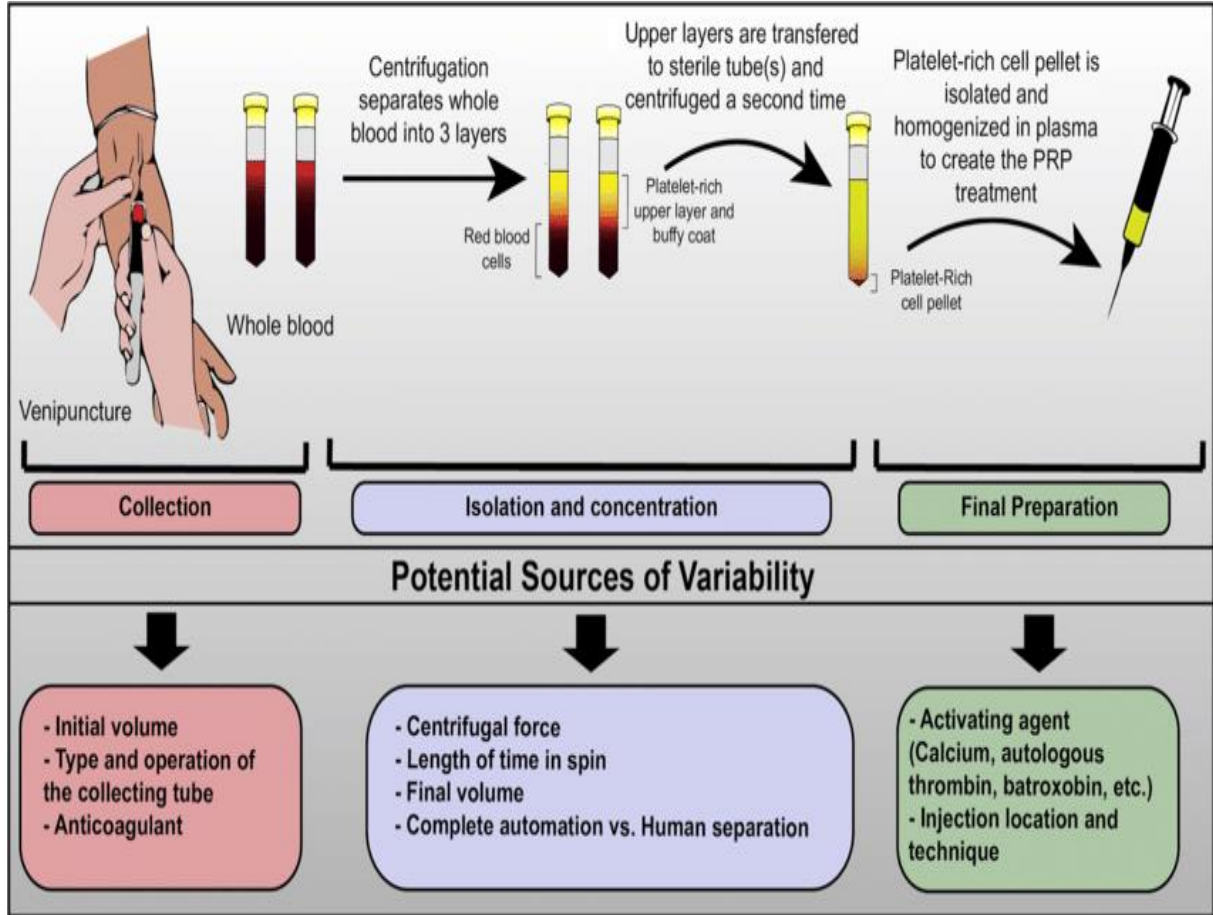
- **En alttaki katman:** Alyuvarlar (kırmızı kan hücreleri, KKH), toplam hacmin %55'ini oluşturur.
- **En üstteki katman:** Aselüler plazma ve dolaşımdaki plazmatik moleküllerden (özellikle fibrinojen) oluşan trombosit fakir plazma (TFP), toplam hacmin %40'ını oluşturur.
- **Orta katman:** “Buffy coat” adı verilen, KKH ve TFP arasında yer alan ara katman, toplam hacmin %5'ini oluşturur. ^{10,20}

Uygulayıcı, steril bir şırınga yardımıyla TFP, TZP ve bir miktar KKH'yi aspire ederek bu materyali antikoagülsüz başka bir tüpe aktarır. ¹⁰ Bu tüp, 2000 RPM'de 10 dakika süreyle “sert dönüş” olarak adlandırılan ikinci bir santrifüjleme işlemine tabi tutulur. ²⁸ Bu işlem sonucunda tekrar üç katman oluşur:

- **Alt katman:** Bazı artık KKH'ler.
- **Orta katman:** Trombosit fakir plazma (TFP), toplam hacmin %80'ini oluşturur.
- **Üst katman:** Trombosit zengin plazma (TZP). ^{10,20,28}

Bu aşamada TZP'yi toplamak oldukça kolaylaşır. Uygulayıcı, TFP'nin büyük bir kısmını şırınga yardımıyla uzaklaştırır ve konsantre trombositleri süspansiyon haline getirmeye

yetecek miktarda serum bırakır. Tüp, kullanıma hazır TZP elde etmek için hafifçe çalkalanır. Uygulama sırasında TZP, bir karıştırma şırıngası kullanılarak sıgır trombini ve kalsiyum klorür ile karıştırılır. Bu karışım, trombosit konsantrasyonlarının jelleşmesini sağlayarak uygulama için hazır hale gelmesini sağlar.¹⁰



Şekil 1. TZP hazırlama protokolü²⁹

2.1.3. Plazma Açısından Zengin Büyüme Faktörü (PRGF)

PRGF (Plasma Rich in Growth Factors), 1999 yılında Anitua tarafından, yara iyileşmesini hızlandırmak ve kemik greftleme gibi intraoral cerrahi prosedürlerin ardından daha hızlı ve öngörülebilir bir rejeneratif yanıtı teşvik etmek amacıyla tanıtılmış, otolog kan türevi bir biyolojik üründür.³⁰

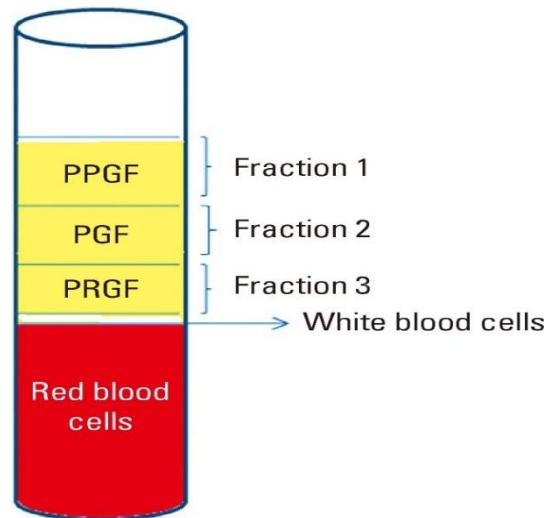
PRGF'nin hazırlanma süreci, tek bir santrifüjleme tekniği kullanılarak gerçekleştirilir ve büyüme faktörlerinin salınımına ek olarak fibrin matris oluşumunu sağlamak amacıyla taze alınan kanın antikoagülan içeren tüplere toplanmasını gerektirir.³¹ Hazırlık sürecinde, antikoagülanlı tüplere toplanan venöz kan, 460 G kuvvetinde 8 dakika boyunca santrifüjlenir. Santrifüjleme işlemi tamamlandığında, tüpün dibinde toplanan PRGF tabakası dikkatlice aspire

edilerek ayrılır ve kalsiyum klorür eklenir. Kalsiyum klorür ilavesi, yaklaşık 10 dakika içerisinde pıhtılaşmayı tetikleyerek jelatinimsi bir PRGF oluşumunu sağlar. Bu yöntem, PRGF'nin etkinliğini artırarak çeşitli rejeneratif uygulamalarda kullanımına olanak tanır.³²

Kalsiyum klorür ilavesi, fizyolojik pıhtılaşma sürecini taklit ederek, doku onarımı ve yara iyileşmesi için kritik öneme sahip büyüme faktörlerinin; Dönüştürücü Büyüme Faktörü- $\beta 1$ [Transforming Growth Factor- $\beta 1$, TGF- $\beta 1$], Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü [Platelet-Derived Growth Factor, PDGF], Vasküler Endotelial Büyüme Faktörü [Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF] ve İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü [Insulin-like Growth Factor, IGF]) daha uzun süreli salınımını sağlar. Ayrıca bu işlem, doğal trombin oluşumunu teşvik ederek immünolojik reaksiyonları ve ekzojen sıgır trombini kullanımına bağlı olası hastalık bulaşma risklerini ortadan kaldırmaktadır.^{16,33}

PRGF, diğer trombosit konsantrelerinden farklı olarak, lokal proinflatuar etkilerin minimize edilmesi amacıyla lökositlerden arındırılmıştır. Lökositler, matriks metalloproteinaz-8 (MMP-8) ve MMP-9 gibi matriks yıkıcı enzimlerin ekspresyonuna ve reaktif oksijen türlerinin salınımına neden olur. Bu reaktif türler, yaralı veya sağlıklı tüm çevresel hücrelere zarar vererek rejenerasyon sürecini olumsuz etkileyebilir. Bu nedenlerle PRGF'nin hazırlanmasında lökositlerin ayrıştırılması tercih edilmiştir.^{34,35}

Bununla birlikte, PRGF'nin fiziksel dayanıklılığının düşük olması, saklama zorluğu, düşük büyüme faktörü konsantrasyonu ve hazırlanma sürecinde sodyum sitrat ile kalsiyum klorür ilavesini gerektirmesi, bu yöntemin başlıca dezavantajları arasında yer almaktadır.²⁸



Şekil 2. PRGF³⁶

2.1.4. Trombositten Zengin Fibrin (TZF)

2000 yılında Choukroun ve çalışma arkadaşları, ağız, yüz ve çene cerrahisi prosedürlerinde kullanılmak üzere trombositten zengin plazmaya (TZP) alternatif olarak yeni nesil bir trombosit konsantresi olan trombositten zengin fibrini (TZF) tanıtmışlardır. TZF, antikoagülan, sığır trombini veya kalsiyum klorür (CaCl_2) eklenmesini gerektirmeyen, tamamen fizyolojik bir konsantre olarak geliştirilmiştir. ^{10,37,38}

TZF, trombositler, lökositler, monositler, kök hücreler ve büyüme faktörlerinden oluşan üç boyutlu bir fibrin matriksine sahiptir. ^{10,38,39} Bu fibrin matriksi, mikrovaskülarizasyonu destekleyen ve epitel hücre göçünü yönlendiren biyolojik olarak parçalanabilir bir yapı iskeleti görevi görmektedir. ^{10,37} TZP'nin büyüme faktörlerini büyük oranda ilk gün içinde serbest bırakmasına karşın, TZF, büyüme faktörleri ve sitokinlerin 7 ila 14 gün boyunca yavaş ve sürekli salınımını sağlamaktadır. ⁴⁰

Tam kan ile karşılaştırıldığında, TZF'nin %97 oranında trombosit ve %50'den fazla lökosit içerdiği gösterilmiştir. Fibrinojen, dolaşımdaki trombin tarafından fibrin ağına dönüştürülene kadar tüpün üst kısmında yoğunlaşmakta ve TZF, fizyolojik trombin seviyeleri nedeniyle santrifüjleme sırasında doğal ve yavaş bir şekilde polimerize olmaktadır. ^{10,40,41}

TZF ayrıca immünolojik ve antibakteriyel özellikler sergilemektedir. ^{37,42} Fibrin matriksinde hapsolan lökositler, fagositoz ve serbest radikaller ile sindirim enzimleri üreterek yara bölgesine gelen bakteri ve patojenleri ortadan kaldırmakta, böylece antimikrobiyal etkinlik göstermektedir. ^{37,43,44}

TZF, interlökin 1β (IL- 1β), IL-4, tümör nekroz faktörü- α (TNF- α), PDGF- α ve β , TGF- $\beta 1$, IGF-1 ve VEGF gibi büyüme faktörleri ve sitokinler içermektedir. Bu faktörler arasında en yüksek miktarlarda transforme büyüme faktörü $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), PDGF- α ve β ile VEGF salınmaktadır. ^{45,46} Bu büyüme faktörleri, kollajen üretimini uyarak, yara direncini artırarak ve kallus oluşumunu teşvik ederek yumuşak ve sert doku iyileşmesini hızlandırmaktadır. ²⁰

TZF'nin hazırlanmasında sığır trombini veya antikoagülan gibi ek faktörlerin gerekmemesi, hazırlık süresini ve maliyetini önemli ölçüde azaltmaktadır. ²⁷ Doğal bir fibrin çerçevesi üzerinde büyüme faktörlerinin daha uzun süreli aktivitesini koruması, doku rejenerasyonunu etkili bir şekilde uyarmasına olanak tanımaktadır. ⁴⁷ TZF, hem tek başına hem de kemik greftleri ile kombinasyon halinde kullanılabilmekte, greftlenmiş kemiğin iyileşme oranını artırmaktadır. ⁴⁸ Ayrıca membran olarak kullanıldığında donör saha cerrahi prosedürlerine olan ihtiyacı azaltmakta ve erken yara iyileşmesi döneminde hasta konforunu artırmaktadır. ⁴⁹

Bununla birlikte, TZF'nin yalnızca katı formda olması, enjekte edilebilir fibrin yapıştırıcılar gibi kullanımını sınırlamaktadır. ¹¹ Bu sınırlamaların üstesinden gelmek amacıyla, kan tüplerinin özellikleri, santrifüj hızı ve süresi değiştirilerek daha yeni TZF formları geliştirilmiştir. ^{28,50}

2.1.4.1. Trombositten Zengin Fibrin (TZF) Elde Etme Yöntemi

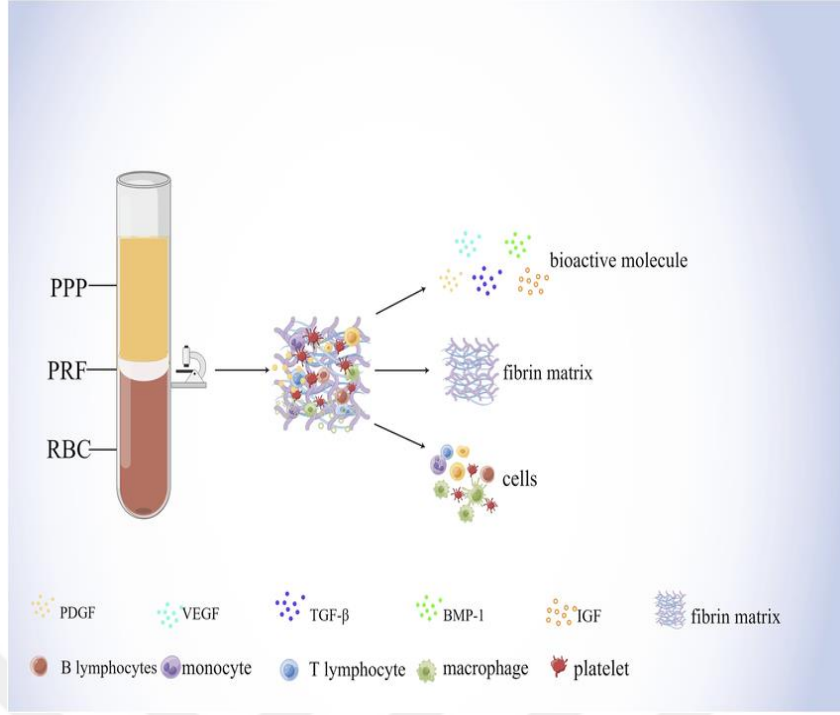
TZF, trombositler ve sitokinlerin fibrin pıhtısında yoğunlaştırılmasıyla elde edilir. Bu işlem, antikoagülan veya sığır trombini eklenmesine gerek kalmadan sadece santrifüjlenmiş kan kullanılarak gerçekleştirilir. ¹⁰ Cam veya cam kaplı plastik tüplere antikoagülan içermeyen 10 ml kan alınır ve ardından 3.000 rpm hızında 10 dakika boyunca santrifüjlenir. ^{10,28,51-53} İşlem sonucunda tüpte üç katman oluşur:

- **En alt katman:** Kırmızı kan hücrelerini (KKH) içeren kırmızı renkli tabaka.
- **Orta katman:** TZF pıhtısını oluşturan fibrin pıhtısı.
- **En üst katman:** Trombositten fakir plazma (TFP) içeren hücresiz tabaka. ^{10,17,53}

Santrifüjleme sırasında, fibrinojen üst kısımda yoğunlaşır ve trombin ile birleşerek fibrin ağına dönüşür. Bu süreç, fibrinojenin polimerleşmesini sağlayarak TZF pıhtısının oluşumuna neden olur. Polimerleşme sonucu trombositlerin büyük bir kısmı, fibrin pıhtısının alt kısmında, genellikle alyuvarlar ile TZF pıhtısı arasındaki bağlantı bölgesinde birikir. ⁴²

Santrifüjleme sonrası, üstteki TFP tabakası alınır, orta katmandaki TZF pıhtısı dikkatlice toplanır ve fibrin pıhtısı steril bir yüzeye yerleştirilir. Pıhtıya yapışmış KKH'ler nazikçe temizlenir ve TZF uygulamaya hazır hale getirilir. ¹⁰

Kan cam yüzeyle temas ettiği anda pıhtılaşmaya başladığı için TZF'nin hazırlanması hızlıca yapılmalıdır. Santrifüjleme, fibrinojeni pıhtının merkezinde yoğunlaştırmak için zamanında başlatılmalıdır. Eğer işlem gecikirse, pıhtı homojen şekilde polimerize olur ve uygun bir TZF elde edilemez. ^{10,54}

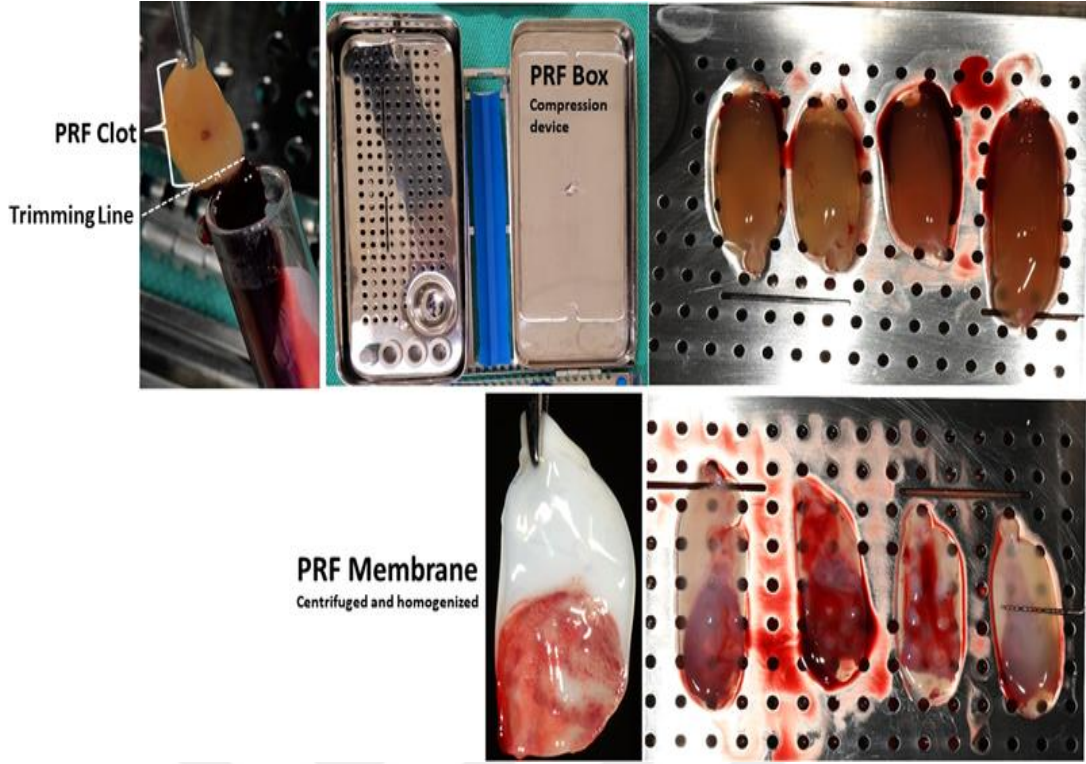


Şekil 3. TZF'nin komponentleri⁵⁵

2.1.4.2. Trombositten Zengin Fibrin Membranlarının Hazırlanması

Mazor ve arkadaşları, TZF pıhtılarını membrana dönüştürmek için steril gazlı bez veya özel bir cihaz kullanmıştır. Bu amaçla, TZF pıhtılarını toplayıp membrana dönüştüren ve saklamaya uygun hale getiren bir TZF kutusu (Proces) geliştirilmiştir. Kutunun sıkıştırma mekanizması, bir dakikadan kısa sürede eşit kalınlıkta TZF membranları üretir. Kompresyon işlemi büyüme faktörlerini korur ve fibronektin ile vitronektin açısından zengin serum elde edilmesini sağlar. TZF membranları, klinik uygulamalar için daha kullanışlı hale getirilmiştir.

46,56,57



Şekil 4. TZF membran hazırlanması⁵⁸

2.1.5. Konsantre Büyüme Faktörü (CGF)

2006 yılında Sacco tarafından tanımlanan Konsantre Büyüme Faktörleri (CGF), Trombositten Zengin Fibrin (TZF) ile benzer özellikler taşımaktadır. CGF, trombositler, lökositler ve büyüme faktörleri bakımından zengin bir fibrin matriksi oluşturmaktadır. Bu yapı, kan örneklerinin özel bir santrifüj cihazı (Medifuge, Si lfradent, İtalya) kullanılarak işlenmesi sonucu elde edilmektedir. CGF'nin üretiminde kullanılan farklı santrifüjleme hızları, daha büyük, daha yoğun ve büyüme faktörleri açısından daha zengin bir fibrin matriksi elde edilmesine olanak sağlamaktadır.^{59,60}

2.1.5.1. Konsantre Büyüme Faktörü Elde Etme Protokolü

CGF elde etmek amacıyla, pıhtılaşmayı önleyici madde içermeyen 10 ml'lik tüplere alınan kan örnekleri, özel bir santrifüj cihazına (Medifuge MF200, Silfradent srl, Forlì, İtalya) yerleştirilir. Bu cihaz, aşağıda belirtilen hız ve süre parametrelerine göre önceden programlanmıştır:

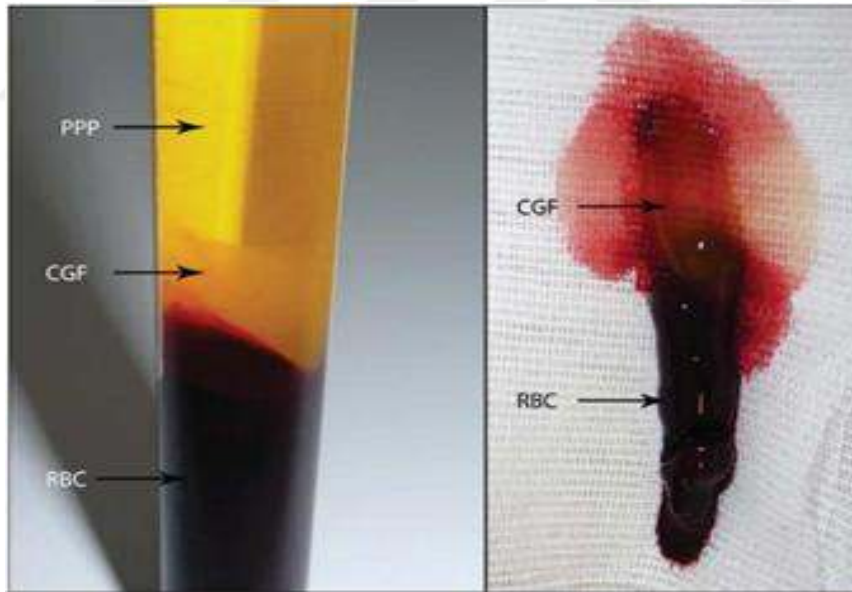
- 30 saniyelik hızlanma,
- 2 dakika boyunca 2.700 rpm,
- 4 dakika boyunca 2.400 rpm,

- 4 dakika boyunca 2.700 rpm,
- 3 dakika boyunca 3.000 rpm,
- 36 saniyelik yavaşlama ve durma. ^{59,61}

Santrifüj işlemi tamamlandığında, kan örneği dört farklı tabakaya ayrılmaktadır:

1. **Üst tabaka:** Trombosit fakir plazma (TFP),
2. **İkinci tabaka:** Buffy coat,
3. **Üçüncü tabaka:** Büyüme faktörlerini içeren CGF tabakası,
4. **Alt tabaka:** Kırmızı kan hücreleri (KKH) tabakası. ⁵⁰

CGF, TZF ile benzer bir fibrin matrisi yapısı göstermektedir. Ancak CGF'nin büyüme faktörlerinin daha uzun süre stabil kaldığı ve bu faktörlerin daha yavaş salınım gösterdiği düşünülmektedir. Bu özellik, CGF'nin biyolojik süreçlerde daha uzun süreli etki sağlayabileceğini göstermektedir. ⁶²



Şekil 5. Konsantre büyüme faktörü⁵⁹

2.1.6. İleri Trombositten Zengin Fibrin

2014 yılında Ghanaati ve arkadaşlarının çalışması, İleri Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF) yönteminin geliştirilmesine öncülük etmiştir. Yüksek santrifüj hızlarının hücreleri tüpün dibine ittiği bilinmektedir. Bu nedenle, santrifüj hızını düşürmenin hücre kaybını önleyebileceği ve TZF matrisinde lökosit miktarını artırabileceği öne sürülmüştür. ^{22,63}

A-TZF'nin elde edilmesinde 14 dakikalık santrifüjleme süresi ve 1.300 rpm'lik düşük hız kullanılmaktadır. Bu yöntemle, TZF'ye kıyasla trombositler, nötrofiller ve lenfositler dahil olmak üzere daha fazla hücre elde edilmektedir.⁶³

A-TZF'nin, IGF, PDGF ve VEGF gibi büyüme faktörlerini TZF'ye göre daha yüksek konsantrasyonlarda saldığı tespit edilmiştir. Ayrıca bu büyüme faktörleri, A-TZF uygulamasından sonra 14 gün boyunca salınım göstermeye devam etmektedir.^{64,65}

2.1.7. Geliştirilmiş + Trombositten Zengin Fibrin (A-TZF+)

2016 yılında Kobayashi ve çalışma arkadaşları tarafından, A-TZF'nin modifiye edilmiş bir versiyonu olan A-TZF+ tanıtılmıştır. A-TZF+ elde etmek amacıyla, kan örnekleri 8 dakika süreyle ve 1.300 rpm hızında santrifüj edilmektedir. Daha kısa bir santrifüj süresinin, kan hücrelerinin maruz kaldığı kuvveti azaltarak TZF matrisinde yer alan hücre sayısını artırabileceğı öne sürülmüştür.⁶⁵

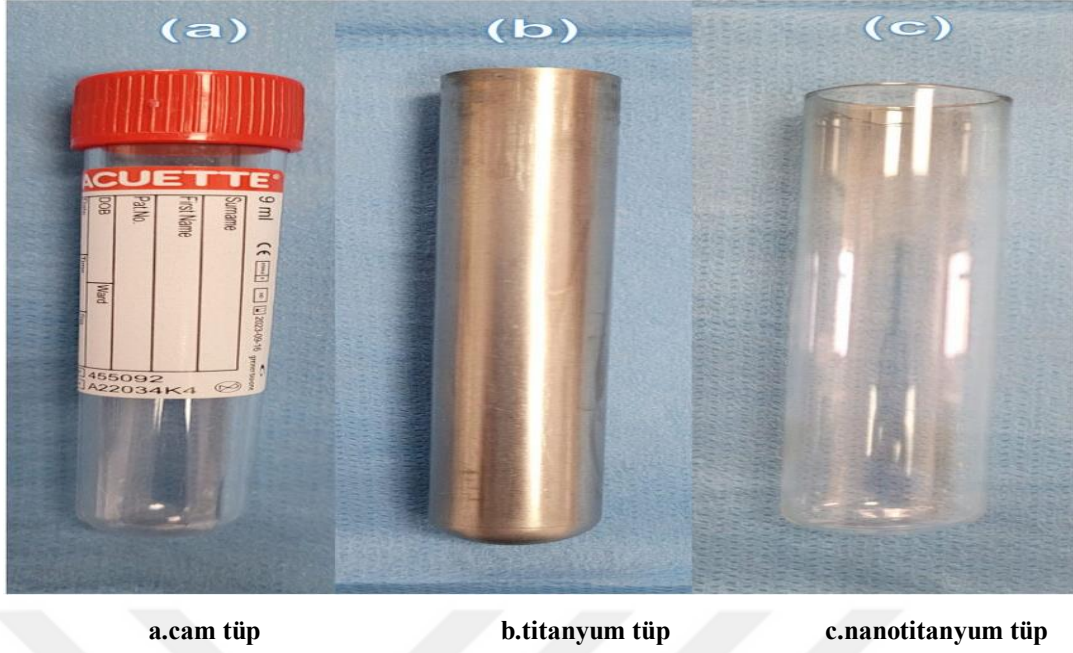
A-TZF+ ile üretilen fibrin matrisinin, TZF'ye kıyasla daha gözenekli bir yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Bu gözenekli yapı, trombositler ve bağışıklık hücreleri için daha fazla yer sağlamakta, böylece büyüme faktörlerinin salınımını artırmaktadır. A-TZF+'nın bu yapısal özellikleri, biyolojik süreçlerde daha etkili bir rol oynayabileceğini göstermektedir.⁶⁶

2.1.8. Titanyumla Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF)

Titanyum ile Hazırlanmış Trombositten Zengin Fibrin (T-TZF), ilk olarak 2013 yılında Tunalı ve çalışma arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. T-TZF, antikoagülan içermeyen 10 ml'lik titanyum tüplere alınan kanın 2800 rpm hızında ve 12 dakika süresince santrifüjlenmesiyle elde edilmektedir.⁶⁷

T-TZF konsepti, geleneksel TZF'nin üretiminde kullanılan cam tüplerden kaynaklanan silika parçacıklarının kontaminasyon riskine yönelik endişelerden doğmuştur.⁶⁷

T-TZF'nin fibrin ağının, daha sağlam bir yapıya ve daha uzun in vivo çözünürlük süresine sahip olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, daha kalın ve sıkı bir fibrin matrisi oluşumu gözlemlenmiş; bu durumun, fibrinin daha yüksek düzeyde polimerize olmasına yol açtığı düşünülmektedir. Bu özellikler, T-TZF'nin dokuda daha uzun süre kalmasını sağlayarak biyolojik süreçlerde etkinliğini artırmaktadır.⁶⁷



Şekil 6. TZF tüpleri⁶⁸

2.1.9. Enjekte Edilebilir Trombositten Zengin Fibrin (İ-TZF)

Trombositten Zengin Fibrin (TZF), yalnızca jel formunda elde edilmesi nedeniyle, Trombositten Zengin Plazma (TZP) ile karşılaştırıldığında önemli bir dezavantaja sahiptir. Bu sınırlamayı ortadan kaldırmak amacıyla, Muraio ve çalışma arkadaşları 2015 yılında Enjekte Edilebilir Lökosit ve Trombositten Zengin Fibrin (Injectable Leukocyte and Platelet Rich Fibrin, i-TZF) kavramını tanımlamışlardır. ^{69,70}

İ-TZF üretimi için, antikoagülan içermeyen ve kaplamasız plastik tüplere alınan kan, 3-4 dakika boyunca 700-800 rpm hızında santrifüjlenmektedir. Bu protokole kullanılan plastik tüpler, hidrofobik yüzeyleri sayesinde pıhtılaşma sürecini etkin bir şekilde aktive etmemekte, böylece santrifüj işleminin ilk birkaç dakikasında kan bileşenlerinin ayrışmasını sağlamaktadır. İşlemin sonunda tüpün üst kısmında elde edilen sarı tabaka (plazma, pıhtılaşma faktörleri ve trombositler) kolayca aspire edilerek enjekte edilebilir bir form haline getirilmektedir. ^{70,71}

İ-TZF, yüz derisine veya kafa derisine enjekte edilebilmekte ve bir pıhtıya dönüşmeden önce yaklaşık 10-15 dakika sıvı formda kalmaktadır. Bu özellik, i-TZF'nin tek başına ya da partiküler kemik greftleri gibi biyomalzemelerle kombinasyon halinde kullanılmasını mümkün kılmaktadır. Bu kombinasyon, biyolojik süreçlerde uygulama esnekliği ve etkinlik sağlamaktadır. ^{72,73}

2.2. Trombosit Konsantrelerinin Kullanım Alanları

Trombosit konsantrelerinden elde edilen fibrin yapıştırıcılar, kardiyovasküler, oftalmik, ortopedik, gastrointestinal ve beyin cerrahisi gibi birçok alanda yaygın olarak kullanılmaktadır.²⁴ TZF ve TZP ise ortopedi, kozmetik, plastik, maksillofasiyal ve kardiyovasküler cerrahilerde başarıyla uygulanmaktadır.⁷⁴

Diş Hekimliğinde Kullanımı

Trombosit konsantreleri, diş hekimliğinde implant cerrahisi, çekim soketi koruma, sert doku greftleme, sinüs augmentasyonu, oroantral ilişkilerin tedavisi, alveolar yarık damak onarımı, endodontik tedaviler, periodontal kemik içi defektlerin tedavisi ve mukogingival cerrahi işlemler gibi çeşitli prosedürlerde kullanılmaktadır. Dental implant uygulamalarındaki gelişmelerle birlikte rekonstrüktif cerrahilerde TZF'nin kullanımı artmıştır.^{17,58,75-77}

TZF, çekim sonrası kemik rezorpsiyonunu azaltmada önemli bir rol oynamaktadır. Sitokinler ve büyüme faktörleri salarak yara iyileşmesini hızlandırabilir ve kret korunmasını destekler.⁷⁵ TZF ile doldurulan soketlere yerleştirilen implantlar daha stabil olup daha az rezorpsiyon göstermektedir.⁷⁸ Ayrıca, üçüncü molar çekimlerinde TZF'nin alveoler osteit ve postoperatif ağrı insidansını azalttığı gösterilmiştir.⁷⁹

TZF, alveolar kret augmentasyonlarında ve sinüs augmentasyonlarında greft partikülleriyle (özellikle İ-TZF) birlikte kullanılabilir. Sohn tarafından tanımlanan "sticky bone" (yapışkan kemik grefti), i-TZF ve partiküler greft kombinasyonundan oluşur ve kemik greftinin kolayca işlenmesini sağlar. Bu teknik, rejeneratif potansiyeli artırmaktadır.^{80,81}

TZF ve diğer otolog kan ürünleri, Yönlendirilmiş Kemik Rejenerasyonu (YKR) gibi prosedürlerde biyolojik membran olarak kullanılmaktadır. Bu membranlar, epitel hücrelerinin greftlere invazyonunu önler ve greft başarısını artırır.⁸²

TZF, çene kistlerinin enükleasyonundan sonra büyük kemik defektlerinin rekonstrüksiyonunda kullanılabilir. Dondurularak Kurutulmuş Kemik Allogrefti (DKKA) ile kullanıldığında, TZF kemik rejenerasyonunu hızlandırmakta ve greft başarısını artırmaktadır.^{48,83}

TZF, Schneiderian membran perforasyonlarını önlemek ve iyileşme sırasında enfeksiyon riskini azaltmak için ara katman olarak kullanılabilir. Ayrıca lateral pencereye uygulanarak yumuşak doku revaskülarizasyonunu destekler ve perforasyonları onarabilir.^{44,56} Posterior maksiller bölgede diş çekiminden sonra oluşan oral-antral ilişkiler, TZF'nin tek başına veya flep teknikleriyle birlikte kullanımıyla başarılı şekilde tedavi edilebilmektedir.⁸⁴

TZF'nin anjiyojenik özellikleri, osteonekroz tedavisinde yeni damar oluşumunu ve revaskülarizasyonu destekleyerek başarılı bir tedavi aracı olmasını sağlamaktadır. ⁷⁸

İ-TZF, ağırlı TME bozukluklarının tedavisinde ağrıyı ve işlev bozukluğunu azaltmıştır. ⁸⁵ Ayrıca eroziv liken planus tedavisinde olumlu etkiler göstermiştir. ⁸⁶

TZF, periodontal kemik içi defektlerin tedavisinde sondalama derinliğinin azalması, periodontal ataşman seviyesinde artış ve radyografik kemik yoğunluğunun artması gibi olumlu sonuçlar sağlamıştır. ^{87,88}

TZF membranlarının, platal donör bölgelerde iyileşmeyi hızlandırdığı ve bu bölgelerde postoperatif komplikasyonları azalttığı tespit edilmiştir. ⁷⁶

2.3. Trombositlerin Yapısı ve İçeriğindeki Büyüme Faktörleri

Trombositler, vasküler bütünlüğün sağlanmasında ve hemostazın düzenlenmesinde kritik bir rol oynayan çekirdeksiz, diskoid şekilli hücre parçalarıdır. Yaklaşık 2-3 µm çapında olan trombositler, kemik iliğinde megakaryositlerden üretilir. Trombositlerin içinde çeşitli granüller, mitokondriler, yüzeyle ilişkili kanaliküler sistem ve yoğun tübüler sistem bulunmaktadır. Hücre zarları, kollajen ve trombin gibi moleküller için reseptörler barındıran fosfolipid çift tabakasıyla çevrilidir. ^{51,52,89}

Normalde kandaki trombosit konsantrasyonu 150.000 ila 300.000 mm³ arasında değişmektedir. Ortalama ömrü 8 ila 10 gün olan trombositler, aktivasyon sırasında birçok biyolojik aktif granül salgılar. Özellikle α-granüller, trombosit özgü (örneğin, β-tromboglobulin) ve trombosit özgü olmayan (örneğin, fibronektin, fibrinojen, trombospondin, pıhtılaşma faktörleri ve büyüme faktörleri) proteinleri içeren, hücre içi protein depolarıdır. Ayrıca, yoğun granüller kalsiyum ve serotonin gibi maddeler içerirken, lizozomal granüller asit hidrolazlar ve diğer parçalayıcı enzimleri barındırır. ^{11,51,90,91}

Trombositler, trombin gibi bir uyarı ile aktive olduğunda, granül içeriğini salan ve psödopod oluşumunu destekleyen bir süreç başlatır. Bu süreçte α-granüller, trombosit zarına entegre olarak biyoaktif proteinlerin salgılanmasını sağlar. Salgılanan bu proteinler, hedef hücrelerin transmembran reseptörlerine bağlanarak hücre içi sinyal yollarını aktive eder. Bu sinyal yolları, hücresel proliferasyonu, kollajen sentezini ve osteoid üretimini tetikleyen gen ekspresyonlarını düzenler. ⁹²⁻⁹⁵

Trombositlerin α-granülleri, büyüme faktörlerinin temel kaynağıdır. Bu granüller; trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve dönüştürücü

büyüme faktörü- β 1 (TGF- β 1) gibi faktörleri içermektedir. Bu büyüme faktörleri, trombin, CaCl, kollajen veya adenoazin 5c-difosfat gibi uyaranlarla aktive olan trombositlerden salınır. ²³

2.3.1. Fibroblast Büyüme Faktörü (FGF)

FGF'ler, fibroblastlar üzerinde mitojenik etkiler gösteren bir grup heparin bağlayıcı polipeptittir. ⁹⁶ FGF ailesi 23 üyeden oluşur; bunlar arasında kutanöz yara iyileşmesinde en önemli olanları FGF-2, FGF-7 ve FGF-10'dur. FGF'ler keratinositler, fibroblastlar, endotel hücreleri, düz kas hücreleri ve kondrositler tarafından üretilir. FGF, mezenkimal hücreler, kondrositler ve osteoblastlar için güçlü bir mitojendir. Ayrıca bu hücrelerin büyümesini ve farklılaşmasını destekler ve VEGF ile birlikte anjiyogenez sürecine katılır. ^{97,98}

2.3.2. Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü (PDGF)

PDGF, yaralanma bölgesinde erken dönemde salınan önemli bir büyüme faktörüdür. İki alt birimden (A ve B) oluşan PDGF, AA, BB ve AB olmak üzere üç farklı izoformda bulunur. PDGF, trombositlerin α -granüllerinin yanı sıra monositler, makrofajlar ve fibroblastlar tarafından üretilir. PDGF, yara iyileşmesinin her aşamasında rol oynar. Yaralanma sonrası nötrofillerin, makrofajların ve fibroblastların bölgeye kemotaksisini ve proliferasyonunu uyarır. Ayrıca kollajen sentezini ve hücre dışı matrisin yeniden şekillenmesini destekler. TZF, içerdiği yüksek PDGF konsantrasyonu sayesinde kemik rejenerasyonu ve yara iyileşmesini hızlandırabilir. ⁹⁹⁻¹⁰⁵

2.3.3. Transforme Büyüme Faktörü (TGF- β)

TGF- β , çok işlevli bir sitokindir ve TGF- β süper ailesinin bir üyesidir. Bu aile, TGF- β 1, TGF- β 2 ve TGF- β 3 olmak üzere üç izoform içerir; bunlar arasında TGF- β 1 en yaygın olanıdır. TGF- β 1, yaralanma sonrası trombositlerden salınır. Kollajen üretimini artırır, kollajenin parçalanmasını önler ve bağ dokusunun rejenerasyonunu destekler. TGF- β 1 ayrıca inflamatuvar hücrelerin toplanmasını kolaylaştırır, makrofaj aracılı doku debridmanını artırır ve yara alanını granülasyon dokusu oluşumu için hazırlar. TGF- β 1'in osteoblast proliferasyonunu uyarma ve osteoklast oluşumunu inhibe etme özelliği, kemik oluşumunda önemli bir rol oynamaktadır. ^{51,97,106-110}

2.3.4. Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF)

VEGF, doku yaralanması sonrası trombositler ve makrofajlar tarafından salınan anahtar bir büyüme faktörüdür. VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D ve plasenta büyüme

faktöründen oluşan VEGF ailesi, anjiyogenez sürecinde temel düzenleyici rol oynar. VEGF, endotel hücre proliferasyonunu ve kemotaksisini destekleyerek yara iyileşmesine katkıda bulunur. Hipoksi, VEGF ekspresyonunu artırarak doku perfüzyonunu ve oksijenlenmeyi sağlar. ^{37,41,97,111}

2.3.5. İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü (IGF-1)

IGF-1, kan dolaşımında yoğun olarak bulunan bir polipeptit hormonudur ve trombosit aktivasyonu sırasında salınır. IGF-1, mezenkimal hücrelerin farklılaşmasını ve mitogenezi desteklerken, osteoblastların kemotaksisini ve aktivasyonunu da teşvik eder. Böylece, kemik oluşumunu artırarak iyileşme süreçlerine katkı sağlar. ^{51,99,104}

2.4. İnflamasyonun Temel Mediatorleri: IL-1 β ve TNF- α

İnterlökin-1 beta (IL-1 β), başlıca monosit ve makrofajlar tarafından üretilen, güçlü proinflatuar özelliklere sahip bir sitokindir. ^{112,113} Enfeksiyon, doku hasarı veya tehlike sinyalleriyle tetiklenerek aktivasyonu sonucunda, inaktif öncül formu (pro-IL-1 β) kaspaz-1 aracılığıyla kesilerek aktif hâle gelir. ¹¹⁴ IL-1 β , IL-1R1 reseptörüne bağlanarak MyD88 adaptör proteini üzerinden NF- κ B ve MAPK sinyal yollarını aktive eder; bu süreç adezyon molekülleri, kemokinler ve ek sitokinlerin ekspresyonunu artırarak inflamatuvar yanıtı güçlendirir. ^{112,115} Biyolojik etkileri arasında endotelial aktivasyon, lökosit göçü, ateş, akut faz yanıtı, fibroblast proliferasyonu, anjiyogenez ve osteoklast aktivasyonu bulunur. ^{113,116} Aşırı üretimi, kronik inflamasyon ve çeşitli inflamatuvar hastalıklarla ilişkilidir; bu nedenle IL-1 reseptör antagonisti ve monoklonal antikorlar gibi hedefe yönelik tedaviler geliştirilmiştir. ^{112,117,118} Trombositten zengin fibrin uygulamalarında IL-1 β , lokal mikro çevrede hücrel infiltrasyonu, damar oluşumunu ve matriks yeniden yapılanmasını düzenleyerek yara iyileşmesinin seyri üzerinde önemli rol oynar. ^{113,116}

Tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), başlıca aktive olmuş makrofajlar tarafından sentezlenen, ancak T lenfositler, doğal öldürücü hücreler ve çeşitli stromal hücreler tarafından da üretilen güçlü bir proinflatuar sitokindir. ^{119,120} İlk olarak transmembran bir protein olarak sentezlenir ve ardından TNF- α dönüştürücü enzim (TACE) aracılığıyla çözünür forma dönüştürülür. ¹²¹ TNF- α , biyolojik etkilerini iki farklı reseptör üzerinden gösterir: TNFR1 (p55) ve TNFR2 (p75). TNFR1, hemen tüm hücrelerde eksprese edilir ve NF- κ B, MAPK ile apoptoz sinyal yollarını aktive ederken; TNFR2 daha çok immün hücrelerde bulunur ve hücre proliferasyonu, aktivasyonu ve hayatta kalma süreçlerinde rol oynar. ^{119,122} TNF- α , inflamasyonun erken fazında adezyon moleküllerinin ekspresyonunu artırır, lökosit göçünü

kolaylaştırır, sitokin ve kemokin üretimini uyarır, anjiyogenez ve doku yeniden şekillenmesinde görev alır.^{120,123} Aşırı veya kontrolsüz TNF- α üretimi, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve psoriasis gibi kronik inflamatuvar hastalıklarla ilişkilidir; bu nedenle anti-TNF tedaviler (infliksimab, adalimumab vb.) klinikte yaygın olarak kullanılmaktadır.^{119,124} Trombositten zengin fibrin uygulamalarında TNF- α , yara bölgesinde inflamatuvar hücre infiltrasyonunu, vasküler yanıtı ve matriks yıkımı/yeniden yapılanma dengesini düzenleyerek iyileşme sürecinin seyrini etkiler.^{120,123}

2.5. Trombositten Zengin Fibrinin Histolojik Yapısı ve Biyolojik Etkileri

Kan, organizmada oksijen, besin maddeleri, hormonlar ve metabolik atıkların taşınmasından sorumlu olan, hücreler ve plazma bileşenlerinden oluşan sıvı bir bağ dokusudur. Aynı zamanda homeostazın korunmasında temel bir rol üstlenmektedir. Kanın bileşenleri, plazma (%55), kırmızı kan hücreleri (eritrositler, %45), trombositler ve beyaz kan hücrelerinden (lökositler, %1'den az) oluşmaktadır.¹²⁵ Trombositler, kemik iliğinde bulunan megakaryositlerden türeyen, diskoid morfolojiye sahip ve ortalama yaşam süresi 8-12 gün olan hücrelerdir. Bu hücreler, hemostazın sağlanması, inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesi, konak savunma mekanizmalarının desteklenmesi ve hücresel rejenerasyonun teşvik edilmesi gibi kritik işlevlere sahiptir.¹²⁶

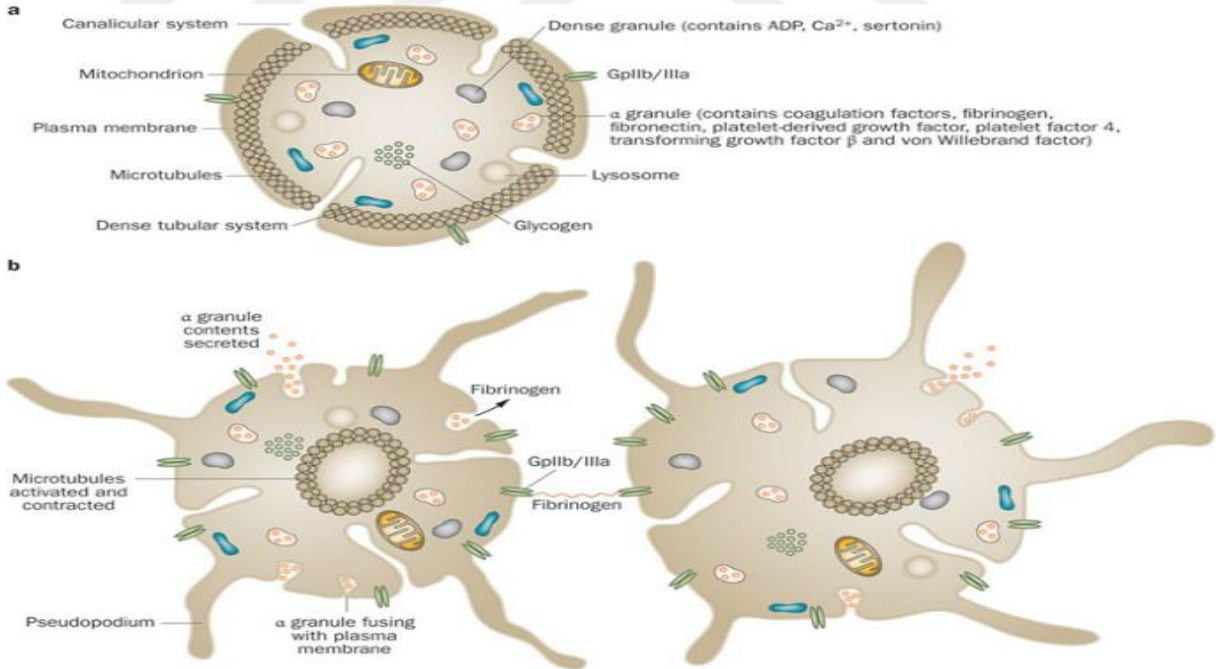
Trombositler, fizyolojik etkilerini çapları 200-500 nm arasında değişen granüllerinden salgılanan biyomoleküller aracılığıyla göstermektedir. Bu granüllerin salınımı, trombositlerin aktivasyonu sonucunda gerçekleşmektedir. Aktivasyon süreci, kolajen, trombin, tromboksan A2 ve adenosin difosfat (ADP) gibi trombosit aktivatörlerinin etkisiyle başlamaktadır. Bu süreç, trombositlerin hasarlı endotele yapışması, granül içeriğinin salınması ve trombosit agregasyonu olmak üzere üç temel aşamada meydana gelen aktivasyon mekanizmasını tetiklemektedir.¹²⁶

Kan damarı yaralandığında, trombositler kolajen gibi aktivatör moleküller tarafından uyarılmakta ve hasarlı bölgeye yapışarak granül içeriklerini salgılamaktadır. Bu granül salınımı, trombosit agregasyonunu indükleyerek beyaz trombosit pıhtısının oluşumuna zemin hazırlamaktadır. Eş zamanlı olarak, damar hasarı pıhtılaşma sürecini tetiklemekte ve bu süreç fibrinojenin fibrine dönüşmesiyle sonuçlanmaktadır. Oluşan fibrin lifleri, trombozun gerçekleşmesini sağlayarak hemostaz mekanizmasını tamamlamaktadır.¹²⁶⁻¹²⁸

Trombositlerin sitoplazmasında üç farklı granül tipi bulunmaktadır:

- **Alfa granüller:** Hemostaz, koagülasyon ve endotel hücre onarımı süreçleri için gerekli olan fibrinojen, laminin, von Willebrand faktörü, trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), transforme edici büyüme faktörü- α (TGF- α) ve transforme edici büyüme faktörü- β (TGF- β) gibi proteinleri taşımaktadır.^{91,129}
- **Yoğun granüller:** Serotonin, adenosin difosfat (ADP), eikosanoitler, tromboksan A2 (TXA2), kalsiyum ve fosfat gibi vasküler tonusu düzenleyen molekülleri içermektedir.¹²⁹
- **Lizozomal granüller:** Asit hidrolazlar, katepsinler ve elastaz gibi çeşitli enzimleri barındırmaktadır.¹³⁰

Bu granüller arasında en bol bulunan alfa granüller, rejenerasyon ve yara iyileşme süreçlerinde önemli bir rol oynamaktadır. Alfa granüller; yapışkan proteinler, büyüme faktörleri ve pıhtı oluşumuna katkıda bulunan faktörler içermektedir. Alfa granüllerin içerdiği büyüme faktörleri arasında vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF), trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), fibroblast büyüme faktörü (FGF), epidermal büyüme faktörü (EGF), hepatosit büyüme faktörü (HGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü (IGF) yer almaktadır.^{127,128,131}



Şekil 7.. Aktif (a) ve inaktif (b) trombosit yapısı¹³²

2.5.1. TZF'deki Büyüme Faktörlerinin Biyolojik Etkileri

- **PDGF (Platelet Derived Growth Factor):** Osteoblastların göçü ve proliferasyonunu destekleyerek, kolajen sentezinin ve kemik matriks oluşumunun artışına katkıda bulunmaktadır.¹³³
- **TGF- β (Transforming Growth Factor- β):** Anjiyojenik etkisiyle osteoblastların kemotaksisini artırırken, aynı zamanda osteoklast oluşumunu inhibe etmektedir.¹³⁴
- **VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor):** Anjiyogenezi başlatan bir faktör olup, endotel hücre proliferasyonunun düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır.¹³⁵
- **IGF (Insulin-like Growth Factor):** Hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını teşvik eden IGF, kemik matriksinde depo edilmekte ve kemik rezorpsiyonu sırasında aktive olarak kemik yapımının artmasını sağlamaktadır.¹³⁶
- **FGF (Fibroblast Growth Factor):** Osteoblastların gelişimi, büyümesi ve onarım süreçlerinde kritik bir işlev üstlenmekte; ayrıca hücre proliferasyonu ve farklılaşmasını desteklemektedir.¹³⁷

Trombositler, yalnızca hemostazın sağlanmasında değil, aynı zamanda antimikrobiyal savunma mekanizmalarının etkinleştirilmesi ve doku onarım süreçlerinde de önemli bir rol oynamaktadır. Vasküler travma veya enfeksiyon gibi uyarıcılara hızla yanıt veren trombositler, hasarlı dokuların bulunduğu bölgelere birikerek patojenlerin kan dolaşımından uzaklaştırılmasını sağlamaktadır. Ayrıca, mikrobiyal patojenlere karşı antikora bağımlı hücresel sitotoksositeye katılarak immün savunma sistemine katkıda bulunmaktadır.⁹¹

Doku onarımı ve rejenerasyon süreçlerinde trombositler, yaralanma sonrasında kolajen ile temas ettiklerinde aktif hale gelerek tromboplastin üretimini başlatmaktadır. Bu süreç, fibrinojenin fibrin ağına dönüşümünü tetikleyerek ilk tıkaçın oluşumunu sağlamaktadır. Ayrıca trombositler, PDGF, TGF- β , VEGF, IGF ve FGF gibi büyüme faktörlerini salgılayarak yumuşak ve sert dokuların rejenerasyonunu desteklemekte ve iyileşme sürecini hızlandırmaktadır.¹³⁸ Trombositlerin genel etkileri değerlendirildiğinde, koagülasyon, inflamasyon, antimikrobiyal savunma, anjiyogenez ve yara iyileşmesi gibi biyolojik süreçlerde kritik roller üstlendikleri görülmektedir.^{10,63,139}

2.5.2. TZF'nin Yara İyileşme Mekanizması Üzerine Biyolojik Etkileri

Trombositten zengin fibrin (TZF), otolog büyüme faktörlerini yüksek konsantrasyonlarda doğrudan hedef dokulara iletmek amacıyla diş hekimliği, rekonstrüktif cerrahi, plastik cerrahi ve dermatoloji gibi çeşitli tıp disiplinlerinde rejeneratif tedavilerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu büyüme faktörlerinin; monositler, fibroblastlar, endotelial hücreler ve kök hücreler gibi çeşitli hücre tipleri üzerinde kemotaktik etki gösterdiği, doku mikro çevresini düzenlediği ve progenitör hücrelerin çoğalması ile farklılaşmasını doğrudan etkilediği bilimsel olarak kanıtlanmıştır. Ayrıca trombosit konsantrelerinin, doku iyileşmesini hızlandırmak ve yaralanma sonrası doku onarımını optimize etmek için güvenli, etkili ve ekonomik bir yöntem olduğu belirtilmektedir.¹⁴⁰

TZF'nin iyileştirici kapasitesinde lökositler ve trombositlerden salınan sitokinlerin önemli bir rol oynadığı ifade edilse de, bu elemanların etkilerini destekleyen fibrin matriksinin asıl terapötik etkinlikten sorumlu olduğu öne sürülmektedir. Doku rejenerasyonunun temel mekanizmaları; bu dokuların anjiyogenetik kapasitelerinde, bağışıklık sistemi üzerindeki düzenleyici etkilerinde, dolaşımdaki kök hücreleri çekme kabiliyetlerinde ve epitel dokuların yara kapanmasını sağlama yeteneklerinde yatmaktadır.¹⁴¹

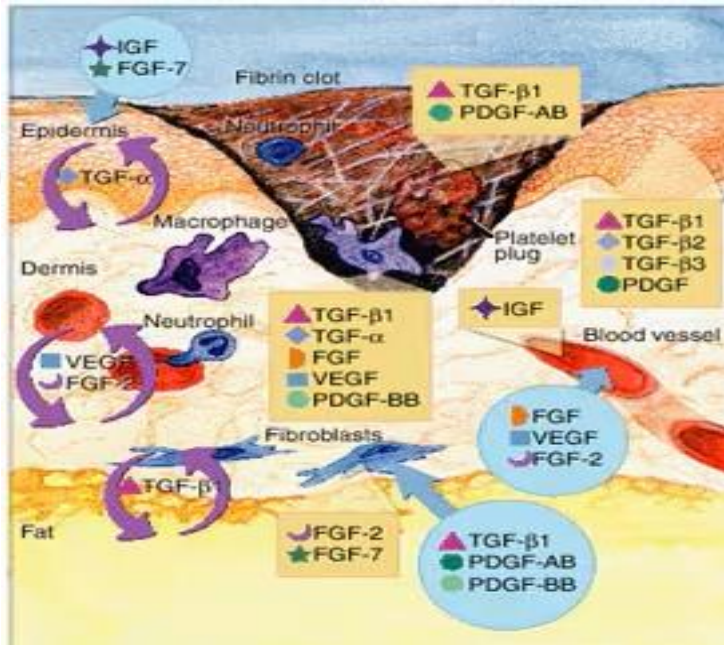
TZF'nin anjiyojenik özellikleri, fibrin matriksinin üç boyutlu yapısıyla ilişkilidir. Bu yapı, PDGF, TGF- β 1, IGF ve VEGF gibi çeşitli büyüme faktörleri ile sitokinleri aynı anda matriks içinde tutarak kontrollü ve uzun süreli salınımlarını sağlar. Bu sitokinlerin rejeneratif potansiyeli, doku yarası iyileşmesi ve yenilenmesi alanında kapsamlı şekilde araştırılmıştır.^{142,143} Ayrıca fibrin matriksi, hücrelerin fibrin, fibronektin ve vitronektin ile bağlanmasını sağlayan integrin α v β 3'ün ekspresyonunu uyarak anjiyogenezi başlatır ve doku iyileşmesini destekler.⁴⁴

Fibrin yıkım ürünlerinin nötrofillerin göçünü uyardığı ve nötrofillerin vasküler endotelium transmigrasyonunu kolaylaştırdığı bilinmektedir. Nötrofil aktivasyonu, proteaz salınımını tetikleyerek bazal membranın geçilmesini ve fibrin pıhtısının parçalanmasını sağlamaktadır. Fibrin pıhtısı içinde hapsolan nötrofiller, yara bölgesine giren bakteriler ve diğer patojenleri fagositoz, toksik serbest radikal üretimi ve enzimatik sindirim mekanizmaları ile ortadan kaldırarak cerrahi alan kontaminasyonunu önlemektedir. TZF ayrıca, osteogenez sırasında inflamasyon ve yara iyileşmesi arasındaki geçişi düzenleyerek onarım sürecine katkı sağlayan makrofajları içermektedir.^{43,44}

2008 yılında Lundquist ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan in vitro bir araştırmada, TZF'nin dermal fibroblast hücre davranışları üzerindeki etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada TZF'nin dermal fibroblastların proliferasyonunu, fibrin yapıştırıcıları ve

rekombinant PDGF-BB ile karşılaştırıldığında daha güçlü şekilde teşvik ettiği saptanmıştır. Ayrıca, TZF'nin kolajen I salınımını hızlandığı ve yara iyileşmesi için kritik olan endojen fibrinojenik faktörlerin proteolitik yıkıma karşı korunmasını sağladığı belirlenmiştir.¹⁴⁴

2012 yılında Clipet ve çalışma arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada ise TZF ile koşullandırılmış ortamda hücre canlılığı, proliferasyonu ve gen ekspresyonu analiz edilmiştir. Bu çalışmada TZF'den salınan büyüme faktörlerinin hücre canlılığını artırdığı, proliferasyonu teşvik ettiği ve hücrel farklılaşmayı indüklediği gözlemlenmiştir.¹⁴⁵



Şekil 8. Büyüme faktörleri ve yara iyileşmesi¹⁴⁶

2.5.3. Trombositten Zengin Fibrinin Taşıyıcı Sistem Olarak Kullanımı

Geleneksel ilaç uygulama yöntemleri, tedavi ve iyileşme süreçlerinde çeşitli kısıtlamalara sahip olup, bu durum alternatif yaklaşımların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. Özellikle oral yolla alınan farmasötik ajanların gastrointestinal sistemde karşılaştığı biyoyararlanım sorunları ve bu ilaçların sistemik toksisite riskleri, kontrollü ilaç salım sistemlerine olan ilgiyi artırmaktadır. Bu bağlamda, trombosit zengin fibrin (TZF) gibi biyolojik materyaller, hem lokal hem de sistemik tedavi yaklaşımlarında ilaç taşıyıcı sistem olarak değerlendirilmektedir.¹⁴⁷

TZF'nin otolog yapısı ve biyoyumlu özellikleri, çeşitli farmakolojik ajanların etkin bir şekilde salınmasını sağlayarak terapötik etkinliği artırabilmektedir. Bu nedenle, TZF'nin taşıyıcı sistem olarak kullanımı, tedavi edici ajanların biyoyararlanımını ve hedef dokuya spesifik iletimini optimize etme potansiyeline sahiptir. Örneğin, intravenöz veya oral yolla

uygulanan analjezikler, antineoplastik ajanlar, doku rejenerasyonunu destekleyen vitaminler ve diğer rejeneratif ajanlar TZF ile kombine edilerek uygulanabilmektedir. Bu tür kombinasyonlar, ilaçların belirlenen hedef bölgeye doğrudan ve kontrollü bir şekilde salınmasını sağlayarak tedavi süreçlerinin daha etkin ve güvenli bir şekilde yönetilmesine katkıda bulunabilmektedir.^{5,148}

Trombositten zengin fibrin (TZF) ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanıldığında, biyouyumluluk, biyobozunurluk, mekanik dayanıklılık ve şekil koruma gibi temel özellikler önemli bir rol oynamaktadır. Bu parametrelerin korunması, TZF'nin klinik etkinliğini ve güvenliğini sürdürebilmesi açısından kritik öneme sahiptir. Bu doğrultuda, TZF'nin ilaç taşıyıcı sistem olarak optimize edilmesi, terapötik etkinliğin artırılmasını ve sistemik toksisite riskinin azaltılmasını hedefleyen multidisipliner bir yaklaşımı gerektirmektedir.⁵

Literatürde, TZF'nin çeşitli antibakteriyel ajanlarla kombine edilerek enfeksiyon kontrolünde ve iyileşme sürecinin hızlandırılmasında önemli avantajlar sağladığı bildirilmiştir. Özellikle metronidazol, klindamisin, penisilin, vankomisin, teikoplanin, gentamisin ve amikasin gibi antibiyotiklerle birlikte kullanımının, TZF'nin bakteriyel yükü daha etkin bir şekilde elimine etmesini sağladığı ifade edilmektedir. Bu tür kombinasyonlar, enfeksiyon riskini azaltarak postoperatif komplikasyonların en aza indirilmesine katkıda bulunma potansiyeline sahiptir.^{149,150}

2.5.3.1. TZF ve Antibiyotik Kombinasyonu

Trombositten zengin fibrin (TZF), doğal iyileşme sürecini desteklemenin yanı sıra, ilaç taşıyıcı sistem olarak da kullanılabilir. Bu sayede antibiyotikler hedef bölgeye daha etkin bir şekilde ulaşabilir ve sistemik toksisite riski azaltılabilir. Literatürde, TZF'nin çeşitli antibiyotiklerle kombinasyon halinde kullanıldığı çalışmalar, bu yöntemin antibakteriyel etkinliği artırabileceğini göstermektedir.^{149,150}

Örneğin, bir çalışmada TZF, amikasin, teikoplanin ve poliheksanid ile kombine edilerek antibakteriyel etkinliği incelenmiştir. Sonuçlara göre, amikasinin 120 saat, teikoplaninin 168 saat boyunca etkili olduğu, poliheksanidin ise yalnızca 24 saat süreyle antimikrobiyal aktivite sağladığı tespit edilmiştir.¹⁵⁰ Benzer şekilde, klindamisin içeren TZF'nin 4 güne kadar antibakteriyel etki gösterdiği, ampul tipi linkomisinine ise daha yüksek antibakteriyel aktivite sağladığı belirlenmiştir.^{151,152}

Bir diğer çalışmada, İ-TZF'nin metronidazol, siprofloksasin ve minosiklin ile kombinasyonu incelenmiş ve bu ilaçların 28 gün boyunca salınım gösterdiği, ancak en yüksek salınımın ilk 24 saatte gerçekleştiği saptanmıştır. Ancak, yüksek konsantrasyonda antibiyotik

içeren i-TZF'nin ilk 24 saat içinde toksik seviyelerde ilaç salınımına neden olabileceği ve bu durumun kontrollü ilaç salınımını zorlaştırabileceği belirtilmiştir. Çalışma, ayrıca üç antibiyotığın eşzamanlı salınımının 14 gün boyunca devam ettiğini ve sonrasında yalnızca metronidazol ve minosiklinin salınımının sürdüğünü ortaya koymuştur.¹⁵³

TZF'nin antibiyotik taşıyıcılığı konusundaki bir diğer araştırmada, titanyum tüpler içinde santrifüj edilen T-TZF yapısına doksisisiklin eklenmiş ve uzun süreli antibakteriyel etkinlik sağladığı gösterilmiştir. Bu bulgular, TZF'nin belirli ilaçların kontrollü bir şekilde salınmasını sağlayarak daha etkili tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir.¹⁵⁴ Ayrıca, antibiyotiklerin TZF'ye eklenme yöntemi de etkinliği üzerinde önemli bir etkiye sahiptir.¹⁵⁴

Bir çalışmada, antibiyotığın TZF üretildikten sonra eklenmesiyle daha yüksek antimikrobiyal etkinlik sağlandığı, ilacın oral yolla alındığı grupta ise etkinliğin daha düşük olduğu bulunmuştur. Yapılan pilot çalışmada, TZF'nin yapısını koruyacak en düşük antibiyotik dozunun belirlenmesi amaçlanmış ve 10 ml kan için 0,2 ml penisilin eklenmesinin ideal olduğu saptanmıştır.¹⁵⁵

Bu bulgular, TZF'nin yara iyileşmesini hızlandırma ve enfeksiyon kontrolünü sağlama açısından önemli bir potansiyel sunduğunu göstermektedir. Ancak, bu potansiyelin en iyi şekilde değerlendirilmesi için uygun doz ve uygulama yöntemlerinin optimize edilmesi gerekmektedir.^{155,156}

2.5.3.2. TZF ve Hyalüronik Asit Kombinasyonu

Hyalüronik asidin yumuşak dokulardaki iyileştirici özellikleri ile trombosit zengin fibrinin (TZF) rejeneratif ve iskelet görevini birleştirmeyi amaçlayan bir çalışmada, bileşik hyalüronik asit (CHA) ve H-TZF kombinasyonunun doku yenilenmesi üzerindeki etkileri araştırılmıştır. H-TZF elde edildikten sonra, hyalüronik asit ile 1:1 oranında karıştırılarak CHA-TZF jeli oluşturulmuştur. Elde edilen kombinasyonun hücre proliferasyonunu artırdığı, kolajen sentezini teşvik ettiği ve hücre göçünü hızlandırdığı belirlenmiştir. Ayrıca, inflamasyonu azalttığı ve anjiyogenezi desteklediği görülmüştür.¹⁵⁷

Diyabetik ayak ülseri tedavisinde de HA+TZF kombinasyonunun doku yenilenmesini teşvik etmek amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir. Bu kapsamda, TZF santrifüj işlemiyle elde edildikten sonra homojen bir şekilde hyalüronik asit ile karıştırılarak HA+TZF hazırlanmıştır. Çalışma bulgularına göre, bu kombinasyon inflamasyonu azalttığı, büyüme faktörlerinin salınımını artırdığı ve hücre proliferasyonu ile migrasyonunu teşvik ederek yara iyileşmesini hızlandırdığı tespit edilmiştir.¹⁵⁸

Elde edilen veriler, TZF ve hyalüronik asit kombinasyonunun klinik uygulamalar açısından potansiyel taşıdığını göstermektedir. Bu yaklaşım, yumuşak doku rejenerasyonunu destekleyen yeni ve etkili bir tedavi yöntemi sunmakta olup, periodontal ve peri-implant yumuşak doku yenilenmesi alanında da gelecek vadede bir seçenek olarak değerlendirilmektedir.^{157,158}

2.5.3.3. TZF ve Steroid Olmayan Anti-İnflamatuvar İlaçların Kombinasyonu

Bir çalışmada, TZF'nin saf hali ile diklofenak eklenmiş TZF yapısı, çeşitli klinik parametreler (postoperatif ağrı, ödem, yumuşak doku iyileşmesi ve enfeksiyon riski) açısından karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular, diklofenak içeren TZF kombinasyonunun bu parametrelerde iyileşme sağladığını ve bu yöntemin yara iyileşme sürecini hızlandırarak kemik rejenerasyonunu destekleyebileceğini göstermiştir. Bu sonuçlar, TZF'nin kontrollü ilaç salınımında etkili bir biyomateryal olarak kullanılabileceğini ve klinik uygulamalarda fayda sağlayabileceğini ortaya koymaktadır.¹⁵⁹

2.5.3.4. TZF ve Bifosfonatların Kombinasyonu

Bifosfonatlar, osteoporoz ve kemik metabolizması bozukluklarında kullanılan ilaçlardır.¹⁶⁰ Periodontitis ise kemik kaybına yol açabilen inflamatuvar bir hastalıktır.¹⁶¹ Son araştırmalar, trombositten zengin fibrin (TZF) ile bifosfonatların birlikte kullanımının kemik defektlerinin tedavisinde etkili olabileceğini göstermektedir.¹⁶²

Bir çalışmada, TZF alendronat ile eşit oranlarda (1:1) karıştırılarak TZF+%1 alendronat jeli oluşturulmuştur. Bu kombinasyonun, yalnızca TZF kullanımına kıyasla kemik yenilenmesini daha fazla desteklediği belirlenmiştir. TZF'nin alendronat gibi bifosfonatlarla birlikte kullanıldığında kemik iyileşmesini hızlandırabileceği ve periodontal tedavilerde daha etkili sonuçlar sağlayabileceği gösterilmiştir.¹⁶³

Başka bir çalışmada, TZF+%1 alendronat kombinasyonunun kronik periodontitis nedeniyle oluşan kemik kaybının tedavisinde olumlu etkiler sağladığı gözlemlenmiştir. Her iki çalışma da TZF ve bifosfonatların birlikte kullanımının güvenli ve etkili olduğunu ve kemik onarımını desteklediğini ortaya koymaktadır.¹⁶⁴

2.5.3.5. TZF ve Mine Matris Proteini (EMD) Kombinasyonu

Mine matris proteini (EMD), periodontal dokuların yenilenmesini destekleyen bir proteindir. TZF ile birlikte kullanımının etkilerini değerlendiren bir çalışmada, periodontitis kaynaklı kemik kaybının tedavisinde önce EMD uygulanmış, ardından defektler TZF ile

kapatılmıştır. Sonuçlar, hem yalnızca EMD kullanımının hem de EMD+TZF kombinasyonunun klinik iyileşme sağladığını göstermiştir.¹⁶⁵

Altı aylık takip sürecinde, her iki tedavi grubunda da klinik ataşman seviyesi ve sondalama derinliği açısından iyileşme gözlenmiştir. Ancak, klinik ve radyografik ölçümlerde EMD ve EMD+TZF grupları arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Defekt dolumu her iki grupta benzer seviyede gerçekleşmiş, TZF eklenmesi diş eti çekilmesi veya kemik dolumu üzerinde ek bir fayda sağlamamıştır.¹⁶⁵

Bu bulgular, TZF'nin EMD ile kombinasyonunun kemik kaybı tedavisinde ek bir avantaj sunmadığını göstermektedir. Ancak, daha uzun takip süresi ve daha geniş hasta gruplarıyla yapılacak çalışmalar, bu kombinasyonun etkisini daha iyi değerlendirmek için gereklidir.¹⁶⁵

2.5.3.6. TZF ve Statinlerin Kombinasyonu

Statinler, kolesterol seviyelerini düşürerek kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır. Ancak, son çalışmalar statinlerin yalnızca kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde değil, aynı zamanda kemik içi defektlerin iyileştirilmesinde de etkili olabileceğini göstermektedir.¹⁶⁶

Bir araştırmada, atorvastatin içeren TZF ile açık flap debridmanı (OFD) kombinasyonunun kemik içi defekt tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir. Bu yöntemde, TZF materyali defekt bölgesine yerleştirilmiş ve ardından %1,2 oranında atorvastatin jeli uygulanmıştır. Atorvastatin ve TZF'nin ardışık veya eş zamanlı uygulanması, periodontitisli hastalarda olumlu sonuçlar sağlamıştır.¹⁶⁷

Benzer şekilde, rosuvastatin ile TZF kombinasyonunun da periodontal sağlık üzerinde olumlu etkiler gösterdiği belirlenmiştir.¹⁶⁸ Bu bulgular, statinlerin sadece antihiperlipidemik etkiye sahip olmadığını, aynı zamanda periodontal hastalıkların tedavisinde de rol oynayabileceğini göstermektedir. TZF'nin ise ilaç taşıyıcı olarak kullanımı, hem tedavi süreçlerini iyileştirme hem de ilaçların etkinliğini artırma potansiyeline sahiptir. Bu doğrultuda, TZF'nin statinler ve diğer ilaçlarla birlikte kullanımı, dental ve periodontal tedavilerde yenilikçi ve etkili bir yaklaşım sunmaktadır.⁵

2.6. B12 Vitamini (Kobalaminler)

Kobalaminler, sınırlı sayıdaki enzimatik reaksiyonda kofaktör olarak görev yapan kompleks organometalik bileşiklerdir. Bu moleküller, doğal olarak oluşan kobalt içeren yapılar arasında yer almakta olup, merkezinde tek bir kobalt atomu bulunan ve dört pirol halkasından

oluşan bir korrin halkası düzeneği içerirler. Kobalt elementi, kobalaminlerin biyolojik aktivitesinden sorumlu olan temel yapı bileşenidir.¹⁶⁹

Korrin halkasının merkezinde yer alan kobalt atomu, hücresel işlevler sırasında β -aksiyel konumda yer alan çeşitli kimyasal substratlarla etkileşime girerek biyokimyasal reaksiyonların gerçekleşmesini sağlar. Vitamin B12'nin çeşitli türevleri, bu β -aksiyel ligandin doğasına göre sınıflandırılır; başlıca formları arasında metilkobalamin, deoksiadenozilkobalamin, hidroksokobalamin, akuakobalamin ve siyanokobalamin yer almaktadır. Bunlardan özellikle metilkobalamin ve deoksiadenozilkobalamin, insan metabolizmasında aktif olarak rol alan biyolojik formlar olarak öne çıkar.¹⁶⁹

Yaklaşık 1400 Dalton (Da) moleküler ağırlığa sahip olan kobalaminler, oldukça düşük konsantrasyonlarda dahi fizyolojik etkiler gösterebilen ve bu yönüyle hayati öneme sahip olan mikronutrientler arasında sınıflandırılmaktadır.¹⁶⁹

Vitamin B12 (kobalamin), büyüme ve gelişme açısından önemli, suda çözünebilen bir vitamindir. Ancak, diğer suda çözünebilen vitaminlerin aksine, bitkiler tarafından sentezlenemez. B12 vitamini yalnızca belirli bakteri türleri tarafından *de novo* olarak üretilmektedir.¹⁷⁰

Bu nedenle, doğal B12 kaynakları esas olarak hayvansal gıdalardır. En yüksek miktarda sığır karaciğeri ve böbreğinde bulunur; bunun dışında et ve süt ürünleri gibi diğer hayvansal kaynaklarda daha düşük oranlarda yer alır. Hayvanların sindirim sistemlerinde bulunan bakteriler, B12 vitaminini sentezleyerek bağırsaklardan emilmesini sağlar. Dolayısıyla, hayvansal gıdalardaki B12'nin kaynağı da bu mikroorganizmalardır.¹⁷⁰

Vitamin B12 (kobalamin), insan sağlığı için gerekli olan suda çözünebilen bir vitamindir. Vücutta en büyük oranda karaciğerde depolanır (%90). Daha küçük miktarlarda ise böbrek, kalp, dalak ve beyin dokularında bulunur. Karaciğerdeki depo yavaş kullanıldığı için eksiklik uzun süre sonra gelişir. Depolanan miktar bireyin diyetle aldığı B12 miktarına göre değişmekte olup genellikle 1–10 mg arasındadır.¹⁷¹

Vitamin B12 hem asidik hem nötr ortamda ısıya dayanıklıdır ve yaklaşık 400 günlük uzun bir yarılanma ömrüne sahiptir. Bu nedenle eksikliği yavaş gelişir. Eksiklik durumlarında vücut depolarının 0,5 mg civarına indiği tahmin edilir. Günlük B12 kaybı yaklaşık 2–5 μ g, günlük gereksinim ise 1 μ g civarındadır.¹⁷¹

Besinlerle alınan B12, vücutta çeşitli proteinlerle bağlanarak taşınır. Emilim süreci midede başlar. Mide asidi ve pepsin, B12'yi besinlerdeki proteinlerden ayırır. Serbest kalan B12, tükürükte bulunan ve asidik ortamda yüksek bağlanma gücüne sahip haptokorin adlı glikoproteine bağlanır. Bu kompleks duodenuma ulaştığında pankreas enzimleri tarafından

parçalanır ve B12 yeniden serbestleşir. Ardından, midedeki pariyetal hücrelerden salgılanan intrinsek faktör (IF) ile bağlanır. IF, B12'ye asidik değil, ince bağırsağın alkali ortamında daha güçlü bağlanır. IF-B12 kompleksi, ileumda bulunan *cubilin* reseptörü aracılığıyla hücre içine alınır. Hücre içinde IF'den ayrılan B12, kana geçer ve burada transkobalamin II (TCII) adlı taşıyıcı proteine bağlanarak hedef hücrelere taşınır. Dolaşımında ayrıca haptokorrin de yer alır; ancak biyolojik olarak aktif taşıyıcı TCII'dir.^{171,172}

Vitamin B12, özellikle DNA sentezi, hücre bölünmesi ve folik asit metabolizmasında görev alır. Ayrıca metilasyon reaksiyonlarında önemli bir kofaktör olarak sinir sistemi ve kan hücresi üretimi gibi yaşamsal süreçlerde rol oynar.¹⁷² B12 vitaminin idiopatik oral ülserasyon sıklığı olan hastalarda uygulanmasını takiben tekrarlayan ülserasyon sıklığında önemli derecede azalma olduğu gösterilmiştir.^{173,174} B12 vitamini ayrıca, protein metabolizması, immun sistem fonksiyonları gibi önemli fizyolojik ve biyokimyasal reaksiyonlarda rol oynamaktadır.¹⁷⁵

2.6.1. B12 Vitamini Ve Periodontal Dokularla İlişkisi

Kronik periodontitis tanısı almış ve periodontal cerrahi uygulanmış bireylerde, çeşitli B vitaminlerini (vitamin B12, folat, tiamin HCl, riboflavin, niasinamid, D-kalsiyum pantotenat, pridoksin HCl ve D-biyotin) içeren bir multivitamin takviyesinin periodontal yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini incelemiştir. B vitamini kompleksinin kapsül formunda uygulanmasının ardından, plasebo grubuna kıyasla anlamlı düzeyde klinik ataşman kazancı sağlandığı rapor edilmiştir.^{176,177}

Son dönemlerde yapılan bir araştırma, kronik periodontitisli bireylerde serum B12 vitamini düzeylerinin düşüklüğü ile klinik ataşman kaybı (CAL) artışı arasında anlamlı bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur. Bununla birlikte, başka bir çalışmada da kronik periodontitis hastalarının serum B12 düzeylerinin sağlıklı bireylere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu saptanmıştır.¹⁷⁸

Kronik periodontitisli bireylerde sigara kullanımı ile ilişkili olarak serum B12 vitamini ve folik asit düzeylerine ilişkin bulgular yeralmaktadır.. Sigara kullanımının yanı sıra, Gutkha olarak adlandırılan tütün çiğneme alışkanlığının da bu parametreler üzerindeki etkisi değerlendirilmiştir. Dikkat çekici bir şekilde, Gutkha kullanan kronik periodontitis hastalarında serum B12 düzeylerinin, periodontal açıdan sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır.¹⁷⁹

B12 vitamini takviyesi, idiopatik oral ülserasyon öyküsü bulunan bireylerde uygulandığında, tekrarlayan ülser oluşumlarının sıklığında anlamlı bir azalma sağlandığı

gösterilmiştir. Benzer şekilde, B12 vitamini eksikliğinin oral mukozal iyileşme süreçleri üzerinde olumsuz etkiler yaratabileceği, dolayısıyla yeterli B12 düzeylerinin epitel bütünlüğünün korunmasında önemli bir rol oynayabileceği düşünülmektedir.^{173,174}

Nihal avcu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada gastrointestinal sistem kaynaklı enfeksiyonların oral mikrobiyota ile yakın ilişkili olabileceğini ve vitamin B12 metabolizmasındaki bozulmaların periodontal sağlık üzerinde doğrudan etkili olabileceğini gösteren sonuçlara rastlanmıştır.¹⁸⁰

2.7. E Vitamini (Alfa -Tokoferol)

Vitamin E, 1922 yılında sıçanlarda üreme fonksiyonları üzerindeki olumlu etkileriyle ilk kez tanımlanmış, bitki kaynaklı ve lipofilik özellikte bir biyomoleküldür.¹⁸¹ Bu vitamin sekiz farklı bileşikten oluşur: α -, β -, γ - ve δ -tokoferoller ile bunlara karşılık gelen α -, β -, γ - ve δ -tokotrienoller. Tokoferoller, etanol ve aprotik çözücülerde çözünürken, suda çözünmezler ve oda sıcaklığında viskoz bir formdadırlar. İnsan organizmasında en biyolojik olarak aktif ve en yüksek düzeyde bulunan form, α -tokoferoldür.¹⁸²

Vitamin E yalnızca bitkiler ve fotosentetik organizmalar tarafından sentezlenebilmektedir. Doğal olarak yeşil yapraklı sebzeler, tohumlar, meyveler, pirinç, palm yağı, annatto yağı, kümes hayvanları, kırmızı et, balık, kuruyemişler ve tahıl ürünlerinde bulunur. Bu yönüyle, vitamin E, insan beslenmesinde hem antioksidan savunma sistemlerinin desteklenmesinde hem de hücresel bütünlüğün korunmasında temel rol oynayan bir mikrobeseindir.¹⁸³⁻¹⁸⁵

Vitamin E, insan fizyolojisi açısından temel öneme sahip bir mikrobesein ögesi olup; tıbbi tedavilerden kozmetik ürünlere, farmasötik formülasyonlardan gıda takviyelerine kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir. Günlük önerilen alım miktarı 15 mg (22,4 IU) olarak belirlenmiştir. A ve C vitaminleri gibi, E vitamini de başlıca hücre dışı antioksidanlardan biridir. Özellikle serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu etki gösterir. Bu özelliği sayesinde hücre zarlarını stabilize eder ve serbest radikal zincir reaksiyonlarını sonlandırarak oksidatif hasarı engellemede kilit rol oynar.¹⁸⁶

Vitamin E, hücresel düzeyde çeşitli biyolojik süreçlerin düzenlenmesinde görev alır. Özellikle enzim aktivitesinin modülasyonu, hücre içi sinyal iletimi, gen ekspresyonunun düzenlenmesi ve hücre proliferasyonunun kontrolü üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte, trombosit agregasyonunu baskılayarak pıhtılaşma sürecini inhibe eder. Bu özellikleri sayesinde E vitamini; kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar, yaşa

bağlı deri ve retina dejenerasyonları ile infertilite gibi pek çok patolojik durumun önlenmesinde potansiyel koruyucu etkiye sahip bir mikronutrient olarak değerlendirilmektedir.¹⁸⁷

2.7.1. E Vitamini Ve Periodontal Dokularla İlişkisi

Vitamin E'nin periodontal sağlık ve hastalık süreçlerindeki potansiyel biyolojik etkileri üzerine artan sayıda çalışma yapılmıştır. Bu antioksidan vitaminin, periodontal dokularda oksidatif stresin dengelenmesine katkı sağlayarak redoks homeostazını yeniden kurabileceği, inflamatuvar yanıtları hafifleterek doku yıkımını sınırlayabileceği ve yara iyileşme süreçlerini destekleyebileceği ileri sürülmektedir. Bu özellikleri, vitamin E'yi periodontal tedaviyi destekleyici potansiyel bir ajan olarak ön plana çıkarmaktadır.¹⁸⁸

Bazı çalışmalarda, periodontitisli bireylerde E vitamini düzeylerinin periodontal olarak sağlıklı bireylere kıyasla daha düşük olduğu gösterilmiş ve bu durum E vitamininin antiinflamatuvar etkilerine işaret etmiştir. NHANES III verileri bu ilişkiyi doğrulamamış olsa da, 2011–2014 yılları arasında toplanan NHANES verileri, düşük E vitamini alımı ile artan periodontitis şiddeti arasında anlamlı bir ters ilişki göstermiştir. 1999–2001 dönemine ait verilerin analizi ise, normal referans aralığı içinde yer alsa dahi düşük α -tokoferol düzeylerinin, periodontitis şiddeti ile doğrusal olmayan bir ters ilişki içinde olduğunu ortaya koymuştur.¹⁸⁹⁻

192

Papillon-Lefèvre sendromlu bireylerde, sistemik antioksidan savunma mekanizmalarının zayıfladığı; buna bağlı olarak E vitamini ve koenzim Q10 düzeylerinde düşüş ile birlikte, hidroperoksit birikiminin arttığı ve total antioksidan kapasitenin belirgin şekilde bozulduğu bildirilmiştir. Bu bulgular, oksidatif stresin söz konusu sendromda periodontal yıkımın patogenezinde rol oynayabileceğine işaret etmektedir.^{193,194}

Periodontitisli bireylerde oksidatif stres düzeylerinin artmış olması ve plazma ile eritrosit zarlarında E vitamini eksikliklerinin gözlemlenmesi, bu vitaminin hastalık sürecinde önemli bir rol oynayabileceğini düşündürmektedir.¹⁹⁵ Periodontitisli kadın hastalarda 12 haftalık E vitamini takviyesi sonrası periodontal inflamasyonda azalma bildirilmiştir.¹⁹⁶

pentoksifilin ve E vitamini (tokoferol) içeren antifibrotik ilaç kombinasyonunun (PVe), radyoterapi almış hastalarda gerçekleştirilen dental çekimlerde osteoradyonekroz (ORN) gelişimini önlemeye yönelik profilaktik bir strateji olarak etkili olabileceğini ortaya koymuştur. Bu farmakolojik yaklaşımın, radyasyon kaynaklı fibrotik doku yanıtlarını hedef alarak ORN insidansını anlamlı ölçüde azaltabileceği bildirilmektedir.¹⁹⁷

Periodontal rejenerasyonun sağlanmasında günümüzde çeşitli biyomateryaller ve büyüme faktörü taşıyıcı sistemler kullanılmaktadır. Ancak bu materyallerin yüksek maliyet,

biyoyumluluk sorunları, sınırlı biyolojik etkinlik ve karmaşık uygulama protokolleri gibi dezavantajları bulunmaktadır. Bu nedenle daha biyoyumlu, kolay uygulanabilir ve maliyet etkin alternatiflerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Trombositten zengin fibrin (TZF), bünyesindeki fibrin matrisi, lökositleri ve trombosit kaynaklı büyüme faktörlerini kontrollü şekilde salabilmesi sayesinde, rejeneratif diş hekimliği uygulamalarında önemli bir biyomateryal olarak öne çıkmaktadır. Bununla birlikte TZF'nin, biyolojik ajanların veya vitaminlerin taşıyıcısı olarak kullanımına yönelik çalışmalar oldukça sınırlıdır. Özellikle periodontal dokuların iyileşme süreçlerinde kritik rol oynayan vitaminlerin TZF'ye entegre edilmesinin biyolojik etkilerini değerlendiren kapsamlı çalışmalar literatürde eksiktir.

B12 vitamini hücrel proliferasyon, DNA sentezi ve metilasyon yolları üzerinde; E vitamini ise antioksidan kapasitesi ve hücrel membran stabilitesi üzerinde olumlu etkiler göstermektedir. Bu nedenle, periodontal tedavilerde B12 ve E vitaminlerinin TZF ile birlikte kullanılması, TZF'nin büyüme faktörü salınım profilini ve mekanik özelliklerini güçlendirerek rejeneratif kapasitesini artırabilir. Bu yaklaşım, periodontal tedavi süreçlerinde daha öngörülebilir ve başarılı klinik sonuçlar elde edilmesini mümkün kılabilir.

Bu çalışmanın amacı, kobalamin (B12) ve alfa-tokoferol (E vitamini) katkısının trombosit zengin fibrin içeriğindeki büyüme faktörleri ve sitokin düzeyleri üzerine etkisini in-vitro koşullarda değerlendirmektir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma; Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda, 6 erkek 6 kadın gönüllü katılımcı ile gerçekleştirildi. Tüm bireylere çalışma öncesinde araştırmanın amacı, yöntemi ve uygulanacak işlem hakkında detaylı bilgi verildikten sonra katılım için aydınlatılmış onam formu imzalatıldı. Çalışmanın etik uygunluğu, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu (08.12.2023 tarih ve 139/25 sayılı) tarafından onaylandı.

3.1. Hasta Seçimi

Aşağıda belirtilen kriterlere sahip olan bireyler çalışmaya dahil edildi:

1. Sistemik hastalığının bulunmaması,
2. Kooperasyonunun iyi olması.
3. 20-30 yaş aralığındaki genç yetişkin bireyler

Aşağıda belirtilen kriterlere sahip bireyler çalışma dışı bırakılmıştır:

1. Sistemik hastalığı olan,
2. B12 ve E vitaminine karşı alerjisi olan,
3. Hamilelik/emzirme
4. Kanama bozukluğuna yol açan ilaç kullanımı,
5. Son 6 ayda B12 ve/veya E vitamini eksikliğinden dolayı tedavisi görmüş bireyler.

3.1.1. Çalışma Gruplarının Belirlenmesi

Sağlıklı 6 erkek, 6 kadın katılımcıdan toplam 5 tüp (her tüp için yaklaşık 10 ml) kan toplandı.

1. Tüp: Tam kan sayımı seviyelerini belirlemek için kullanıldı.
2. Tüp: Kandaki B12 ile E vitamini seviyelerini belirlemek için kullanıldı,
3. Tüp: Büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan TZF,
4. Tüp: Alınan venöz kana 1 ml B12 vitamini eklenerek oluşturulan, büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan TZF,

5. Tüp: Alınan venöz kana 0,5 ml E vitamini eklenerek oluşturulan, büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için kullanılan TZF,

Sonuç olarak 3 çalışma grubu oluşturuldu:

1. **Grup:** Trombositten zengin Fibrin (Kontrol Grubu): TZF
2. **Grup:** B12 vitamini (1 mL) eklenerek hazırlanmış trombositten zengin fibrin (Çalışma Grubu): (VitB-TZF)
3. **Grup:** E vitamini (0,5 mL) eklenerek hazırlanmış trombositten zengin fibrin (Çalışma Grubu): (VitE-TZF)

3.2 Çalışma Protokolü

Sağlıklı 6 erkek, 6 kadın katılımcıdan 5'er tüp (her tüp için yaklaşık 10 ml) kan toplandı. 1.tüp tam kan sayımı için kullanıldı. 2. tüp hastaların B12 ile E vitamin konsantrasyonlarını belirlemek için kullanıldı. 3. tüpe herhangi bir vitamin solüsyonu eklenmeden 2700 rpm'de 12 dk santrifüj edildi. 4. tüpe santrifüj öncesi 1 ml/1000mcg suda çözülebilen siyanokobalamin etken maddeli B12 vitamini solüsyonu (DODEX 1000 mcg/ml İ.M. Ampul, DEVA HOLDİNG A.Ş) eklenerek elde edilen kan 2700 rpm'de 12 dk boyunca santrifüj edildi. 5. tüpe santrifüj öncesi zeytinyağı yardımcı maddesinde çözünen 0,5 ml/150 mg di-alfa tokoferol asetat etken maddeli E vitamini solüsyonu (Evigen 2 cc 5 Ampul, AKSU FARMA TIBBİ ÜRÜNLER İLAÇ SAN VE TİC. LDT. ŞTİ.) eklenerek elde edilen kan 2700 rpm'de 12 dk boyunca santrifüj edildi. Elde edilen TZF'lerin hassas terazide ölçümü yapıp kaydedildi. Her gruptan elde edilen TZF'lerin bir tanesi büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin tespit edilmesi için kullanıldı.



Şekil 9. B12 ve E vitamini

3.2.1. Vitamin Dozlarının Belirlenmesi

Çalışma öncesi B12 ve E vitamin dozunun belirlenmesi amacıyla bir pilot çalışma yapıldı. 3 gönüllüden ikişer örnek kan alınıp santrifüj öncesi ayrı ayrı B12 ve E vitamini dozunun belirlenmesi için sırasıyla 0,25-0,5-1 ml vitamin solüsyonu eklendi. Elde edilen kan örnekleri 2700 rpm’de 12 dk boyunca santrifüj edildikten sonra oluşan TZF’lerin makroskobik fiziksel özellikleri gözlemlendi. 1 ml E vitamini eklenen gruplarda santrifüj sonunda TZF’nin oluşmadığı gözlemlendi. 0,25 ve 0,5 ml eklenen gruplarda gözle görülür bir fiziksel değişiklik tespit edilmedi. B12 vitaminin de bütün dozlarında gözle görülür bir fiziksel değişiklik tespit edilmedi. Bu nedenle çalışmamızda B12 vitamin dozu 1 ml, E vitamin dozu ise 0.5 ml olarak belirlendi.

3.3. TZF Hazırlık Protokolü

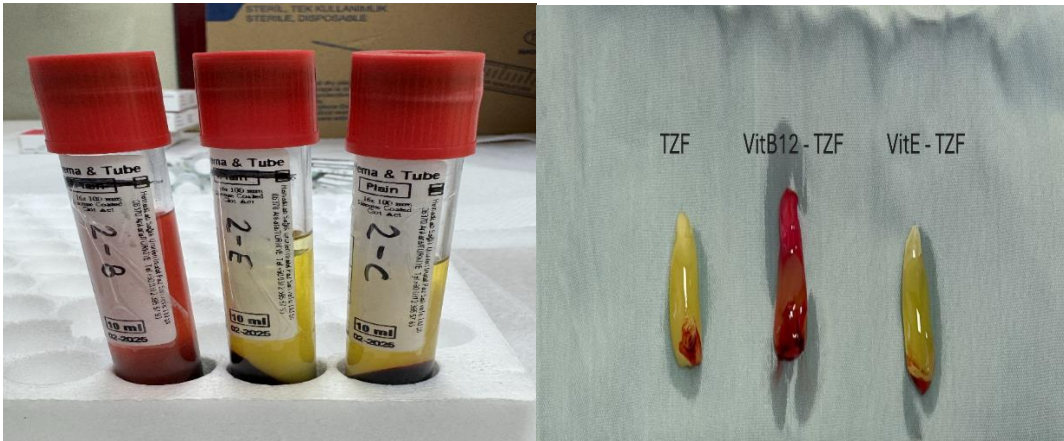
TZF membranları, 12 dakika boyunca 2700 RPM’lik standart protokol ile (Bağıl Santrifüj Kuvveti-RCF-ortalama 708 g). 10 mL cam tüplerde Duo santrifüj cihazı (88 mm ve maksimumda 110 mm yarıçaplı 40° rotor açısına sahip) (Nice, Fransa) kullanılarak üretildi.



Şekil 10. B12 vitaminin enjektöre çekilmesi



Şekil 11. E vitaminin enjektöre çekilmesi



Şekil 12. Santrifüj sonrası çalışma grupları



Şekil 13. B12 vitamini eklenerek elde edilen trombositlerden zengin fibrin



Şekil 14. E vitamini eklenerek elde edilen trombositlerden zengin fibrin

3.4. Büyüme Faktörlerinin Belirlenmesi

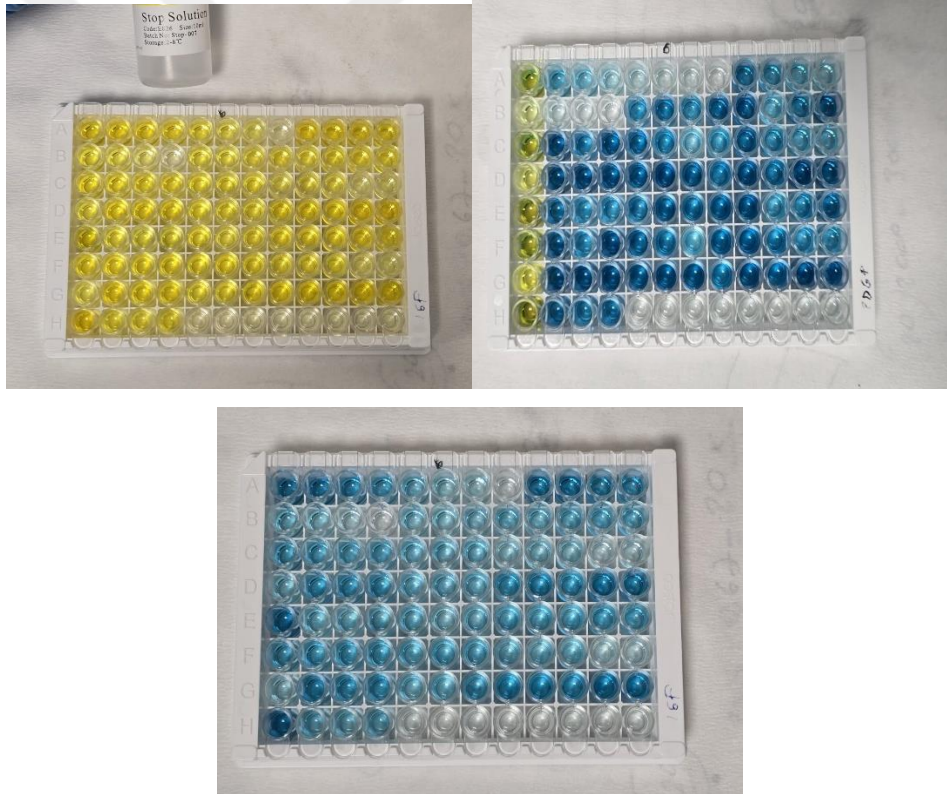
20 gönüllü katılımcıdan elde edilen TZF'ler RBC tabakasından steril makasla ayrılıp hassas terazide tartıldı. Her TZF'ye miktarına oranla hücre kültür besiyeri ortamı (HyClone™, RPMI-1640 MEDIUM) ilave edildi. Her bir zaman periyodu sonunda (24 ve 72 saat sonra) TZF örnekleri ELISA testinde kullanılmak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

Büyüme faktörleri ve sitokin düzeylerinin belirlenmesi için ELISA protokolü:

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



Şekil 15. Orbital shaker ile düşük hızda inkübasyon



Şekil 16. Elisa analizi

3.5. İstatiksel Analiz

Sayısal veriler, tanımlayıcı istatistikler kapsamında ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (minimum - maksimum) şeklinde sunuldu. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile değerlendirildi. Bağımlı sayısal değişkenlerin karşılaştırılmasında,

dağılım varsayımlarının karşılanması durumunda Bağımlı Gruplar için t testi, varsayımlar karşılanmadığında ise Wilcoxon Signed Rank testi uygulandı. Üç farklı tüpten alınan kan örnekleri aynı bireylere ait olduğundan, ölçümler arası bağımlı yapı dikkate alınarak her bir zaman noktasında (Kontrol, Vitamin B12, Vitamin E) gruplar arasındaki farklılıklar, varsayımların sağlanması durumunda Tekrarlı Ölçümler Analizi, sağlanmadığında ise Friedman testi ile analiz edildi. Gruplar arasındaki ikili karşılaştırmalarda Bonferroni düzeltmesi uygulanarak, uygun varsayıma göre Bağımlı Gruplarda t testi ya da Wilcoxon Signed Rank testi kullanıldı. Zaman içinde (24. ve 72. saatler) meydana gelen değişimlerin gruplar açısından değerlendirilmesinde; zaman değişkeni rastgele (random), grup değişkeni sabit (fixed) kabul edilerek, iç içe geçmiş yapı göz önüne alınıp Nested ANOVA yöntemi ile analiz gerçekleştirildi. Verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics Versiyon 20.0 paket programı kullanıldı. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.

SPSS referansı:

IBM Corp. Released 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 20.0 Armonk, NY: IBM Corp.

4. BULGULAR

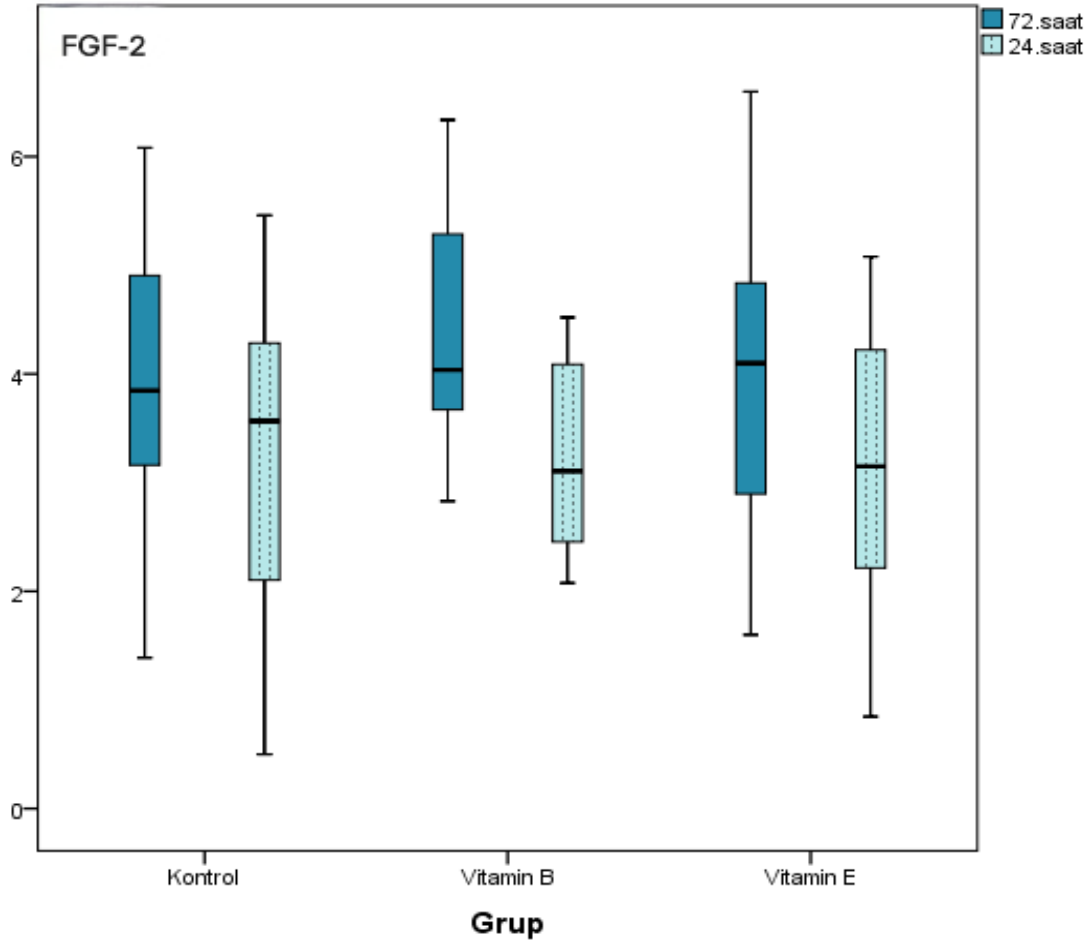
4.1. TZF Gruplarının Büyüme Faktör Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

o FGF-2 düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde ölçülen FGF-2 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,001$), değerlerin zamansal değişiminde ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$)

Grup içi karşılaştırmalarda; Kontrol ve Vitamin B gruplarında 72. saatte ölçülen FGF-2 değerlerinin 24. saate göre istatistiksel olarak anlamlı derecede arttığı görüldü (sırasıyla $p=0,011$ ve $p<0,001$). Vitamin E grubunda 24. ve 72. saatler arasında anlamlı bir değişim saptandı. ($p=0,004$ artış anlamlı).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. saatte ve 72. saatteki FGF-2 değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

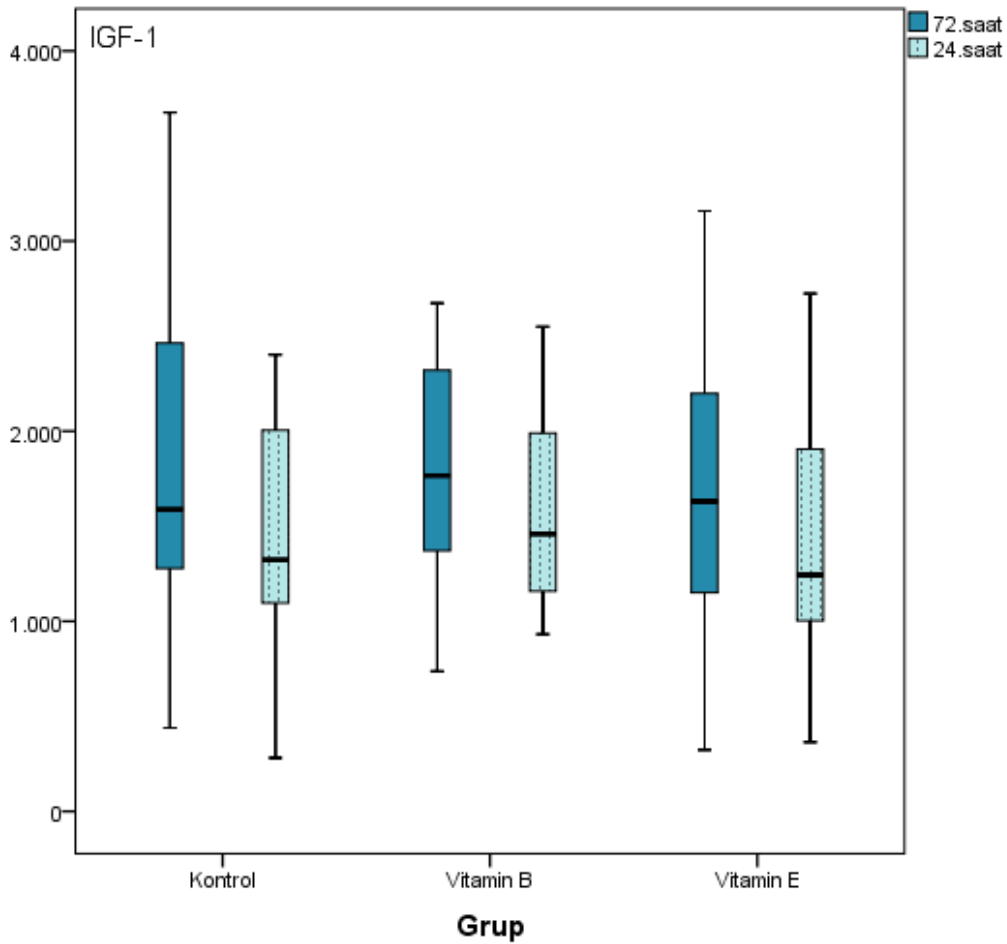


○ IGF-1 düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde ölçülen IGF-1 değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$), gruplar arası karşılaştırmalarda ise anlamlı farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Grup içi karşılaştırmalarda; Kontrol grubunda 72. saatteki IGF-1 değerinin 24. saate göre anlamlı derecede arttığı tespit edildi ($p=0,002$). Benzer şekilde Vitamin B ve Vitamin E gruplarında da zamansal artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu (sırasıyla $p=0,019$ ve $p=0,012$).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; hem 24. hem de 72. saatte IGF-1 düzeyleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0,05$)

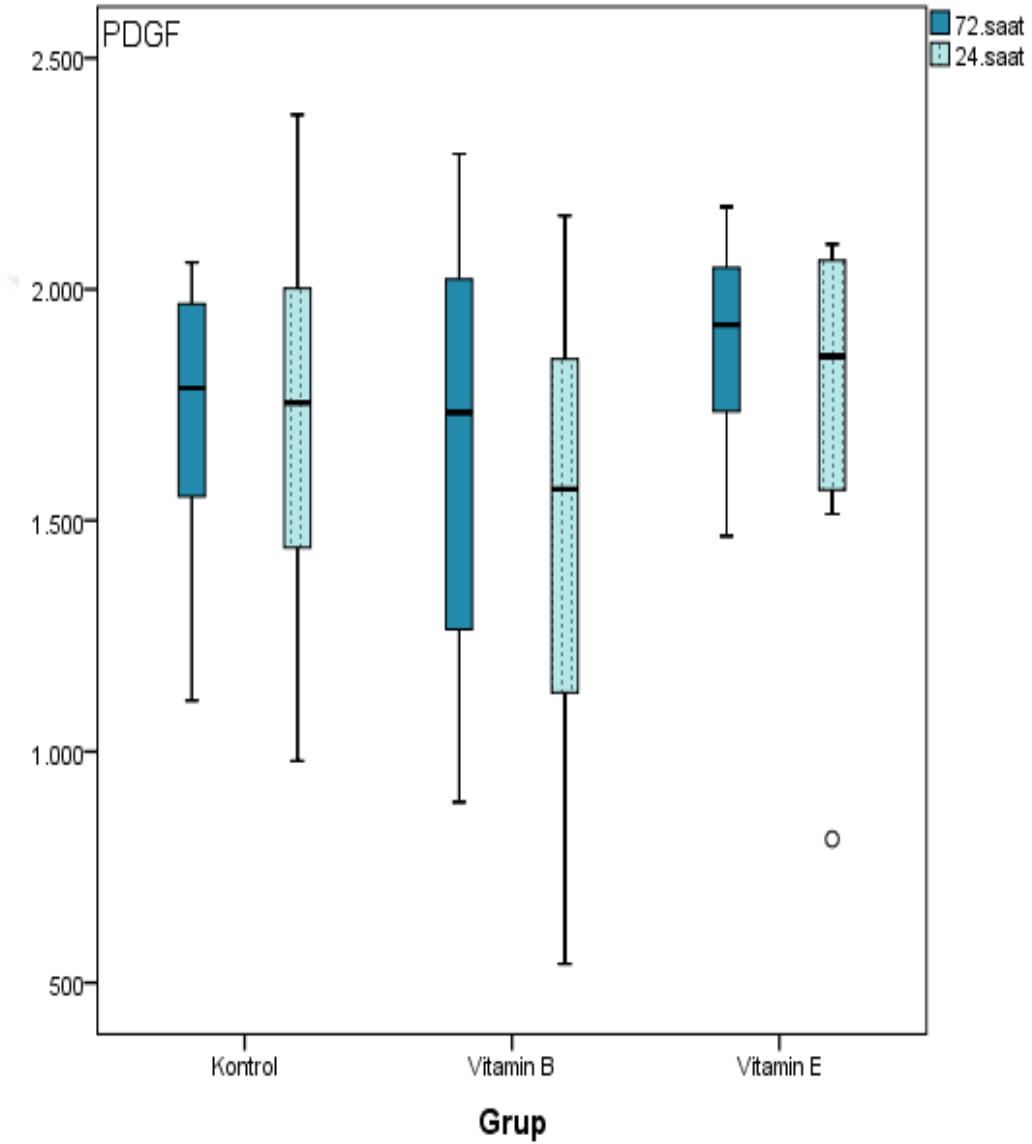


○ PDGF düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde ölçülen PDGF değerleri arasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Grup içi karşılaştırmalarda; Vitamin B grubunda 72. saatte ölçülen PDGF değerinin 24. saate göre anlamlı olarak arttığı belirlendi ($p=0,034$). Kontrol ve Vitamin E gruplarında zamansal değişim açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; hem 24. hem 72. saatte gruplar arasında anlamlı bir fark izlenmedi ($p>0,05$).

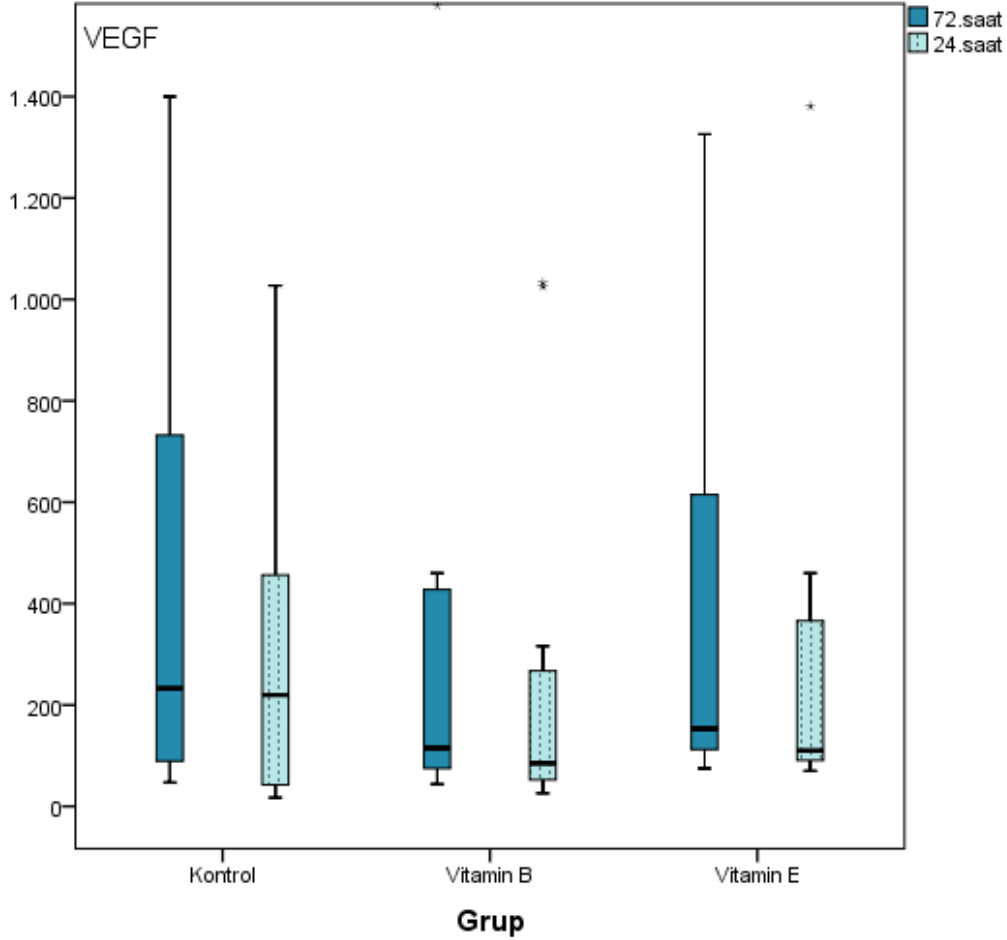


○ VEGF düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde ölçülen VEGF değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p<0,05$), değerlerin zamansal değişiminde ise anlamlı artışlar izlendi.

Grup içi karşılaştırmalarda; Kontrol grubunda 72. saatteki VEGF düzeyinin 24. saate göre anlamlı olarak arttığı görüldü ($p=0,010$). Benzer şekilde Vitamin B ($p=0,003$) ve Vitamin E ($p=0,003$) gruplarında da zamansal artış istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. saatte Kontrol ve Vitamin E grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulundu ($p=0,043$). 72. saatte ise gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).

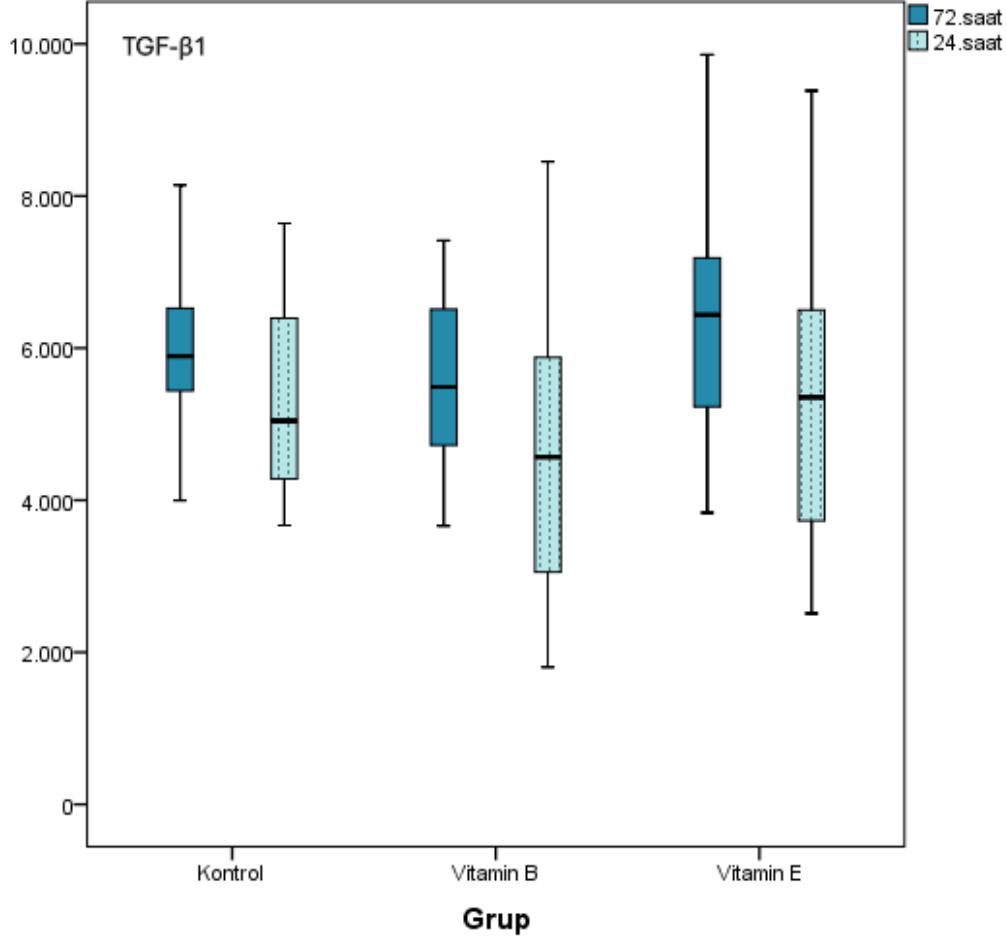


○ TGF- β 1 düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde ölçülen TGF- β 1 değerleri arasında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlendi ($p=0,018$ ve $p=0,039$).

Grup içi karşılaştırmalarda; Vitamin B grubunda 72. saatteki TGF- β 1 değerinin 24. saate göre anlamlı derecede arttığı saptandı ($p<0,001$). Benzer şekilde Vitamin E grubunda da 72. saatte ölçülen değerler anlamlı olarak yükseldi ($p=0,006$). Kontrol grubunda zamansal açıdan anlamlı değişim gözlenmedi ($p>0,05$).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. saatte Kontrol ve Vitamin B grupları arasında anlamlı farklılık olduğu tespit edildi ($p=0,046$). 72. saatte de gruplar arasında anlamlı farklılık devam etti ($p<0,05$).



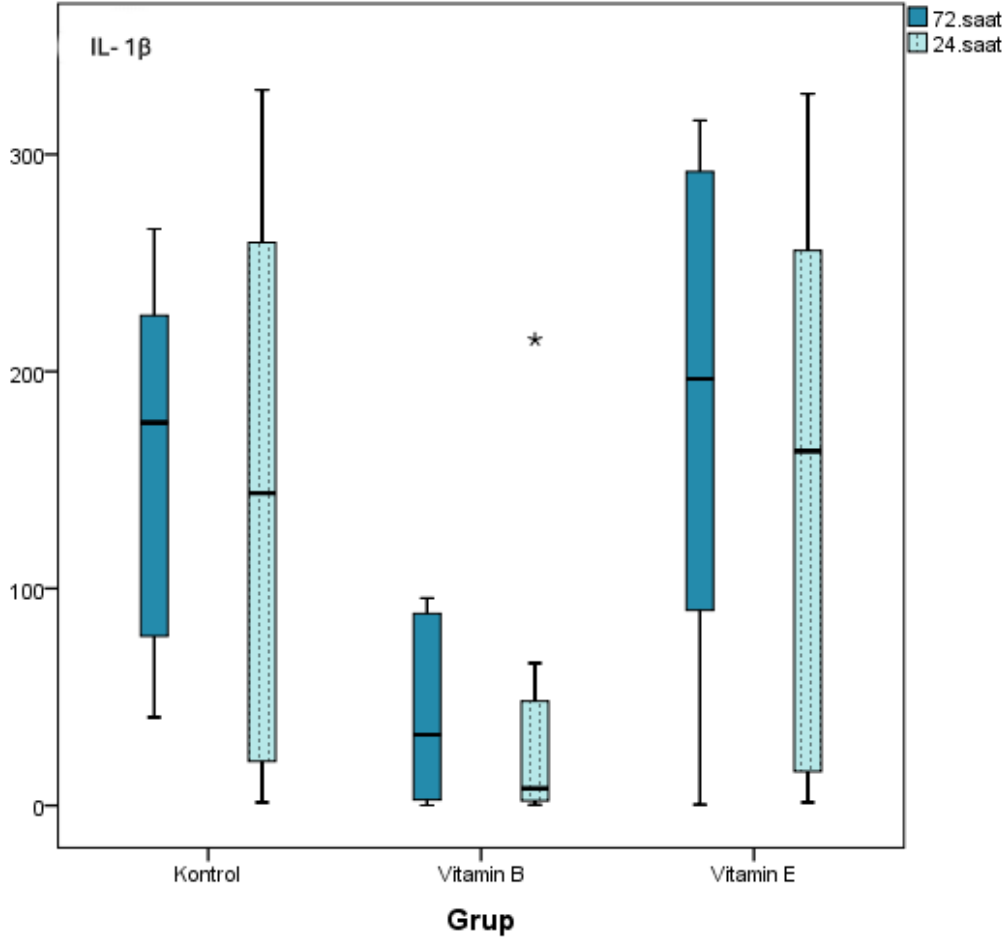
4.2. TZF Gruplarının İnflamatuvar Sitokin Ölçümlerinin Değerlendirilmesi

a. IL-1 β düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. ve 72. saatlerde ölçülen IL-1 β değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulundu ($p=0,005$ ve $p=0,002$), değerlerin zamansal değişiminde ise bazı gruplarda anlamlı artışlar izlendi.

Grup içi karşılaştırmalarda; Vitamin B grubunda 72. saatteki IL-1 β değerinin 24. saate göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı belirlendi ($p=0,005$). Kontrol ve Vitamin E gruplarında ise zamansal değişim açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. saatte IL-1 β değerlerinin Vitamin B grubunda Kontrol grubuna göre ve Vitamin E grubuna göre istatistiksel olarak daha düşük olduğu tespit edildi ($p=0,043$ ve $p=0,007$). 72. saatte de benzer şekilde Vitamin B grubunun değerleri diğer iki gruba göre anlamlı düzeyde farklı bulundu ($p=0,013$ ve $p=0,003$).

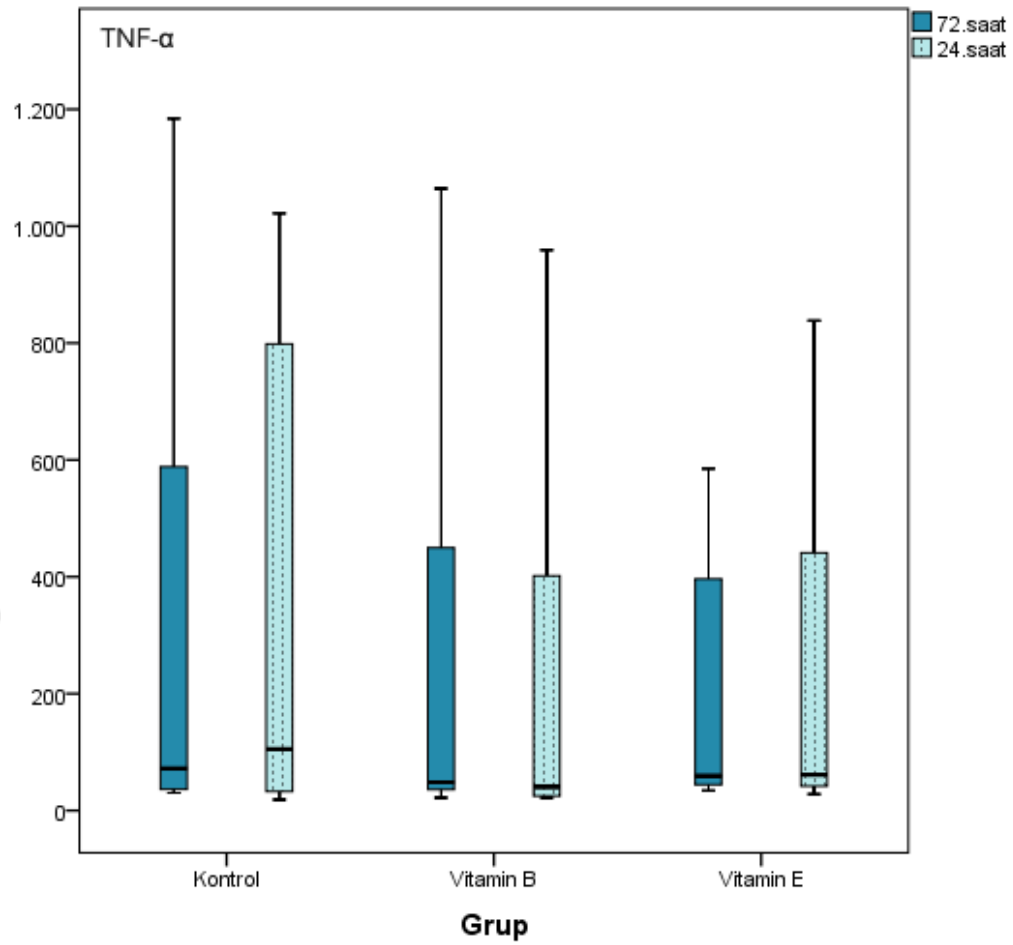


b. TNF- α düzeyinin değerlendirilmesi

Çalışma gruplarında 24. saatte ölçülen TNF- α değerleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,006$). 72. saatte ise gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p>0,05$).

Grup içi karşılaştırmalarda; Vitamin B grubunda 72. saatteki TNF- α değerlerinin 24. saate göre anlamlı derecede arttığı görüldü ($p=0,034$). Kontrol ve Vitamin E gruplarında zamansal açıdan anlamlı bir değişim saptanmadı ($p>0,05$).

Gruplar arası karşılaştırmalarda; 24. saatte Vitamin B grubu değerlerinin hem Kontrol grubuna göre hem de Vitamin E grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık gösterdiği tespit edildi ($p=0,024$ ve $p=0,013$).



Çizelge 1. Grup İçi ve Gruplar Arası Büyüme Faktörlerinin Ölçümlerinin Karşılaştırılması

Değişken	Zaman	Grup			p	İkili Karşılaştırmalar (p)			Grup (Zaman) †
		Kontrol (n=12)	Vitamin B (n=12)	Vitamin E (n=12)		Kontrol - Vitamin B	Kontrol - Vitamin E	Vitamin B- Vitamin E	p
FGF-2	24. Saat	3,3±1,5 3,6(0,5-5,5)	3,2±0,9 3,1(2,1-4,5)	3,1±1,3 3,2(0,8-5,1)	>0,999	>0,999	>0,999	>0,999	0,029
	72. Saat	4,2±1,9 3,8(1,4-8,8)	4,4±1,1 4(2,8-6,3)	4,0±1,4 4,1(1,6-6,6)	0,353	>0,999	>0,999	0,811	
	p	0,011	<0,001	0,004					
IL-1 β	24. Saat	146,7±128,8 143,9(1,5-329,7)	43,3±73,4 ^{Φ,Y} 7,9(0,3-214,7)	150,6±126,4 163,2(1,4-327,9)	0,005	0,043	>0,999	0,007	0,780
	72. Saat	158±81,7 176,4(40,6-265,6)	66,4±88,8 ^{Φ,Y} 32,6(0,1-242,2)	186,7±111,3 196,5(0,4-315,7)	0,002	0,013	>0,999	0,003	
	p	0,593	0,005	0,139					
IGF-1	24. Saat	1583,7±925,5 1323,4(281,8-3821,4)	1698,8±828,8 1458,1(931,5-3850,6)	1580,2±968,1 1244,1(363,4-3943)	0,558	0,351	0,546	>0,999	0,723
	72. Saat	1881±940,4 1589(438,9-3676,7)	1962,7±974,4 1765,2(737,6-4512,7)	1770,2±970,1 1630,5(323,4-3775,2)	0,205	>0,999	0,716	0,302	
	p	0,002	0,019	0,012					
TNF-α	24. Saat	343,9±400,4 105,2(18,7-1021,8)	232,1±347,2 ^{Φ,Y} 40,3(21,8-959,1)	277,6±379,8 61(28,1-1120,9)	0,006	0,024	>0,999	0,013	0,964
	72. Saat	332,3±442,6 72(30-1184,2)	319,5±509,2 48,5(21,8-1535,9)	297,7±438 59,1(34,4-1209,3)	0,203	0,297	>0,999	>0,999	
	p	0,859	0,034	0,583					
VEGF	24. Saat	340,8±382,1 219,8(17,1-1117)	261±368,3 ^Y 84,9(25,8-1032,6)	337,2±430,1 110,2(70-1381,1)	0,050	0,662	0,043	0,662	0,736
	72. Saat	466,5±480,4 232,8(47,1-1400)	380,8±524,9 114,9(43,9-1579,8)	455,3±521,3 153,1(74,7-1624,7)	0,097	0,213	>0,999	0,252	
	p	0,010	0,003	0,003					
TGF- β1	24. Saat	5367,1±1346,5 5043,8(3667,6-7640,3)	4521,6±1974,1 ^{Φ,Y} 4566,9(1804,9-8452,9)	5401,6±1973 5353,7(2511,5-9384,2)	0,018	0,046	>0,999	0,093	0,106
	72. Saat	6171,6±1499,3 5893,2(3995,2-9666,8)	5754,3±1584,6 ^Y 5488,6(3661,2-9467,7)	6328,1±1659,8 6437,6(3834,6-9859,5)	0,039	0,752	>0,999	0,252	
	p	0,680	<0,001	0,006					

PDGF	24. Saat	1714,5±378,9 1754,7(979,6-2377,8)	1459±519,6 1568,2(540,6-2159,1)	1755,1±376,3 1854,8(810,8-2097,7)	0,472	0,816	>0,999	0,213	0,540
	72. Saat	1734,4±272,8 1786,5(1110,1-2057,8)	1651,6±461,8 1733,2(890,6-2292,6)	1882,8±215,7 1923,1(1466,1-2178,3)	0,125	>0,999	0,060	0,261	
	p	0,853	0,034	0,114					

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

^φKontrol ile arasında p<0,05

^γE vit. ile arasında p<0,05

[†]Nested ANOVA

FGF-2: Fibroblast Büyüme Faktörü

IL-1β: Interlökin 1β

IGF-1: İnsülin Büyüme Faktörü

TNF-α: Tümör Nekroz Faktör

VEGF: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

TGF- β1: Transforme Büyüme Faktörü

PDGF: Trombosit Kaynaklı Büyüme Faktörü

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada, trombositten zengin fibrin (TZF) yapısının biyomoleküler içeriğinin Vitamin B12 (kobalamin) ve Vitamin E (alfa-tokoferol) katkısı ile modifiye edilmesinin, büyüme faktörleri ve sitokin profili üzerine etkileri araştırılmıştır. Son yıllarda biyolojik materyallerin modifikasyonu yoluyla geliştirilen rejeneratif ürünler, doku mühendisliği ve cerrahi uygulamalarda giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu bağlamda elde edilen bulgular, hem mevcut literatürle önemli ölçüde uyum göstermekte hem de vitamin destekli TZF modifikasyonunun rejeneratif tıptaki potansiyeline dair yeni katkılar sunmaktadır.

TZF, ikinci nesil otolog biyomateryal olarak fibrin ağı, trombositler ve lökositler aracılığıyla doku onarımı ve yara iyileşmesini destekleyen güçlü bir biyolojik platform sağlamaktadır.^{10,37,44,48,51} Literatürde TZF'nin yalnızca taşıyıcı olarak değil, ek biyolojik ajanlarla modifiye edilerek biyolojik aktivitesinin artırılabilirliği çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur.¹⁵⁵

Kartika ve ark. (2021), A-PRF ile hyaluronik asit kombinasyonunun VEGF ve PDGF seviyelerini artırarak granülasyon dokusunu zenginleştirdiğini bildirmiştir.¹⁹⁸ Benzer şekilde Bayer ve ark. (2020), TZF'nin keratinositlerde ekstraselüler matriks düzenleyici genleri uyardığını rapor etmiştir.¹⁹⁹ Ayrıca Chatterjee ve ark. (2024), alveolar defekt onarımı için piezzocerrahi ile kombine edilen PRF uygulamasında modifiye TZF'nin alveoler defekt onarımını hızlandırdığını göstermiştir.²⁰⁰ Alkaya ve ark. (2025) ise TZF'ye hyaluronik asit eklenmesinin büyüme faktörleri salınımını olumlu etkilediğini bildirmiştir.²⁰¹

Bu çalışmamızda vitamin katkısının TZF'nin biyomoleküler özelliklerini modifiye edebileceği ve rejeneratif kapasitesini artırabileceği gösterilmiştir. Bulgularımız, hyaluronik asit veya antibiyotik destekli TZF çalışmalarına paralellik göstermektedir.^{155,200-203} Özellikle Jaikumar Ram ve ark. (2023) tarafından bildirilen TZF'nin lokal ilaç taşıyıcı olarak kontrollü salım sağlayabilmesi, bizim vitamin katkılı yaklaşımımızın da benzer şekilde lokalize ve uzun süreli biyolojik yanıt oluşturabileceğini desteklemektedir.^{202,203}

Vitamin B12, DNA sentezi, hücresel proliferasyon ve hematopoezde kritik rol oynayan bir vitamindir.¹⁶⁹⁻¹⁷² Halczuk ve ark. (2023), B12'nin DNA metilasyonu, nükleotid sentezi ve antioksidan özellikleriyle biyolojik süreçlerde önemli işlevler üstlendiğini vurgulamıştır.²⁰⁴

Çalışmamızda Vitamin B12 katkılı TZF grubunda FGF-2, PDGF, VEGF ve TGF- β seviyelerinde anlamlı artışlar gözlenmiştir. Bu durum, fibroblast proliferasyonu, anjiyogenez ve doku yeniden yapılanması süreçlerinin hızlanabileceğini göstermektedir. Kartika ve ark.

(2021) tarafından A-PRF+HA kombinasyonunun VEGF ve PDGF ailesi üzerinde artırıcı etkilerinin bildirilmiş olması, bulgularımızla paralellik göstermektedir.^{158,198}

Ayrıca B12 eklenen grupta IL-1 β ve TNF- α düzeylerinde anlamlı azalma gözlenmiş, bu bulgu vitaminin inflamatuvar yanıtı baskılayıcı etkisini doğrulamıştır. Kobzar (2020) ile Halczuk ve ark. (2023), B12'nin sitokin profillerini modüle ederek NF- κ B yolağını baskılayabileceğini bildirmiştir.^{204,205} Bu sonuç, klinikte postoperatif inflamasyonun kontrolünde B12 katkılı TZF'nin potansiyel rolünü ortaya koymaktadır.

Vitamin E'nin antioksidan etkilerinin yanı sıra, protein kinaz ve fosfataz aktivitelerini modüle ederek hücrel sinyal yollarına etki ettiği gösterilmiştir.^{186,187,206,207} Çalışmamızda Vitamin E katkılı TZF grubunda özellikle VEGF seviyelerinde artış tespit edilmiştir. Bu bulgu, Vorakulpipat ve ark. (2023) tarafından tokoferol katkılı TZF'nin VEGF artışı yoluyla osteoradyonekroz tedavisinde fayda sağladığını bildiren çalışma ile uyumludur.²⁰⁸

Bununla birlikte, E vitamininin FGF-2 ve PDGF salınımı üzerine ek bir üstünlük sağlamadığı gözlenmiştir. Bu durum, Traber & Atkinson (2007)'in lipofilik bileşiklerin plazma bazlı biyomateryallerde homojen dağılmakta güçlük çektiğine dair bulgularıyla açıklanabilir.²⁰⁶ Ayrıca kullanılan dozaj ve izomer tipinin etkiler üzerinde belirleyici olduğu değerlendirilmektedir.²⁰⁷

Çalışmamızda özellikle Vitamin B12'nin inflamatuvar yanıt üzerinde belirgin etkileri gözlenmiştir. IL-1 β ve TNF- α düzeylerinin azalması, kontrollü inflamasyon yoluyla iyileşme sürecinin hızlanabileceğini göstermektedir. Bu durum, Sherif ve ark. (2025)'in antioksidan destekli PRF'nin inflamatuvar transkripsiyon faktörlerini baskılayarak TNF- α düzeyini azalttığını bildiren çalışmalarıyla uyumludur.²⁰⁹

Vitamin E grubunda IL-1 β düzeylerinde anlamlı değişiklik gözlenmemiştir. Bunun nedeni, E vitamininin lipofilik yapısı nedeniyle biyoyararlanım sınırlılıkları, izomer farklılıkları veya antioksidan etkinin çift yönlü doğası olabilir.^{186,206,210-212}

Elde edilen veriler ışığında Vitamin B12 ve E'nin TZF içeriğine eklenmesi, B12'nin erken inflamatuvar yanıtı baskılaması ve FGF-2, TGF- β gibi büyüme faktörlerini artırmasıyla postoperatif iyileşmeyi hızlandırabileceği, E vitamininin ise VEGF artışı üzerinden anjiyogenezi destekleyerek vaskülarizasyonun kritik olduğu cerrahilerde fayda sağlayabileceği, anlamına gelebilir. Bu özellikler, implantoloji, kemik greftleme ve periodontoloji gibi doku yanıtının belirleyici olduğu klinik alanlarda vitamin katkılı TZF'nin önemli avantajlar sunabileceğini göstermektedir.

Çalışmanın çeşitli sınırlılıkları bulunmaktadır. Bulguların in-vivo ortamlarda doğrulanması gerekmektedir. Bu çalışmada farklı vitamin konsantrasyonları ve izomerlerinin

etkileri değerdendirilmemiştir. Küçük örneklem dolayısıyla biyolojik varyasyonların genellenebilirliği sınırlıdır. Değerdendirilen belirteçler sınırlı tutulmuştur. Sigara ve alkol kullanımı gibi dış etkenler kontrol edilmemiştir. Kan alım protokolünde tokluk durumu ve sirkadiyen ritmin etkileri dikkate alınmamıştır.

Bu çalışma, vitamin katkılı TZF uygulamalarının büyüme faktörü salınımını artırabileceğini, inflamasyonu modüle edebileceğini ve doku iyileşmesini hızlandırabileceğini göstermiştir. Özellikle Vitamin B12'nin immün sistem düzenleyici etkileri ve Vitamin E'nin anjiyogenezi destekleyici rolü, bu biyomateryallerin rejeneratif tıp uygulamalarında kişiselleştirilmiş biyomateryal tasarımı için değerli bir potansiyel sunduğunu ortaya koymaktadır. Gelecek çalışmalarda farklı dozajlar, vitamin kombinasyonları ve in-vivo hayvan modelleri üzerinden yapılacak araştırmalar, klinik geçerliliğin güçlendirilmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

6. SONUÇ

Bu çalışma, kobalamin (Vitamin B12) ve alfa-tokoferol (Vitamin E) katkısının trombositten zengin fibrin (TZF) içeriğindeki büyüme faktörleri ve proinflatuar sitokinler üzerindeki potansiyel etkilerini in vitro koşullarda değerlendirmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Araştırma bulguları, vitamin katkısının TZF'nin biyomoleküler içeriğinde istatistiksel olarak anlamlı değişikliklere yol açtığını göstermiştir. Bu değişiklikler, özellikle büyüme faktörlerinin salınım profilinde ve sitokin düzeylerinde gözlenen modifikasyonlar aracılığıyla, rejeneratif süreçlerin hızlanmasına ve doku iyileşme kalitesinin artırılmasına yönelik potansiyel katkı sunmaktadır.

Mevcut literatür, TZF'nin kontrollü büyüme faktörü salınımı, biyouyumluluğu ve rejeneratif kapasitesi sayesinde periodontal tedaviler, oral cerrahi ve implantolojide yaygın olarak kullanılan güvenilir bir biyomateryal olduğunu ortaya koymaktadır. Bu bağlamda vitamin B12 ve Vitamin E, biyolojik rolleri ve antioksidan özellikleri nedeniyle TZF'nin biyolojik etkinliğini artırabilecek aday moleküller olarak değerlendirilmektedir.

Özellikle Vitamin B12'nin nükleik asit sentezi, eritropoez ve sinir dokusu bütünlüğünün korunmasındaki kritik rolü, eksiklik durumunda oral mukozal lezyonlar ve periodontal doku kaybı ile ilişkilendirilmiştir. Buna paralel olarak Vitamin E, güçlü antioksidan kapasitesi sayesinde serbest radikal kaynaklı hücresel hasarı sınırlamakta ve kolajen stabilizasyonunu desteklemektedir. Bu özellikler, E vitaminini periodontal iyileşme süreçlerinde değerli bir destek ajanı haline getirmektedir. Çalışmamızda, söz konusu vitaminlerin TZF'ye santrifüj öncesi eklenmesiyle elde edilen kombinasyonun; büyüme faktörleri (PDGF, TGF- β 1, VEGF, IGF-1, FGF-2) ve proinflatuar sitokinler (IL-1 β , TNF- α) üzerindeki etkilerinin sistematik olarak değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

Bu araştırma, vitamin katkılı TZF'nin biyomoleküler özelliklerini inceleyen öncü çalışmalar arasında yer almakta ve literatüre özgün bir katkı sunmaktadır. Elde edilen bulgular, kobalamin ve alfa-tokoferolün TZF'nin büyüme faktörü salınım profili ile sitokin düzeylerinde anlamlı değişiklikler oluşturabileceğini ortaya koymuştur. Bu durum, TZF'nin yalnızca doğal biyolojik potansiyeli ile değil, aynı zamanda biyolojik ajan taşıyıcı bir sistem olarak da değerlendirilebileceğini desteklemektedir. Ayrıca, hem rejeneratif büyüme faktörleri hem de inflamatuvar sitokinlerin birlikte analiz edilmiş olması, vitamin katkısının iyileşme sürecinin farklı fazlarındaki biyokimyasal yansımalarına ışık tutmaktadır.

Dolayısıyla bu çalışma, vitamin katkısının TZF'nin rejeneratif kapasitesini artırma yönündeki potansiyeline dikkat çekmekte ve periodontal tedavi ile oral cerrahi uygulamalarında yeni biyolojik yaklaşımlara temel oluşturabilecek nitelik taşımaktadır. Bulgular, periodontal rejenerasyon, implant entegrasyonu, yumuşak doku iyileşmesi ve kemik rejenerasyonu gibi klinik alanlarda vitamin katkılı TZF'nin daha hızlı ve kaliteli iyileşme sağlayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca inflamatuvar yanıtın modülasyonu yoluyla postoperatif iyileşme sürecinde hasta konforunun artırılabilmesi öngörülmektedir.

Bununla birlikte, elde edilen sonuçların klinik geçerliliğinin teyidi için daha geniş örneklemli, uzun dönemli ve in vivo koşullarda gerçekleştirilecek çalışmalara ihtiyaç vardır. Çalışmanın in vitro tasarımlı olması, bulguların doğrudan klinik uygulamalara yansıtılmasında sınırlılık oluşturmaktadır.

Sonuç olarak, Vitamin B12 ve Vitamin E ile zenginleştirilmiş TZF, rejeneratif diş hekimliği uygulamalarında biyolojik etkinliği artırabilecek yenilikçi bir yaklaşım olarak değerlendirilebilir. Bu kombinasyonun, geleneksel TZF uygulamalarına kıyasla iyileşme süresini kısaltma, doku kalitesini artırma ve postoperatif komplikasyonları azaltma potansiyeli bulunmaktadır. Elde edilen veriler, klinik protokollere entegre edilmesi için öncü nitelikte olup, gelecekte yapılacak kapsamlı çalışmalar bu biyolojik yaklaşımın klinik kullanım değerini ortaya koyacaktır.

KAYNAKÇA

1. **Garraud O, Cognasse F.** Are Platelets Cells? And if Yes, are They Immune Cells? *Front Immunol.* **2015**;6:70.
2. **Chieruzzi M, Pagano S, Moretti S, et al.** Nanomaterials for Tissue Engineering In Dentistry. *Nanomaterials (Basel).* **2016**;6(7).
3. **Cakir S, Gultekin BA, Karabagli M, et al.** Histological Evaluation of the Effects of Growth Factors in a Fibrin Network on Bone Regeneration. *J Craniofac Surg.* **2019**;30(4):1078-1084.
4. **Agrawal AA.** Evolution, current status and advances in application of platelet concentrate in periodontics and implantology. *World J Clin Cases.* **2017**;5(5):159-171.
5. **Egle K, Salma I, Dubnika A.** From blood to regenerative tissue: how autologous platelet-rich fibrin can be combined with other materials to ensure controlled drug and growth factor release. *International journal of molecular sciences.* **2021**;22(21):11553.
6. **Pavithra R, Ramaprabha G, Rajasekar S, Lakshmi Sree S.** Vitamin deficiency and periodontal disease-A tie-in relationship. *Sch J App Med Sci.* **2017**;5(1A):74-81.
7. **Hatipoglu H, Hatipoglu MG, Cagrankaya LB, Caglayan F.** Severe periodontal destruction in a patient with advanced anemia: a case report. *European journal of dentistry.* **2012**;6(01):095-100.
8. **Singh N, Chander Narula S, Kumar Sharma R, Tewari S, Kumar Sehgal P.** Vitamin E supplementation, superoxide dismutase status, and outcome of scaling and root planing in patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *Journal of periodontology.* **2014**;85(2):242-249.
9. **Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT.** Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost.* **2004**;91(1):4-15.
10. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* **2006**;101(3):e37-44.
11. **Ehrenfest DMD, Andia I, Zumstein MA, Zhang C-Q, Pinto NR, Bielecki T.** Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. *Muscles, ligaments and tendons journal.* **2014**;4(1):3.
12. **Mosesson MW, Siebenlist KR, Meh DA.** The structure and biological features of fibrinogen and fibrin. *Ann N Y Acad Sci.* **2001**;936:11-30.
13. **Spotnitz WD, Mintz PD, Avery N, Bithell TC, Kaul S, Nolan SP.** Fibrin glue from stored human plasma. An inexpensive and efficient method for local blood bank preparation. *Am Surg.* **1987**;53(8):460-462.
14. **Brennan M.** Fibrin glue. *Blood Rev.* **1991**;5(4):240-244.

15. **Prakash S, Thakur A.** Platelet concentrates: past, present and future. *J Maxillofac Oral Surg.* **2011**;10(1):45-49.
16. **Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I.** New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies. *Trends Biotechnol.* **2006**;24(5):227-234.
17. **Kumar VR, Gangadharan G.** Platelet rich fibrin in dentistry: a review of literature. *International Journal of Medicine.* **2015**;3(2):72-76.
18. **Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT.** Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thrombosis and haemostasis.* **2004**;91(01):4-15.
19. **Plachokova AS, Nikolidakis D, Mulder J, Jansen JA, Creugers NH.** Effect of platelet-rich plasma on bone regeneration in dentistry: a systematic review. *Clinical oral implants research.* **2008**;19(6):539-545.
20. **Feigin K, Shope B.** Use of platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in dentistry and oral surgery: introduction and review of the literature. *Journal of veterinary dentistry.* **2019**;36(2):109-123.
21. **Ogino Y, Ayukawa Y, Tsukiyama Y, Koyano K.** The effect of platelet-rich plasma on the cellular response of rat bone marrow cells in vitro. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* **2005**;100(3):302-307.
22. **Albanese A, Licata ME, Polizzi B, Campisi G.** Platelet-rich plasma (PRP) in dental and oral surgery: from the wound healing to bone regeneration. *Immunity & Ageing.* **2013**;10:1-10.
23. **Raja VS, Naidu EM.** Platelet-rich fibrin: evolution of a second-generation platelet concentrate. *Indian Journal of Dental Research.* **2008**;19(1):42-46.
24. **Gibble J, Ness P.** Fibrin glue: the perfect operative sealant? *Transfusion.* **1990**;30(8):741-747.
25. **Yamada Y, Boo JS, Ozawa R, et al.** Bone regeneration following injection of mesenchymal stem cells and fibrin glue with a biodegradable scaffold. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* **2003**;31(1):27-33.
26. **Zwittnig K, Kirnbauer B, Jakse N, et al.** Growth factor release within liquid and solid PRF. *Journal of clinical medicine.* **2022**;11(17):5070.
27. **Miron RJ, Zucchelli G, Pikos MA, et al.** Use of platelet-rich fibrin in regenerative dentistry: a systematic review. *Clinical oral investigations.* **2017**;21:1913-1927.
28. **Saini K, Chopra P, Sheokand V.** Journey of platelet concentrates: a review. *Biomedical and Pharmacology Journal.* **2020**;13(1):185-191.
29. **Jones IA, Togashi RC, Thomas Vangsness Jr C.** The economics and regulation of PRP in the evolving field of orthopedic biologics. *Current reviews in musculoskeletal medicine.* **2018**;11(4):558-565.
30. **Anitua E.** The use of plasma-rich growth factors (PRGF) in oral surgery. *Practical Procedures & Aesthetic Dentistry: PPAD.* **2001**;13(6):487-493; quiz 487.
31. **Anitua E, Alkhraisat MH, Orive G.** Perspectives and challenges in regenerative medicine using plasma rich in growth factors. *Journal of controlled release.* **2012**;157(1):29-38.

32. **Anitua E.** Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants. *International journal of Oral and maxillofacial Implants.* **1999**;14(4):529-535.
33. **Dragonas P, Schiavo JH, Avila-Ortiz G, Palaiologou A, Katsaros T.** Plasma rich in growth factors (PRGF) in intraoral bone grafting procedures: a systematic review. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery.* **2019**;47(3):443-453.
34. **Scott A, Khan K, Roberts C, Cook J, Duronio V.** What do we mean by the term “inflammation”? A contemporary basic science update for sports medicine. *British journal of sports medicine.* **2004**;38(3):372-380.
35. **Anitua E, Prado R, Sánchez M, Orive G.** Platelet-rich plasma: preparation and formulation. *Operative techniques in orthopaedics.* **2012**;22(1):25-32.
36. **Lafzi A, Faramarzi M, Shirmohammadi A, Behrozian A, Kashefimehr A, Khashabi E.** Subepithelial connective tissue graft with and without the use of plasma rich in growth factors for treating root exposure. *Journal of Periodontal & Implant Science.* **2012**;42(6):196-203.
37. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates? *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology.* **2006**;101(3):e51-e55.
38. **Castro AB, Meschi N, Temmerman A, et al.** Regenerative potential of leucocyte-and platelet-rich fibrin. Part A: intra-bony defects, furcation defects and periodontal plastic surgery. A systematic review and meta-analysis. *Journal of clinical periodontology.* **2017**;44(1):67-82.
39. **Gupta V, Bains VK, Singh G, Mathur A, Bains R.** Regenerative potential of platelet rich fibrin in dentistry: Literature review. *Asian J Oral Health Allied Sci.* **2011**;1(1):23-31.
40. **Dhurat R, Sukesh M.** Principles and methods of preparation of platelet-rich plasma: a review and author's perspective. *Journal of cutaneous and aesthetic surgery.* **2014**;7(4):189-197.
41. **Vinaya Kumar R, Shubhashini N.** Platelet rich fibrin: a new paradigm in periodontal regeneration. *Cell and tissue banking.* **2013**;14:453-463.
42. **Dohan Ehrenfest DM, Del Corso M, Diss A, Mouhyi J, Charrier JB.** Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane. *Journal of periodontology.* **2010**;81(4):546-555.
43. **Clark RA.** Fibrin and wound healing. *Annals of the New York Academy of Sciences.* **2001**;936:355-367.
44. **Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, 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**;101(3):e56-e60.
45. **Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S, Weinstein R.** Is platelet concentrate advantageous for the surgical treatment of periodontal diseases? A systematic review and meta-analysis. *Journal of Periodontology.* **2011**;82(8):1100-1111.

46. **Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, Sammartino G.** Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): A gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies. *Growth factors*. **2009**;27(1):63-69.
47. **Wu CL, Lee SS, Tsai CH, Lu KH, Zhao JH, Chang YC.** Platelet-rich fibrin increases cell attachment, proliferation and collagen-related protein expression of human osteoblasts. *Australian dental journal*. **2012**;57(2):207-212.
48. **Choukroun J, Diss A, Simonpieri A, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2006**;101(3):299-303.
49. **Jankovic S, Aleksic Z, Klokkevold P, et al.** Use of platelet-rich fibrin membrane following treatment of gingival recession: a randomized clinical trial. *International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry*. **2012**;32(2):165.
50. **Kim T-H, Kim S-H, Sándor GK, Kim Y-D.** Comparison of platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), and concentrated growth factor (CGF) in rabbit-skull defect healing. *Archives of oral biology*. **2014**;59(5):550-558.
51. **Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al.** Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2006**;101(3):e45-e50.
52. **Gaßling VL, Açil Y, Springer IN, Hubert N, Wiltfang J.** Platelet-rich plasma and platelet-rich fibrin in human cell culture. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2009**;108(1):48-55.
53. **Choukroun J, Adda F, Schoeffler C, Vervelle A.** Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. *Implantodontie*. **2001**;42(55):e62.
54. **Dohan DM, Del Corso M, Charrier J-B.** Cytotoxicity analyses of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF) on a wide range of human cells: The answer to a commercial controversy. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2007**;103(5):587-593.
55. **Jia K, You J, Zhu Y, et al.** Platelet-rich fibrin as an autologous biomaterial for bone regeneration: mechanisms, applications, optimization. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. **2024**;12:1286035.
56. **Mazor Z, Horowitz RA, Del Corso M, Prasad HS, Rohrer MD, Dohan Ehrenfest DM.** Sinus floor augmentation with simultaneous implant placement using Choukroun's platelet-rich fibrin as the sole grafting material: a radiologic and histologic study at 6 months. *Journal of periodontology*. **2009**;80(12):2056-2064.

57. **Ehrenfest DMD.** How to optimize the preparation of leukocyte-and platelet-rich fibrin (L-PRF, Choukroun's technique) clots and membranes: introducing the PRF Box. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics.* **2010**;110(3):275-280.
58. **Palaiologou A, Keeling F.** Autologous blood products: Usage and preparation protocols. *Clinical advances in periodontics.* **2022**;12(4):287-293.
59. **Rodella LF, Favero G, Boninsegna R, et al.** Growth factors, CD34 positive cells, and fibrin network analysis in concentrated growth factors fraction. *Microscopy research and technique.* **2011**;74(8):772-777.
60. **Honda H, Tamai N, Naka N, Yoshikawa H, Myoui A.** Bone tissue engineering with bone marrow-derived stromal cells integrated with concentrated growth factor in Rattus norvegicus calvaria defect model. *Journal of Artificial Organs.* **2013**;16:305-315.
61. **Masuki H, Okudera T, Watanebe T, et al.** Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). *International journal of implant dentistry.* **2016**;2:1-6.
62. **Yu B, Wang Z.** Effect of concentrated growth factors on beagle periodontal ligament stem cells in vitro. *Molecular medicine reports.* **2014**;9(1):235-242.
63. **Ghanaati S, Booms P, Orłowska A, et al.** Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. *Journal of Oral Implantology.* **2014**;40(6):679-689.
64. **Lei L, Yu Y, Han J, et al.** Quantification of growth factors in advanced platelet-rich fibrin and concentrated growth factors and their clinical efficacy as adjunctive to the GTR procedure in periodontal intrabony defects. *Journal of Periodontology.* **2020**;91(4):462-472.
65. **Kobayashi E, Flückiger L, Fujioka-Kobayashi M, et al.** Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. *Clinical oral investigations.* **2016**;20:2353-2360.
66. **El Bagdadi K, Kubesch A, Yu X, et al.** Reduction of relative centrifugal forces increases growth factor release within solid platelet-rich-fibrin (PRF)-based matrices: a proof of concept of LSCC (low speed centrifugation concept). *European Journal of Trauma and Emergency Surgery.* **2019**;45:467-479.
67. **Akman S, Tunali M, Özdemir H, Kucukodaci Z, Firatli E.** In vivo evaluation of titanium-prepared platelet-rich fibrin (T-PRF): a new platelet concentrate. **2013.**
68. **Tunali M, Ercan E, Pat S, et al.** Nano-titanium coating on glass surface to improve platelet-rich fibrin (PRF) quality. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine.* **2024**;35(1):67.
69. **Monitha G, Pavan B, Oza RR.** Injectable Platelet-Rich Fibrin-A Revolution in Periodontal Regeneration. *Cureus.* **2022**;14(8).

70. **Mourão CFdAB, Valiense H, Melo ER, Mourão NBMF, Maia MD-C.** Obtenção da fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF) e sua polimerização com enxerto ósseo: nota técnica. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões*. **2015**;42:421-423.
71. **Bowen RA, Remaley AT.** Interferences from blood collection tube components on clinical chemistry assays. *Biochemia medica*. **2014**;24(1):31-44.
72. **Miron RJ, Fujioka-Kobayashi M, Hernandez M, et al.** Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry? *Clinical oral investigations*. **2017**;21:2619-2627.
73. **Kour P, Pudakalkatti PS, Vas AM, 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*. *Contemporary clinical dentistry*. **2018**;9(Suppl 2):S325-S330.
74. **Keskin C, Çakarer S.** Trombositten Zengin Plasmanin Oral Ve Maksillofasiyal Cerrahide Kullanımı/The Use Of Platelet-Rich Plasma In Oral And Maxillofacial Surgery. *Journal of Istanbul University Faculty of Dentistry*. **2012**;41(1-2):17-24.
75. **Fan Y, Perez K, Dym H.** Clinical uses of platelet-rich fibrin in oral and maxillofacial surgery. *Dent Clin North Am*. **2020**;64(2):291-303.
76. **Aravindaksha SP, Batra P, Sood V, Kumar A, Gupta G.** Use of platelet-rich fibrin membrane as a palatal bandage. *Clinical Advances in Periodontics*. **2014**;4(4):246-250.
77. **Khaled S, Olgun E, Hendek M.** Trombositten zengin fibrin ve diş hekimliğinde kullanımı. *Journal of Medicine and Palliative Care*. **2022**;3(4):386-393.
78. **Ghanaati S, Herrera-Vizcaino C, Al-Maawi S, et al.** Fifteen years of platelet rich fibrin in dentistry and oromaxillofacial surgery: how high is the level of scientific evidence? *Journal of Oral Implantology*. **2018**;44(6):471-492.
79. **Hoaglin DR, Lines GK.** Prevention of localized osteitis in mandibular third-molar sites using platelet-rich fibrin. *International journal of dentistry*. **2013**;2013(1):875380.
80. **Koçyiğit İ, Tunalı M, Özdemir H, Kartal Y, Süer B.** İkinci nesil trombosit konsantrasyonunun klinik uygulamaları. *Cumhuriyet Dental Journal*. **2012**;15(3):279-287.
81. **Sohn D-S, Huang B, Kim J, Park WE, Park CC.** Utilization of autologous concentrated growth factors (CGF) enriched bone graft matrix (Sticky bone) and CGF-enriched fibrin membrane in Implant Dentistry. *J Implant Adv Clin Dent*. **2015**;7(10):11-18.
82. **Choukroun J, Miron R.** *Platelet rich fibrin in regenerative dentistry*. Wiley Online Library; **2017**.
83. **Lee E-H, Kim J-Y, Kweon HY, et al.** A combination graft of low-molecular-weight silk fibroin with Choukroun platelet-rich fibrin for rabbit calvarial defect. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2010**;109(5):e33-e38.
84. **Assad M, Bitar W, Alhajj MN.** Closure of oroantral communication using platelet-rich fibrin: a report of two cases. *Annals of maxillofacial surgery*. **2017**;7(1):117-119.

85. **Jonathan Albilia D, Herrera-Vizcaino C, Choukroun J, Shahram Ghanaati M.** Liquid platelet-rich fibrin injections as a treatment adjunct for painful temporomandibular joints: preliminary results. *CRANIO®*. **2020**.
86. **Saglam E, Ozsagir ZB, Unver T, Alinca SB, Toprak A, Tunali M.** Efficacy of injectable platelet-rich fibrin in the erosive oral lichen planus: a split-mouth, randomized, controlled clinical trial. *Journal of Applied Oral Science*. **2021**;29:e20210180.
87. **Chang YC, Zhao JH.** Effects of platelet-rich fibrin on human periodontal ligament fibroblasts and application for periodontal infrabony defects. *Australian dental journal*. **2011**;56(4):365-371.
88. **Sharma A, Pradeep A.** Treatment of 3-wall intrabony defects in patients with chronic periodontitis with autologous platelet-rich fibrin: A randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. **2011**;82(12):1705-1712.
89. **Wright JH.** The origin and nature of the blood plates. *The Boston Medical and Surgical Journal*. **1906**;154(23):643-645.
90. **Pavlovic V, Ciric M, Jovanovic V, Trandafilovic M, Stojanovic P.** Platelet-rich fibrin: Basics of biological actions and protocol modifications. *Open medicine*. **2021**;16(1):446-454.
91. **Rendu F, Brohard-Bohn B.** The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. **2001**;12(5):261-273.
92. **Everts PA, Knape JT, Weibrich G, et al.** Platelet-rich plasma and platelet gel: a review. *The Journal of extracorporeal technology*. **2006**;38(2):174-187.
93. **Zucker-Franklin D, Benson KA, Myers KM.** Absence of a surface-connected canalicular system in bovine platelets. *Blood*. **1985**;65(1):241-244.
94. **White JG, Krumwiede M.** Further studies of the secretory pathway in thrombin-stimulated human platelets. **1987**.
95. **Marx RE.** Platelet-rich plasma: evidence to support its use. *Journal of oral and maxillofacial surgery*. **2004**;62(4):489-496.
96. **Gospodarowicz D.** Localisation of a fibroblast growth factor and its effect alone and with hydrocortisone on 3T3 cell growth. *Nature*. **1974**;249(5453):123-127.
97. **Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M.** Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound repair and regeneration*. **2008**;16(5):585-601.
98. **Oliveira Filho MAd, Nassif PAN, Malafaia O, et al.** Effects of a highly concentrated platelet-rich plasma on the bone repair using non-critical defects in the calvaria of rabbits. *Acta cirurgica brasileira*. **2010**;25:28-33.
99. **Pavlovic V, Ciric M, Jovanovic V, Stojanovic P.** Platelet rich plasma: a short overview of certain bioactive components. *Open Medicine*. **2016**;11(1):242-247.
100. **Nikolidakis D, Jansen JA.** The biology of platelet-rich plasma and its application in oral surgery: literature review. *Tissue Engineering Part B: Reviews*. **2008**;14(3):249-258.

101. **Trengove NJ, Bielefeldt-Ohmann H, Stacey MC.** Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound Repair and Regeneration*. **2000**;8(1):13-25.
102. **Vogt PM, Lehnhardt M, Wagner D, Jansen V, Krieg M, Steinau H.** Determination of endogenous growth factors in human wound fluid: temporal presence and profiles of secretion. *Plastic and reconstructive surgery*. **1998**;102(1):117-123.
103. **Heldin C-H, Westermark B.** Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor. *Physiological reviews*. **1999**.
104. **Marques LF, Stessuk T, Camargo ICC, Sabeh Junior N, Santos LD, Ribeiro-Paes JT.** Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications. *Platelets*. **2015**;26(2):101-113.
105. **Uutela M, Wirzenius M, Paavonen K, et al.** PDGF-D induces macrophage recruitment, increased interstitial pressure, and blood vessel maturation during angiogenesis. *Blood*. **2004**;104(10):3198-3204.
106. **Gurtner GC, Werner S, Barrandon Y, Longaker MT.** Wound repair and regeneration. *Nature*. **2008**;453(7193):314-321.
107. **Border WA, Noble NA.** Transforming growth factor β in tissue fibrosis. *New England journal of medicine*. **1994**;331(19):1286-1292.
108. **Clark RA.** *The molecular and cellular biology of wound repair*. Springer Science & Business Media; **2013**.
109. **Tsunawaki S, Sporn M, Ding A, Nathan C.** Deactivation of macrophages by transforming growth factor- β . *Nature*. **1988**;334(6179):260-262.
110. **Mitra R, Khar A.** Suppression of macrophage function in AK-5 tumor transplanted animals: role of TGF- β 1. *Immunology letters*. **2004**;91(2-3):189-195.
111. **Frank S, Hübner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S.** Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes.: implications for normal and impaired wound healing. *Journal of Biological Chemistry*. **1995**;270(21):12607-12613.
112. **Dinarello CA.** Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*. **2011**;117(14):3720-3732.
113. **Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A.** The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*. **2013**;39(6):1003-1018.
114. **Martinon F, Burns K, Tschopp J.** The inflammasome: a molecular platform triggering activation of inflammatory caspases and processing of proIL- β . *Molecular cell*. **2002**;10(2):417-426.
115. **O'Neill LA.** The interleukin-1 receptor/Toll-like receptor superfamily: 10 years of progress. *Immunological reviews*. **2008**;226(1):10-18.
116. **Weber A, Wasiliew P, Kracht M.** Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Science signaling*. **2010**;3(105):cm1-cm1.

117. **Dinareello CA, Simon A, Van Der Meer JW.** Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nature reviews Drug discovery*. **2012**;11(8):633-652.
118. **Ridker PM, Everett BM, Thuren T, et al.** Antiinflammatory therapy with canakinumab for atherosclerotic disease. *New England journal of medicine*. **2017**;377(12):1119-1131.
119. **Bradley J.** TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*. **2008**;214(2):149-160.
120. **Parameswaran N, Patial S.** Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages. *Critical ReviewsTM in Eukaryotic Gene Expression*. **2010**;20(2).
121. **RA B.** A metalloproteinase disintegrin that releases tumour-necrosis factor-alpha from cells. *Nature*. **1997**;385:729-733.
122. **Aggarwal BB.** Signalling pathways of the TNF superfamily: a double-edged sword. *Nature reviews immunology*. **2003**;3(9):745-756.
123. **Sedger LM, McDermott MF.** TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants—past, present and future. *Cytokine & growth factor reviews*. **2014**;25(4):453-472.
124. **Tracey D, Klareskog L, Sasso EH, Salfeld JG, Tak PP.** Tumor necrosis factor antagonist mechanisms of action: a comprehensive review. *Pharmacology & therapeutics*. **2008**;117(2):244-279.
125. **Mourão C, Gheno E, Lourenço ES, et al.** Characterization of a new membrane from concentrated growth factors associated with denaturated Albumin (Alb-CGF) for clinical applications: A preliminary study. *Int J Growth Factors Stem Cells Dent*. **2018**;1:64-69.
126. **Dean L.** Blood and the cells it contains. Blood Groups and Red Cell Antigens. *National Center for Biotechnology Information (US), Bethesda, MD*. **2005**.
127. **Holinstat M.** Normal platelet function. *Cancer and Metastasis Reviews*. **2017**;36:195-198.
128. **Blair P, Flaumenhaft R.** Platelet α -granules: Basic biology and clinical correlates. *Blood reviews*. **2009**;23(4):177-189.
129. **Coppinger J, Maguire P.** Insights into the platelet releasate. *Current pharmaceutical design*. **2007**;13(26):2640-2646.
130. **Yeaman MR.** The role of platelets in antimicrobial host defense. *Platelets*. **2019**:523-546.
131. **Prakash S, Thakur A.** Platelet concentrates: past, present and future. *Journal of maxillofacial and oral surgery*. **2011**;10(1):45-49.
132. **Martin JF, Kristensen SD, Mathur A, Grove EL, Choudry FA.** The causal role of megakaryocyte–platelet hyperactivity in acute coronary syndromes. *Nature Reviews Cardiology*. **2012**;9(11):658-670.
133. **Leoncini G, Balestrero F, Maresca M.** Lysosomal enzymes in human platelets. *Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease*. **1985**;3(2):121-125.

134. Ray AK, Jones AC, Carnes DL, Cochran DL, Mellonig JT, Oates Jr TW. Platelet-derived growth factor-BB stimulated cell migration mediated through p38 signal transduction pathway in periodontal cells. *Journal of periodontology*. **2003**;74(9):1320-1328.
135. Carragee EJ, Hurwitz EL, Weiner BK. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. *The spine journal*. **2011**;11(6):471-491.
136. Melincovici CS, Boşca AB, Şuşman S, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF)-key factor in normal and pathological angiogenesis. *Rom J Morphol Embryol*. **2018**;59(2):455-467.
137. Wang J, Zhu Q, Cao D, et al. Bone marrow-derived IGF-1 orchestrates maintenance and regeneration of the adult skeleton. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. **2023**;120(1):e2203779120.
138. Marie P. Fibroblast growth factor signaling controlling osteoblast differentiation. *Gene*. **2003**;316:23-32.
139. Sammartino G, DM DE, Bielecki T, Jimbo R, Barbe G, Del Corso M. Do the fibrin architecture and leukocyte content influence the grow factor release of the platelet concentrates? An evidence-based answer comparing a pure platelet-rich plasma (P-PRP) gel and a leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF). *Current Pharmaceutical Biotechnology*. **2012**:1145-1152.
140. Sclafani AP, Romo III T, Ukrainsky G, et al. Modulation of wound response and soft tissue ingrowth in synthetic and allogeneic implants with platelet concentrate. *Archives of facial plastic surgery*. **2005**.
141. Rich ICsP. JIACD Continuing Education Introducing Choukroun's Platelet Rich Fibrin (PRF) to the Reconstructive Surgery Milieu.
142. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **1998**;85(6):638-646.
143. Carlson NE, Roach Jr RB. Platelet-rich plasma: Clinical applications in dentistry. *The Journal of the American Dental Association*. **2002**;133(10):1383-1386.
144. Lundquist R, Dziegiel MH, Ågren MS. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin. *Wound Repair and Regeneration*. **2008**;16(3):356-363.
145. Clipet F, Tricot S, Alno N, et al. In vitro effects of Choukroun's platelet-rich fibrin conditioned medium on 3 different cell lines implicated in dental implantology. *Implant dentistry*. **2012**;21(1):51-56.
146. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *New England journal of medicine*. **1999**;341(10):738-746.
147. Greenstein G, Polson A. The role of local drug delivery in the management of periodontal diseases: a comprehensive review. *Journal of periodontology*. **1998**;69(5):507-520.

148. Elbehwashy MT, Hosny MM, Elfana A, Nawar A, Fawzy El-Sayed K. Clinical and radiographic effects of ascorbic acid-augmented platelet-rich fibrin versus platelet-rich fibrin alone in intra-osseous defects of stage-III periodontitis patients: a randomized controlled clinical trial. *Clinical oral investigations*. **2021**;25:6309-6319.
149. Polak D, Clemer-Shamai N, Shapira L. Incorporating antibiotics into platelet-rich fibrin: a novel antibiotics slow-release biological device. *Journal of clinical periodontology*. **2019**;46(2):241-247.
150. Knafl D, Thalhammer F, Vossen MG. In-vitro release pharmacokinetics of amikacin, teicoplanin and polyhexanide in a platelet rich fibrin—layer (PRF)—a laboratory evaluation of a modern, autologous wound treatment. *PLoS One*. **2017**;12(7):e0181090.
151. Guo Sa, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. **2010**;89(3):219-229.
152. Alhaffar MBA, Shibibe LA, Soukkarieh C, Abou Sulaiman A. New Protocol to Improve the Antibacterial Activity of Platelet Rich Fibrin–In Vitro Study. **2020**.
153. Alhaffar MBA, Shibibe LA, Soukkarieh C, Abou Sulaiman A. Modified Protocol to Use Platelet Rich Fibrin (PRF) as a local antibiotic delivery system–In Vitro study. **2021**.
154. Ercan E, Suner SS, Silan C, et al. Titanium platelet-rich fibrin (T-PRF) as high-capacity doxycycline delivery system. *Clinical Oral Investigations*. **2022**;26(8):5429-5438.
155. Ozcan M, Kabaklı SC, Alkaya B, et al. The impact of local and systemic penicillin on antimicrobial properties and growth factor release in platelet-rich fibrin: In vitro study. *Clinical oral investigations*. **2023**;28(1):61.
156. Peck M, Hiss D, Stephen L, Maboza E. Antibiotic release from leukocyte and platelet-rich fibrin (L-PRF) an observational study. *South African Dental Journal*. **2018**;73(4):268-270.
157. Qiu Y, Shen K, Wei H, Zhang Y, Wang Y, Bai Y. Novel approach to soft tissue regeneration: in vitro study of compound hyaluronic acid and horizontal platelet-rich fibrin combination. *Journal of Applied Oral Science*. **2024**;32:e20230294.
158. Kartika RW, Alwi I, Yunir E, et al. Efficacy of Combining Hyaluronic Acid and Platelet-Rich Fibrin in Diabetic Foot Ulcer. *Jordan Journal of Biological Sciences*. **2021**;14(3).
159. Pillai AK, Thomas S, Seth S, Jain N, Chobey A. Platelet Rich Fibrin (PRF) Gel as Efficient Vehicle for Local Drug Delivery in Minor Oral Surgical Defects. *SVOA Dent*. **2021**;2:185-191.
160. Chang C, Greenspan A, Beltran J, Gershwin ME. Osteonecrosis. *Kelley and Firestein's Textbook of Rheumatology*. **2016**:1764.
161. Saini R, Marawar P, Shete S, Saini S. Periodontitis, a true infection. *Journal of global infectious diseases*. **2009**;1(2):149-150.
162. Shukla S, Chug A, Mahesh L, Singh S, Singh K. Optimal management of intrabony defects: Current insights. *Clinical, cosmetic and investigational dentistry*. **2019**:19-25.

163. **Kanoriya D, Pradeep A, Garg V, Singhal S.** Mandibular degree II furcation defects treatment with platelet-rich fibrin and 1% alendronate gel combination: A randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. **2017**;88(3):250-258.
164. **Kanoriya D, Pradeep A, Singhal S, Garg V, Guruprasad C.** Synergistic approach using platelet-rich fibrin and 1% alendronate for intrabony defect treatment in chronic periodontitis: a randomized clinical trial. *Journal of periodontology*. **2016**;87(12):1427-1435.
165. **Aydemir Turkal H, Demirer S, Dolgun A, Keceli HG.** Evaluation of the adjunctive effect of platelet-rich fibrin to enamel matrix derivative in the treatment of intrabony defects. Six-month results of a randomized, split-mouth, controlled clinical study. *Journal of clinical periodontology*. **2016**;43(11):955-964.
166. **Zhao W, Xiao Z-J, Zhao S-P.** The benefits and risks of statin therapy in ischemic stroke: a review of the literature. *Neurology India*. **2019**;67(4):983-992.
167. **Martande SS, Kumari M, Pradeep A, Singh SP, Suke DK, Guruprasad C.** Platelet-rich fibrin combined with 1.2% atorvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. **2016**;87(9):1039-1046.
168. **Pradeep A, Garg V, Kanoriya D, Singhal S.** Platelet-rich fibrin with 1.2% rosuvastatin for treatment of intrabony defects in chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *Journal of periodontology*. **2016**;87(12):1468-1473.
169. **Kumar SS, Chouhan RS, Thakur MS.** Trends in analysis of vitamin B12. *Analytical biochemistry*. **2010**;398(2):139-149.
170. **Banerjee R.** B12 trafficking in mammals: a case for coenzyme escort service. *ACS chemical biology*. **2006**;1(3):149-159.
171. **Banerjee R, Gherasim C, Padovani D.** The tinker, tailor, soldier in intracellular B12 trafficking. *Current opinion in chemical biology*. **2009**;13(4):484-491.
172. **Quadros EV.** Advances in the understanding of cobalamin assimilation and metabolism. *British journal of haematology*. **2010**;148(2):195-204.
173. **Gulcan E, Toker S, Hatipoğlu H, Gulcan A, Toker A.** Cyanocobalamin may be beneficial in the treatment of recurrent aphthous ulcers even when vitamin B12 levels are normal. *The American journal of the medical sciences*. **2008**;336(5):379-382.
174. **Koybasi S, Parlak AH, Serin E, Yilmaz F, Serin D.** Recurrent aphthous stomatitis: investigation of possible etiologic factors. *American journal of otolaryngology*. **2006**;27(4):229-232.
175. **Wickramasinghe SN.** 1 Morphology, biology and biochemistry of cobalamin-and folate-deficient bone marrow cells. *Bailliere's clinical haematology*. **1995**;8(3):441-459.
176. **Neiva RF, Al-Shammari K, Nociti Jr FH, Soehren S, Wang HL.** Effects of vitamin-B complex supplementation on periodontal wound healing. *Journal of periodontology*. **2005**;76(7):1084-1091.
177. **Sim JY.** *The Relationship between Vitamin B and Periodontal Disease: The Scientific Literature Review*, Lithuanian University of Health Sciences (Lithuania); **2024**.

178. **Berg Y, Gabay E, Božić D, et al.** The Impact of Nutritional Components on Periodontal Health: A Literature Review. *Nutrients*. **2024**;16(22):3901.
179. **Dommisch H, Kuzmanova D, Jönsson D, Grant M, Chapple I.** Effect of micronutrient malnutrition on periodontal disease and periodontal therapy. *Periodontology* 2000. **2018**;78(1):129-153.
180. **Avcu N, Avcu F, Beyan C, et al.** The relationship between gastric-oral *Helicobacter pylori* and oral hygiene in patients with vitamin B12–deficiency anemia. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*. **2001**;92(2):166-169.
181. **Evans HM, Bishop KS.** On the existence of a hitherto unrecognized dietary factor essential for reproduction. *Science*. **1922**;56(1458):650-651.
182. **Evans H, Emerson G, Mohammed A.** The chemistry of vitamin E. tocopherols from various sources. *Journal Bio Chemical*. **1937**;122:99-107.
183. **García-Closas R, Berenguer A, Tormo MJ, et al.** Dietary sources of vitamin C, vitamin E and specific carotenoids in Spain. *British Journal of Nutrition*. **2004**;91(6):1005-1011.
184. **Mène-Saffrané L.** Vitamin E biosynthesis and its regulation in plants. *Antioxidants*. **2017**;7(1):2.
185. **Munné-Bosch S.** α -Tocopherol: a multifaceted molecule in plants. *Vitamins & Hormones*. **2007**;76:375-392.
186. **MG T.** Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med*. **2007**;43:4-15.
187. **Sen CK, Khanna S, Roy S.** Tocotrienols in health and disease: the other half of the natural vitamin E family. *Molecular aspects of medicine*. **2007**;28(5-6):692-728.
188. **Shadisvaaran S, Chin K-Y, Shahida M-S, Ima-Nirwana S, Leong X-F.** Effect of vitamin E on periodontitis: Evidence and proposed mechanisms of action. *Journal of oral biosciences*. **2021**;63(2):97-103.
189. **Cohen M, Meyer D.** Effect of dietary vitamin E supplementation and rotational stress on alveolar bone loss in rice rats. *Archives of oral biology*. **1993**;38(7):601-606.
190. **Chapple IL, Milward MR, Dietrich T.** The prevalence of inflammatory periodontitis is negatively associated with serum antioxidant concentrations. *The Journal of nutrition*. **2007**;137(3):657-664.
191. **Luo PP, Xu HS, Chen YW, Wu SP.** Periodontal disease severity is associated with micronutrient intake. *Australian Dental Journal*. **2018**;63(2):193-201.
192. **Zong G, Scott AE, Griffiths HR, Zock PL, Dietrich T, Newson RS.** Serum α -tocopherol has a nonlinear inverse association with periodontitis among US adults. *The Journal of nutrition*. **2015**;145(5):893-899.
193. **Hansen I, Iwamoto Y, Kishi T, Folkers K, Thompson L.** Bioenergetics in clinical medicine. IX. Gingival and leucocytic deficiencies of coenzyme Q10 in patients with periodontal disease. *Research Communications in Chemical Pathology and Pharmacology*. **1976**;14(4):729-738.

194. Littarru GP, Nakamura R, Ho L, Folkers K, Kuzell WC. Deficiency of coenzyme Q10 in gingival tissue from patients with periodontal disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1971;68(10):2332-2335.
195. Panjamurthy K, Manoharan S, Ramachandran CR. Lipid peroxidation and antioxidant status in patients with periodontitis. *Cell Mol Biol Lett*. 2005;10(2):255-264.
196. Cerná H, Fiala B, Fingerová H, Pohanka J, Szwarcova E. Contribution to indication of total therapy with vitamin E in chronic periodontal disease (pilot study). *Acta Universitatis Palackianae Olomucensis Facultatis Medicae*. 1984;107:167-170.
197. Samani M, Beheshti S, Cheng H, Sproat C, Kwok J, Patel V. Prophylactic pentoxifylline and vitamin E use for dental extractions in irradiated patients with head and neck cancer. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 2022;133(3):e63-e71.
198. Kartika RW, Alwi I, Suyatna FD, et al. The role of VEGF, PDGF and IL-6 on diabetic foot ulcer after Platelet Rich Fibrin+ hyaluronic therapy. *Heliyon*. 2021;7(9).
199. Bayer A, Wijaya B, Möbus L, et al. Platelet-released growth factors and platelet-rich fibrin induce expression of factors involved in extracellular matrix organization in human keratinocytes. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(12):4404.
200. Chatterjee A, Sahni M, Singh S, et al. Debridement using Piezosurgical Device and Incorporation of Autologous Platelet-Rich Fibrin in Management of Stage III Medication-Related Osteonecrosis of the Jaw—A Case study and Review of Literature. *Indian Journal of Surgery*. 2024;86(6):1240-1244.
201. Demirbilek F, Alkaya B, Türer OU, Yilmaz MB, Haytac MC, Özcan M. *Enhancing Platelet-Rich Fibrin: Influence of Hyaluronic Acid and Collagen on Growth Factor Release and Biomechanical Properties in Vitro*. Vol 222: 1940-087X; 2025.
202. Kowshihan P1 TM, Jayakumar ND3, Dhanraj Ganapathy4. Use of injectable platelet rich fibrin (IPRF) as LDD vehicle containing chlorhexidine in periodontal Therapy – In vitro study. *Journal of Population Therapeutics & Clinical Pharmacology*. 2023.
203. Ashwin Jaikumar Ram1 TM, Jayakumar ND3, Dhanraj Ganapathy4. Use of injectable platelet rich fibrin (IPRF) as LDD vehicle containing doxycycline in periodontal Therapy – In vitro study. *Journal of Population Therapeutics & Clinical Pharmacology*. 2023.
204. Halczuk K, Kaźmierczak-Barańska J, Karwowski BT, Karmańska A, Cieślak M. Vitamin B12—Multifaceted in vivo functions and in vitro applications. *Nutrients*. 2023;15(12):2734.
205. Kobzar G. Inhibition of platelet activation using vitamins. *Platelets*. 2020;31(2):157-166.
206. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free radical biology and medicine*. 2007;43(1):4-15.
207. Zingg J-M. Vitamin E: a role in signal transduction. *Annual review of nutrition*. 2015;35(1):135-173.

- 208. Vorakulpipat P, Suphangul S, Fuangtharnthip P, Ghanaati S, Vorakulpipat C.** Combination of advanced platelet-rich fibrin and pentoxifylline/tocopherol as a novel preventive option in osteoradionecrosis: a case report. *European journal of dentistry*. **2023**;17(01):250-254.
- 209. Sherif MA, Anter E, Graetz C, El-Sayed KF.** Injectable platelet-rich fibrin with vitamin C as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in the treatment of stage-II periodontitis: a randomized controlled clinical trial. *BMC Oral Health*. **2025**;25(1):772.
- 210. Freedman JE, Keaney Jr JF.** Vitamin E inhibition of platelet aggregation is independent of antioxidant activity. *The Journal of Nutrition*. **2001**;131(2):374S-377S.
- 211. Zingg J-M, Azzi A.** Non-antioxidant activities of vitamin E. *Current medicinal chemistry*. **2004**;11(9):1113-1133.
- 212. Munteanu A, Zingg JM, Azzi A.** Anti-atherosclerotic effects of vitamin E—myth or reality? *Journal of cellular and molecular medicine*. **2004**;8(1):59-76.

ÖZGEÇMİŞ

İlk öğrenimini 2010 yılında 75. Yıl Kocatepe İlköğretim Okulu'nda; lise öğrenimi 2014 yılında Mersin 75. Yıl Anadolu Öğretmen Lisesi'nde tamamladı. 2020 yılında Mustafa Kemal Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi'nden mezun oldu. 2022 yılında Çukurova Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Periodontoloji Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimine başladı

